



HAL
open science

Conséquences des changements globaux sur les populations de Calotriton des Pyrénées (Calotriton asper)

Marine Deluen

► **To cite this version:**

Marine Deluen. Conséquences des changements globaux sur les populations de Calotriton des Pyrénées (Calotriton asper). Biologie animale. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2022. Français. NNT : 2022TOU30203 . tel-04161350

HAL Id: tel-04161350

<https://theses.hal.science/tel-04161350v1>

Submitted on 13 Jul 2023

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

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



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par : *l'Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)*

Présentée et soutenue le 27/09/2022 par :

Marine DELUEN

**Conséquences des changements globaux sur les populations de
Calotriton des Pyrénées (*Calotriton asper*).**

JURY

CLAUDE MIAUD

DELFI SANUY

GÉRALDINE LOOT

SANDRINE PLENET

FRÉDÉRIC SANTOUL

AUDREY TROCHET

Directeur d'Etudes

Professeur

Professeuse

Maitresse de conférence

Maitre de conférence

Chargée de mission

Rapporteur

Rapporteur

Examinatrice

Examinatrice

Examinateur

Examinatrice

École doctorale et spécialité :

SEVAB : Écologie, biodiversité et évolution

Unité de Recherche :

Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale (UAR 2029)

Directeur(s) de Thèse :

Simon BLANCHET, Fabien AUBRET et Romain BERTRAND

Certitudes qui frissonnent

Coeurs qui résonnent

Curiosité

– Pierre Bottero –

REMERCIEMENTS

J'ai longtemps attendu avant d'écrire ce chapitre. A la fois redoutés et espérés, ce sont ces mots qui vont clore définitivement ces 4 dernières années. J'espère n'oublier personne.

J'aimerais commencer par remercier Audrey avec qui tout a commencé en juillet 2017. Tout est parti d'une offre avec les mots clés "réchauffement climatique" et d'un entretien téléphonique où l'encadrante de stage avait l'air un peu folle : il m'en fallait pas plus. Tu m'auras fait découvrir les calo, les Pyrénées, ce petit labo perdu entre un champ de patate et un champ de mouton ... En 5 ans tu m'auras poussée, fais confiance, stimulée, épatée, fait rire et finalement pleurer à cette soutenance. Ta personnalité de fonçeuse que j'admire tant aura vraiment été une ancre dans les moments difficiles. Merci pour tes conseils, tes valeurs, ta loyauté, ta force. Merci d'avoir été mon encadrante de stage et de thèse. Merci d'être mon amie.

Sans Audrey, rien n'aurait pu commencer. Mais sans mon équipe encadrante, rien n'aurait pu continuer. Un très grand merci à Simon et Fabien d'avoir accepté d'être mes directeurs de thèse dès le début. Merci à vous deux et à Romain d'avoir pris le relai après le départ d'Audrey. Vous avez réussi tous les 3 à toujours veiller à ce que la thèse prenne une bonne tournure, tant scientifique que logistique, tout en me laissant m'épanouir dans mes expérimentations. Merci pour tous vos conseils d'écriture, de statistiques, d'expérimentation : vous m'avez énormément appris. Merci également de m'avoir laissée récupérer la manip ADNe d'ISOLAPOP dans ma thèse, me permettant d'aller voir autre chose que l'expérimental et de faire de ma thèse une jolie histoire dont je suis fière !

Un grand merci aux membres de mon comité de thèse : Eric J. Gangloff, Olivier Guillaume, Nathalie Mondy qui m'ont apporté de précieux conseils pour le bon déroulement de la thèse. A special thanks to Eric : I had the chance to meet you during my internships in Moulis. Thank

you so much for your precious kindness and all your advices ! I hope we will meet again, around a beer or an experimental device. Merci également à Olivier pour ton expertise calotriton, pour le matériel de respirométrie, pour la place de co-auteur sur ton article ... Je me sens privilégiée d'avoir fait partie de ce petit monde de thésards calotriton, merci infiniment. Merci à tous les membres de mon jury d'avoir accepté d'évaluer cette thèse. Merci à mes rapporteurs pour leur retour et leurs bons conseils. Merci à toutes et tous pour ces échanges passionnants pendant la soutenance : grâce à vous j'ai passé un moment incroyable et extrêmement enrichissant ! Merci à Mathilde de m'avoir accueilli à la Maison Garonne pour soutenir ma thèse. Je n'aurai vraiment pas pu rêver mieux comme salle, c'était parfait ! Merci pour ta gentillesse et de m'avoir supportée et rassurée dans mes moments de stress. J'ai très hâte de voir tous nos projets voir le jour !

Je veux aussi remercier les équipes ECTOPYR et ISOLAPOP qui m'ont beaucoup appris sur la recherche, les Pyrénées, le Calotriton, la conservation ... Merci donc à Olivier C., Jérémie, Elodie, Hugo, Albert, Sylvain, Didier, Jean, Alexandre. Un immense merci à Olivier C. en particulier, mon compatriote breton. Professionnellement tu m'as tant appris : le fonctionnement du service public, la réglementation, le maintien en captivité ... Ton expertise calotriton a été précieuse à de nombreuses reprises. Tu as été un socle de sécurité pour toutes mes incertitudes sur l'espèce. Merci infiniment pour tes conseils, pour toutes ces journées de terrain au soleil et les pieds dans l'eau. Je n'aurai finalement pas réussi à égaler le maître Farfouillor que tu es !! Merci de m'avoir protégée contre tous ces espagnols bizarres à tête de cochon ! Merci de m'avoir suffisamment fait confiance pour me laisser entrer dans ta vie. Grâce à toi j'ai pu rencontrer Béa, Sylvie, Georges, Amel, Guillaume ... Tant de personnes aussi passionnantes que toi et que je remercie aussi à travers toi. Même si mon compte facebook ne l'indique pas, sache que tu fais parti de mes amis.

Impossible de remercier les collègues et la team calo sans remercier Manon. Je nous revois encore sous la pluie allongées devant la grotte de Moulis ... Tu auras été un exemple à suivre durant toute ma thèse. Je suis si admirative de tout le travail que tu as fait et si fière d'avoir un peu en commun avec toi. Merci de m'avoir invitée sur ton terrain, merci pour toutes ces journées de co-working calo girl avec TrochTroch ! Merci d'avoir été là et surtout merci d'être toi. Je te souhaite tout le bonheur possible dans ta nouvelle vie, et je compte bien être ta cliente numéro 1 !

Pour finir en beauté mes remerciements terrain et expérimentation : un immense merci à tous les stagiaires qui ont accompagné ces travaux de thèse. Gaëtan, Lucas C., Léa G., Clem, Manon T., Bérénice, Ophélie, Noémie, Thirsa, Thomas, Robin, Mélanie et Kevin. J'espère que faire ce petit bout de chemin de recherche vous aura autant plu qu'à moi. Merci infiniment pour votre aide scientifique, logistique et psychologique. Je me sens extrêmement chanceuse

d'avoir pu travailler avec vous en tant que collègues et de vous avoir connu en tant que personnes : je garde des souvenirs précieux avec chacun et chacune d'entre vous.

Le terrain et les expérimentations n'ont pas été les seuls travaux de cette thèse. Je suis très fière d'avoir participé à l'analyse ADNe. Et ça n'aurait pas été possible sans un certain nombre de personnes ! Merci d'abord à toutes les équipes sur le terrain pour la récolte de feces ! Merci ensuite à tout le personnel d'EDB de m'avoir accueillie dans leur labo pendant plusieurs mois. Merci d'abord à Vincent qui a pris le temps de me former à l'extraction et de travailler sur les amorces : ça a été 3 jours passionnants à tes côtés ! Un immense merci à Charlotte qui m'a prise sous son aile pour cette manip qui me sortait complètement de ma zone de confort ! Tu as guidée mes premiers pas et tu m'as formée au quotidien, je ne te remercierai jamais assez pour le temps que tu as pris, l'expertise professionnelle que tu m'as donnée et la douceur avec laquelle tu m'as rassurée. Merci aussi à Géraldine qui a tout supervisé avec Simon. Ton aide a été extrêmement précieuse et rassurante. Merci pour tous tes conseils et ta gentillesse, ça a été un plaisir de travailler avec toi !

Un grand merci à tous mes collègues de Moulis qui ont de près ou de loin participé au bon déroulement de cette thèse. En particulier, merci à Thomas, Séverine, Myriam, Jade et Marion pour votre professionnalisme, votre gentillesse, votre disponibilité et vos conseils. Merci à Jérôme pour les nombreux conseils scientifiques aussi pertinents que prévenants. Merci à Elodie, Hugo et Laura K. pour tous ces brainstormings herpéto et écophysio. Un merci particulier à Laura qui a joué la cheffe émotionnelle et rédactionnelle de dernière heure ! Merci également à tous mes compatriotes de thèse pour tous ces moments partagés, bons comme moins bons. Merci Julie pour ton investissement auprès des doctorants.es : j'ai rarement vue une telle guerrière, aussi déterminée et battante. Merci Laura F. de rayonner aussi fort à chaque fois que tu arrives quelque part. Muchas gracias a Soraya por tu amabilidad y todos estos intercambios en torno a la tesis y las curvas de rendimiento térmico. Je vous souhaite à toutes les trois une fin de thèse grandiose. Merci à la salle thésards, la seule l'unique, la vraie et à sa mascotte pattes-en-biais. Merci infiniment à Lala pour ta force, tous tes conseils et tes valeurs que tu portes si fièrement. Merci à Mimi pour ton humour, l'apaisement que tu m'as très souvent apporté et tous les brainstorming écophysio. Merci à Mathieu, le stagiaire de l'ENS devenu Docteur : ta douceur et ton intelligence m'ont souvent remis les pieds sur terre. Merci à Eloïse, pour absolument tout. Je suis tellement heureuse d'avoir partagé cette thèse avec toi et Mathieu : vous avez été mes points de repère tout au long de ces 4 années. En particulier toi Eloïse avec qui j'ai vécu ces intenses derniers mois au coude à coude. Echanger tous les jours sur nos doutes, notre fatigue, nos victoires, nos déceptions a été d'une si grande aide. T'avoir eu à la maison pour nos soutenances respectives, qu'on ait vécu ça ensemble jusqu'au bout, c'est quelque chose de si précieux dont je suis tellement fière ! Je ne pourrai

jamais assez te remercier pour qui tu es et t'exprimer ce que ces moments représentent pour moi, merci mille fois.

Un grand merci également à la communauté du Discord PhD, à ses créatrices et à tous les membres avec qui j'ai tissé un lien : Solène, Jim, Diane, Anana et tant d'autres. Merci particulièrement à mes gauchos préférés : Emilien, Erin, Alice, Flo et Galaad. Merci pour toutes ces sessions de "travail" en WT et merci d'avoir fait grandir ma conscience politique sur bien des sujets. Merci à Erin et Marie pour ces petits déjeuners endiablés. Erin, je me dois te remercier personnellement pour l'aide immense que tu m'as apportée : merci d'être une confidente, un soutien, une amie. J'espère te rendre au moins la moitié de tout ce que tu m'as offert. Impossible de remercier le Discord sans remercier la team rush final RPZ ! Merci à Isa, Marie, Olivia, Clem, Cathou, Hélène, Claudia, Julien, Camille, Charlotte, Malina, Barnabé. Je fais partie des dernières dans la chronologie de fin de thèse, j'ai adoré vous voir briller à vos soutenances et vous voir vous envoler après cette épreuve. Un merci particulier à celles que je considère comme des grandes soeurs : Isa, Marie ce qu'on a partagé est simplement indescriptible. Merci infiniment pour tous ces moments. Merci de m'avoir fait confiance, merci de m'avoir portée dans les pires moments. Merci de me communiquer vos forces et de me montrer vos faiblesses. J'ai beaucoup appris grâce à vous. Un merci très spécial également à une autre personne qui aura partagé au quotidien chacun de mes derniers instants de rédaction : Olivia. Ta présence et ta douceur ont contribué à un point inimaginable à cette rédaction. Ta bouille m'aura fait me lever le matin et veiller le soir. Ces to-do list et ces pomobjectifs partagés avec toi auront finalement vaincus ! Un immense merci d'avoir toujours été là, dans les pires comme dans les meilleurs moments. Tu as été un vrai refuge de douceur, merci pour tout.

Merci à tous mes proches qui ont gravité autour de moi et de cette thèse pendant ces 4 dernières années ! Merci à Marie, ma médecin préférée et amie de longue date. Merci à Valou qui nous a suivies dans cette aventure sudiste. Merci à Orlane, Pauline, Alicia, Manon P., Léa B., Lucas S., Madoka, Max et tant d'autres déjà cités pour ces échanges, ces soirées ...

Enfin, je remercie la personne qui m'accompagne depuis bientôt 7 ans, qui me suit dans mes folies et mes déboires avec toujours autant de patience et de générosité. Vincent, tu as été à la fois ma bulle d'oxygène et mon ancre. Tu n'as pas attendu que je me lance dans cette thèse pour l'être mais je crois que j'ai réalisé à quel point pendant ces derniers mois. Merci pour tous ces brainstorming scientifiques. Merci d'avoir toujours relativisé à chacune de mes angoisses. Merci de m'avoir accompagnée pour aller mieux. Merci de m'avoir portée, encouragée, aimée, soulagée : cette thèse aurait été bien différente sans toi. Certains de nos projets se sont déjà réalisés, j'ai hâte de voir ce que les autres vont donner, toujours à tes côtés.

BILAN DES ACTIONS RÉALISÉES

Articles scientifiques publiés

Deluen M., Blanchet S., Aubret F., Trochet A., Gangloff E.J, Guillaume O., Le Chevalier H., et al. (2022). « Impacts of temperature on O2 consumption of the Pyrenean Brook Newt (*Calotriton asper*) from populations along an elevational gradient ». In : *Journal of Thermal Biology* 103 : 103166. DOI : 10.1016/j.jtherbio.2021.103166.

Guillaume O., **Deluen M.**, Raffard A., Calvez O., and Trochet A. (2020). « Reduction in the metabolic levels due to phenotypic plasticity in the Pyrenean Newt, *Calotriton asper*, during cave colonization ». In : *Ecology and Evolution*. DOI : 10.1002/ece3.6882.

Trochet A.*, **Deluen M.***, Bertrand R., Calvez O., Martinez-Silvestre A., Verdaguer-Foz I., Mossoll-Torres M., et al. (2019). « Body size increases with elevation in Pyrenean Newts (*Calotriton asper*) ». In : *Herpetologica* 75 (1) : 30. DOI : /10.1655/0018-0831-75.1.30.

Trochet A., Dupoué A., Souchet J., Bertrand R., **Deluen M.**, Murarasu S., Calvez O., et al. (2018). « Variation of preferred body temperatures along an altitudinal gradient : A multi-species study ». In : *Journal of Thermal Biology* 77 : 38–44. DOI : 10.1016/j.jtherbio.2018.08.002.

Articles scientifiques en cours de rédaction

Deluen M., Aubret F., Bertrand R., Blanchet S., Calvez O., Delmas C., Dubut V., et al. (*in prep*). « Development and use of genetic tools for monitoring the Pyrenean brook newt (*Calotriton asper*) in the wild ».

Deluen M., Blanchet S., Aubret F., Gangloff E.J., Le Chevalier H., Trochet A., Calvez O., et al. (*in prep*). « Introduced predator and warming disrupt the metabolic rate of the Pyrenean brook newt ».

Martinez-Silvestre A., **Deluen M.**, Trochet A., Le Chevalier H., Ribas A., Bosch J., Thumsova B., et al. (*submitted in Bulletin de la Société Herpétologique de France*). « Un cas de syndrome d'oedème chez *Calotriton asper* (Dugès, 1852) (Urodela : Salamandridae) dans les Hautes-Pyrénées. ».

Le Chevalier H., **Deluen M.**, Bertrand R., Blanchet S., Tyssandier M., Viala C., Carle C., et al. (*in prep*). « When the trout's away the newts will play : group reaction of Pyrenean brook newt facing a salmonid predator ».

Communications orales

Deluen M.*, Le Chevalier H.*, Bertrand R., Muratet J., Rollet S., Galop D., Veyssiere C., et al. (2021) « Impact de la présence de la Truite Fario sur le *Calotriton* des Pyrénées ». *48ème Congrès de la Société Herpétologique de France*, Lille (France)

Deluen M., Trochet A., Bertrand R., Aubret F., Blanchet S. (2019) « Impact physiologique de la température chez *Calotriton asper* ». *4ème Colloque d'Ecophysiologie Animale*, Rennes (France)

Deluen M., Trochet A., Calvez O., Bertrand R., Aubret F., Blanchet S. (2018) « Préférences thermiques et mécanismes adaptatifs sous-jacents chez *Calotriton asper* ». *46ème Congrès de la Société Herpétologique de France*, Carnoules (France)

Vulgarisation scientifique

Interview papier - Teisseire-Dufour P., Santucci L. (2020). Ténébreux Calotriton. *Terre Sauvage*, 381 : 74-80

Conférence - Le réchauffement climatique dans les cours d'eau. *Festival Pint of Science 2020* URL : <https://www.youtube.com/watch?v=fzcs1xYV5BY>

Interview papier - Slagmulder D. (2020). Ariège : Le Calotriton des Pyrénées entre les mains du CNRS. *La Dépêche* URL : www.ladepeche.fr

Court métrage (actrice) - Mitsch J. (Réalisateur). (2020). *ECTOPYR : Les Pyrénées face au changement climatique*. Produit par AKTIS. URL : <https://www.youtube.com/watch?v=VyDrQszDSMs&t=10s>

Article de brochure (relecture) - Le Chevalier H. (2020). Biodiversité. *Point Rouge - La brochure annuelle de l'AAPPMA de Luchon*, 23 : 13.

Interview radio - Salamandre et Calotriton des Pyrénées. (2019). *Emission « Le Nid de Pie » sur Campus FM, Toulouse*. URL : www.mixcloud.com/CampusFM

Court métrage (accompagnement prise d'images) - Bouyjou J. & Calvet M. (Réalisateur). (2018). *Les gardiens de la montagne*. Produit par le Projet INTERREG POCTEFA ECTOPYR . URL : <https://www.youtube.com/watch?v=BtScnAle4cE>

FORMATIONS EFFECTUÉES

Formation « Utilisation d'Animaux à des Fins Scientifiques sur Faune Sauvage Non Hébergée - Niveau Concepteur », MNHN, ONCF, CNRS (2019) – 57 heures

Formation « Habilitation électrique non électricien - Indice BT/BE Manoeuvre Pêche électrique », Socotec (2019) – 14 heures

Formation « Ethique et Recherche », Toulouse (2019) – 6 heures

Evènement « Nuit Européenne des Chercheurs.e.s », Toulouse (2019) – 18 heures

Evènement « Dialogue entre Chercheur.e.s et Lycéen.ne.s », Association Déclics Toulouse (2018) – 4 heures

Evènement « Scientilivre Toulouse », Association Ad Naturam (2018) – 14 heures

Total des heures de formations validées : 113 heures.

TABLE DES MATIÈRES

1	Introduction générale	1
1.1	Un déclin majeur de la biodiversité	2
1.2	Les Amphibiens : un taxon particulièrement menacé	5
1.2.1	Changement climatique	7
1.2.2	Introduction d'espèces	10
1.2.3	Le Calotriton des Pyrénées	12
1.3	Outils techniques utiles à la conservation	17
1.3.1	L'écophysiologie	17
1.3.2	La détection d'ADN dégradé	18
1.4	Objectifs et présentation du manuscrit	19
2	Impact physiologique de la température	23
2.1	Abstract	24
2.2	Introduction	25
2.3	Material and methods	26
2.3.1	Study species	26
2.3.2	Sampling sites and newt maintenance in laboratory	27
2.3.3	Physiological response	28
2.3.4	Statistical analyses	29
2.4	Results	31
2.5	Discussion	32
3	Truite et prédation in situ	37
3.1	Abstract	38

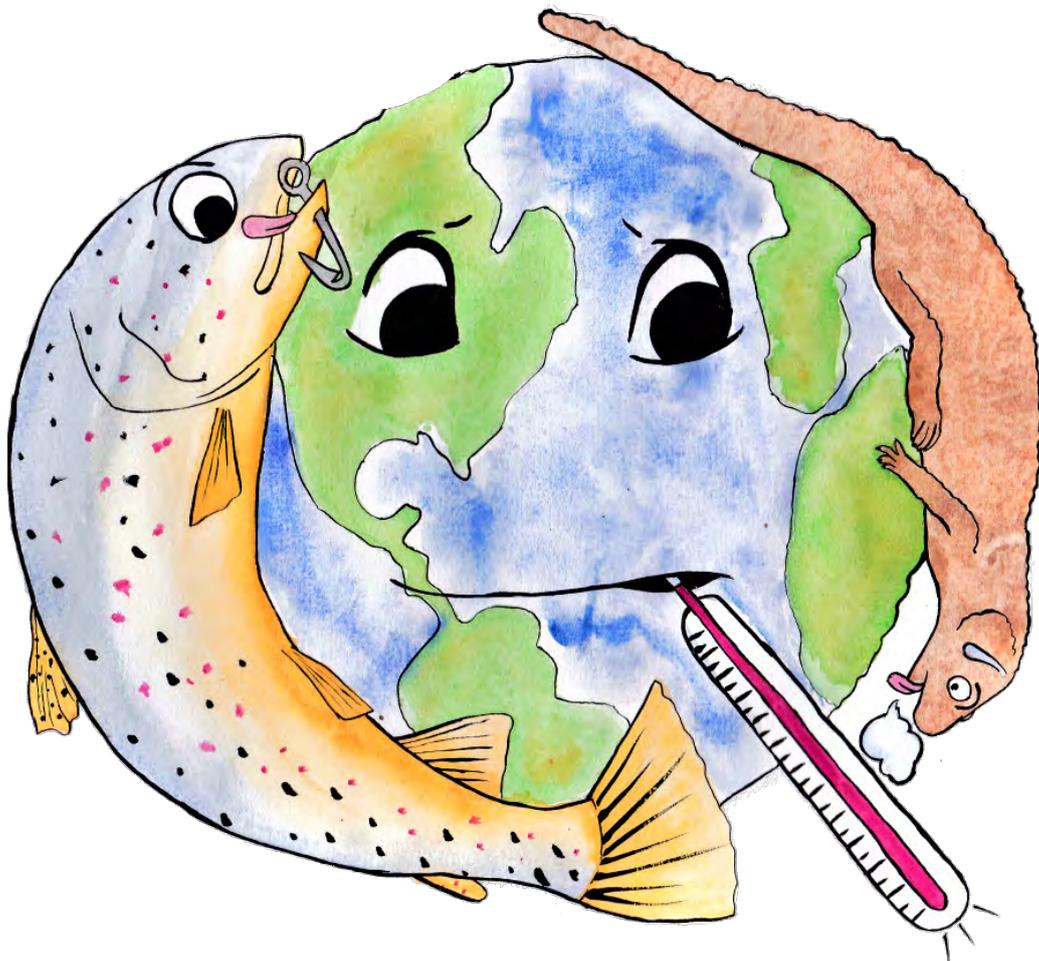
3.2	Introduction	38
3.3	Material and methods	41
3.3.1	<i>C. asper</i> 's detection using water eDNA	41
3.3.2	<i>C. asper</i> 's detection using fDNA from <i>S. trutta</i>	44
3.4	Results	46
3.4.1	Detection of <i>C. asper</i> through eDNA	46
3.4.2	Detection of trout predation on <i>C. asper</i> through fDNA	48
3.5	Discussion	49
3.6	Acknowledgments	50
4	Impact combiné poisson - température	53
4.1	Introduction	54
4.2	Material and methods	56
4.2.1	Source populations and husbandry	56
4.2.2	Physiological response	56
4.2.3	Statistical analyses	57
4.3	Results	59
4.4	Discussion	61
5	Discussion générale	67
5.1	Effets de la température sur les individus de <i>C. asper</i>	68
5.2	Effets de la présence de <i>S. trutta</i>	74
5.3	Effets combinés de la température et de la présence de <i>S. trutta</i> sur les individus de <i>C. asper</i>	76
5.4	Remise en contexte général	78

Note : Les illustrations de chapitre ont été réalisées grâce au talent et à la gentillesse d'

ORLANE SCELSE

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE



1.1 Un déclin majeur de la biodiversité

La biodiversité est caractérisée par des variations du nombre d'espèces au cours du temps, avec des événements d'extinction et de spéciation (BARNOSKY et al. 2011). A cinq reprises au cours de l'histoire de la Terre, le taux d'extinction a significativement dépassé les taux habituels constatés avec des pertes de plus de 75% du nombre d'espèces estimé. Ces événements exceptionnels ont été qualifiés d'extinctions de masse. Au milieu des années 1990, on voit apparaître le terme de 6^{ème} extinction de masse référant à une nouvelle crise de biodiversité (LAWTON et MAY 1995). Cet événement est directement attribué à des activités humaines tellement étendues et importantes que les scientifiques estiment que nous avons changé d'époque géologique pour passer de l'Holocène à l'Anthropocène (CRUTZEN 2002).

Les changements globaux caractéristiques de cet Anthropocène exposent les organismes vivants à un ensemble de stress biotiques et abiotiques de plus en plus forts (BEEBEE et GRIFFITHS 2005). Les changements globaux les plus importants correspondent à la modification et perte des habitats, l'exploitation directe des organismes, les changements climatiques, la pollution chimique des eaux et des sols, et l'introduction d'espèces exotiques devenues envahissantes (IPBES 2019). Ces menaces ont des impacts à toutes les échelles spatiales et temporelles menant à un total de 28% d'espèces menacées dont 20% chez les animaux (IUCN 2019).

ROSENZWEIG et al. 2007 résumant très bien les possibilités qui s'offrent aux organismes : « si les conditions climatiques changent au-delà des tolérances des espèces, elles pourraient réagir en modifiant leur cycle de vie, déplaçant leurs limites d'aire de répartition ou la densité des individus, modifiant leur morphologie, reproduction ou génétique, ou en s'éteignant. ». Ainsi, deux réponses existent pour éviter l'extinction : une modification adaptative des phénotypes ou le déplacement vers des environnements plus favorables au maintien des populations. La première stratégie peut permettre un large panel de modifications au niveau individuel, populationnel ou transgénérationnel conduisant à une persistance dans le milieu (MEYERS et BULL 2002). Ces modifications peuvent être physiologiques (SEEBACHER, WHITE et FRANKLIN 2015; NORIN et METCALFE 2019), morphologiques (GOTTHARD et NYLIN 1995; BAILEY 2021), comportementales (SNELL-ROOD 2013) ou s'opérer au niveau des traits d'histoire de vie (GOTTHARD et NYLIN 1995; MEYERS et BULL 2002), sur le court ou le long terme (STEARNS 1989). Cela peut constituer une stratégie adaptative permettant aux espèces de persister dans leur environnement. Néanmoins, lorsque ce n'est pas possible, une autre solution existe : la dispersion (i.e. le mouvement d'un individu de son site de naissance vers son site de reproduction ou entre deux sites de reproduction ; HOWARD 1960) pour la recherche d'un environnement plus favorable. A large échelle, cela peut induire une modification importante des aires de répartition des espèces avec par exemple des remontées latitudinales (BOISVERT-

MARSH, PERIE et BLOIS 2019) ou altitudinales (POTTIER 2012; HSIUNG et al. 2018). Jonathan LENOIR et al. 2020 ont ainsi réalisé une méta-analyse pour estimer les changements d'aire de répartition d'un large panel d'espèces. Les ectothermes (notion détaillée à la section 1.2.1) sont ainsi les espèces dont les aires de répartition ont le plus changé depuis plusieurs décennies avec par exemple de nombreux cas de remontées altitudinales chez plusieurs espèces vers des refuges climatiques (Amphibiens : MOSKWIK 2014; BOTTS, ERASMUS et ALEXANDER 2015; Insectes : MOLINA-MARTINEZ et al. 2016; MORET et al. 2016). Les travaux de Jonathan LENOIR et al. 2020 montrent néanmoins que ces changements d'aire ne sont pas toujours facilités : les espèces terrestres ont notamment des vitesses de déplacement bien plus lentes que la vitesse du changement climatique actuel, en particulier les espèces longévives aux faibles capacités de dispersion. Ce résultat peut s'expliquer par un nombre conséquent de barrières à la dispersion en lien avec la fragmentation anthropique des habitats par l'exploitation des milieux (barrages hydroélectriques, champs agricoles, etc) ou le regroupement de fortes densités de populations humaines Jonathan LENOIR et al. 2020.

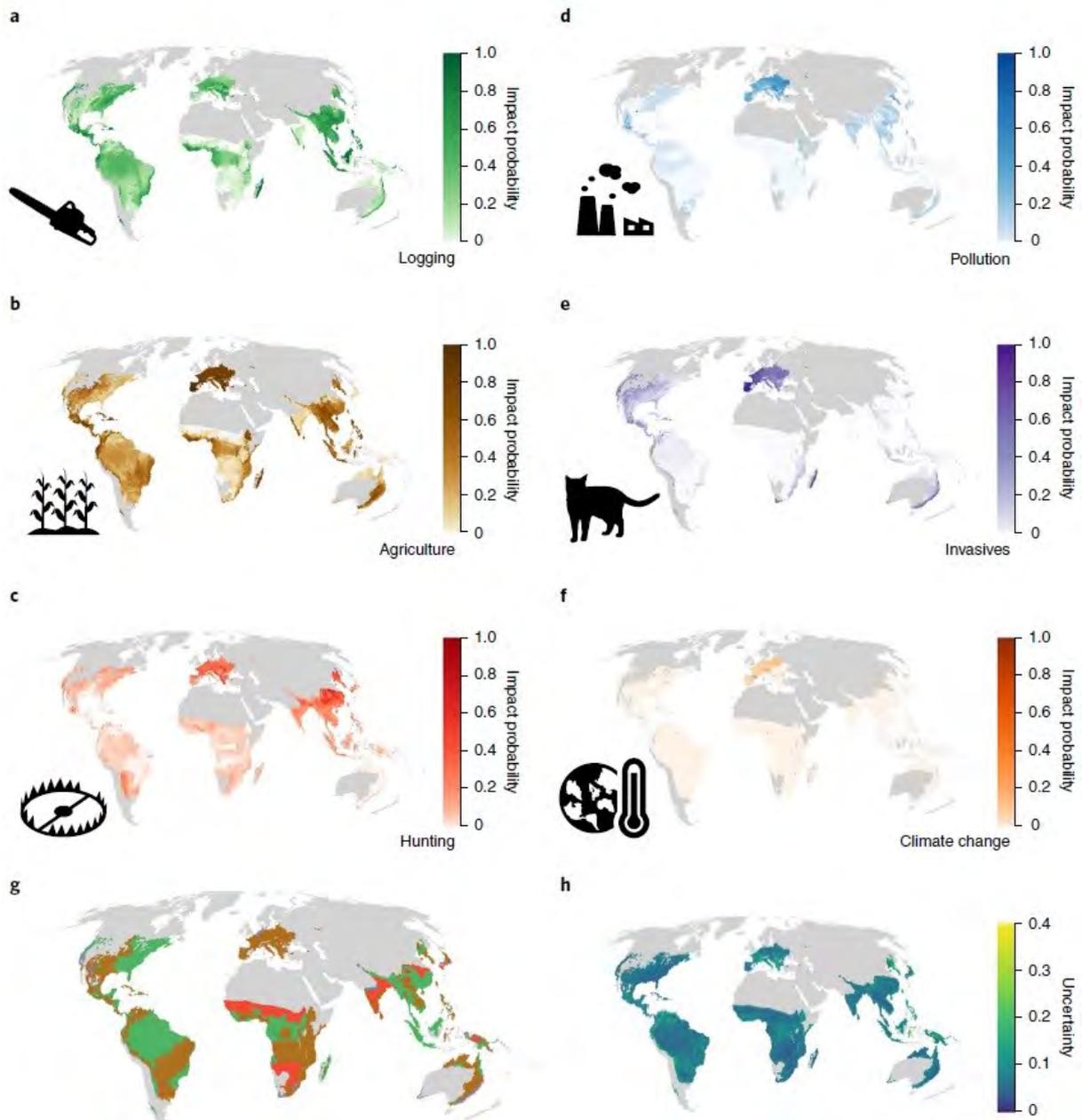


FIGURE 1.1 – Probabilités d'impact des changements globaux sur les amphibiens à travers le monde. a–f, Probabilité qu'un amphibien soit impacté par (a) l'industrie forestière, (b) l'agriculture, (c) la chasse, (d) la pollution, (e) les espèces invasives et (f) le changement climatique. Les couleurs les plus foncées indiquent une plus grande probabilité. Une valeur de 0 indique qu'aucune espèce n'est affectée, de 1.0 que toutes les espèces le sont. Le gris indique les zones comptant moins de dix espèces pour lesquelles la probabilité d'impact n'a pas été estimée. La menace avec la plus forte probabilité d'impact est illustrée par (g) où les couleurs correspondent à celles choisies pour a-f. L'ensemble des données a été modélisée sur une zone de 50 km x 50 km. Source : HARFOOT et al. 2021

1.2 Les Amphibiens : un taxon particulièrement menacé

D'après la liste rouge UICN (IUCN 2019), 41% des Amphibiens sont classés menacés à l'échelle mondiale. C'est un pourcentage plus important que chez tous les autres Vertébrés avec 37% d'espèces menacées chez les Raies et Requins, 26% chez les Mammifères ou encore 21% chez les Reptiles non aviens. A l'échelle de la France métropolitaine, 23% d'espèces d'Amphibiens ont ce statut. Cet état de conservation est dû à un déclin inquiétant du nombre d'espèces, bien plus rapide que chez les autres taxons (STUART et al. 2004). Cette fragilité particulière s'explique par des caractéristiques éco-évolutives communes à cette classe taxonomique qui les rendent plus sensibles à un ensemble de menaces diverses (Figure 1.1 ; BEEBEE et GRIFFITHS 2005 ; DALIBARD et al. 2020). Notamment, leur peau nue et perméable les rend particulièrement vulnérables aux pathogènes (*Ranavirus*, *Batrachochytrium dendrobatidis* et *B. salamandrivorans* pour ne citer qu'eux) et aux polluants chimiques (ROWE, W. HOPKINS et BRIDGES 2003 ; QUARANTA et al. 2009). Leur cycle de vie bi-phasique les soumet aux contraintes autant terrestres qu'aquatiques où la moindre destruction d'habitats (exploitation forestière, agriculture, destruction de zones humides) peut affecter la survie et/ou la reproduction des individus, et donc les empêcher d'accomplir la totalité de leur cycle de vie (WAKE 1991 ; STUART et al. 2004). Leur faible capacité de dispersion les rend également beaucoup plus sensibles à la fragmentation de leurs habitats (CUSHMAN 2006), facteur majeur de pertes de diversité génétique (HOULAHAN et FINDLAY 2003), elle-même influençant la fitness, le développement, la résistance aux pathogènes ou la survie des individus (CLEGG, EPPERSON et A. H. D. BROWN 1992 ; HUGHES et al. 2008 ; LAZZARO et LITTLE 2009). En tant qu'ectothermes, ils sont dépendants de leur environnement thermique pour réguler leur température corporelle, les rendant particulièrement sensibles au réchauffement climatique actuel (détaillé à la section 1.2.1). Enfin, l'introduction d'espèces peut constituer une problématique majeure pour les taxons (détaillé à la section 1.2.2), avec des risques d'apports de nouveaux pathogènes, de modification de l'utilisation de l'habitat ou de la structure trophique, voire des risques d'interaction directe par compétition et/ou prédation (BEEBEE et GRIFFITHS 2005 ; SAVINI et al. 2010 ; HAVEL et al. 2015).

Ainsi, ces menaces peuvent avoir des effets les unes sur les autres et accentuant les risques pour les individus et les populations. L'ensemble des Amphibiens constituent alors des espèces de premier intérêt d'étude en biologie de la conservation de par leur caractère bioindicateur. Les espèces bioindicatrices sont en effet définies comme des organismes qui reflètent l'état abiotique ou biotique d'un environnement. Elles illustrent l'impact d'un changement environnemental sur un habitat, une communauté ou un écosystème et peuvent informer de la diversité d'un sous-ensemble de taxons ou de la diversité totale dans une zone (GERHARDT 2002).

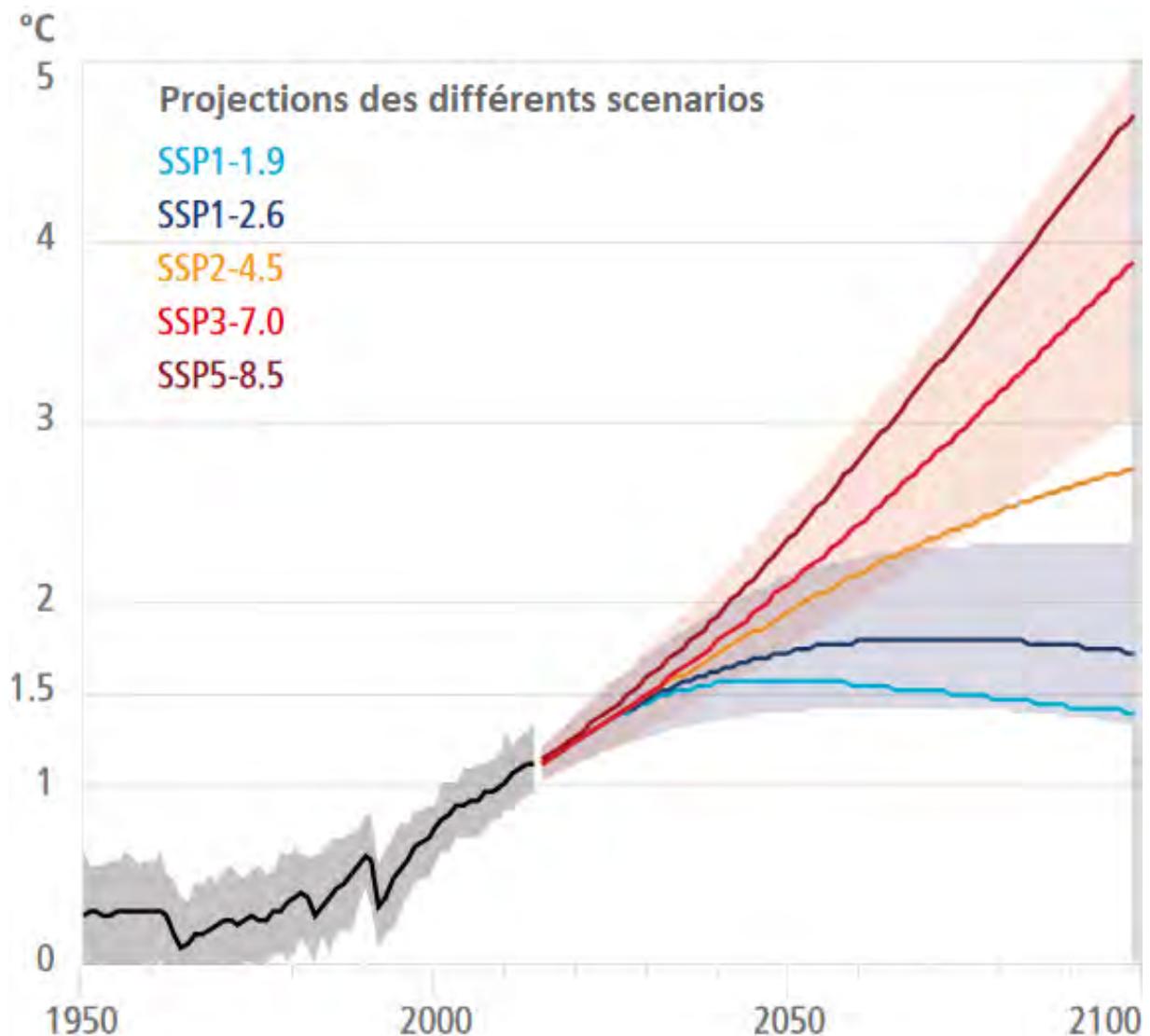


FIGURE 1.2 – Projections des différents scénarios d'augmentation de la température moyenne mondiale de surface par rapport à la période 1850-1900. Le nombre de degrés en plus est exprimé en fonction de l'année, la période passée est représentée en gris et les différents scénarios futurs en couleur. Les ombres autour des scénarios SSP1-2.6 (bleu) et SSP3-7.0 (rouge) représentent les intervalles de confiance évalués pour chaque scénario (probabilité entre 90-100%). Les différents scénarios représentent le niveau des efforts réalisés par les Etats concernant l'utilisation des énergies fossiles et les émissions de gaz à effet de serre. (SSP1-1.9 correspond au scénario le plus optimiste où les émissions diminuent drastiquement pour atteindre la neutralité carbone en 2100). Traduit de : IPCC 2022

1.2.1 Changement climatique

Le climat regroupe l'ensemble des phénomènes et paramètres météorologiques qui caractérisent l'état moyen de l'atmosphère en un lieu donné. On considère qu'il y a changement climatique lorsque l'état moyen change significativement sur une période précise (IPCC 2022). Les changements climatiques actuels peuvent se caractériser par une augmentation de la fréquence et intensité de catastrophes météorologiques (pluies et inondations, incendies, tornades, ...) et par des dérèglements des paramètres climatiques comme la température. C'est le cas du changement climatique actuel, caractérisé par un réchauffement global de la Terre de +1°C entre 1900 et 2018 (ARNETH et al. 2019), avec des variations locales. Dans les Pyrénées, il a notamment été constaté une augmentation de +1,2°C entre 1949 et 2010 (OPCC 2018). Les différents scénarios définis récemment par le groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC) mettent en évidence une future élévation des températures moyennes de surface dont la limitation sous la barre des +2°C sera difficile mais reste envisageable (Figure 1.2, IPCC 2022). Les risques majeurs ont ainsi été estimés suivant leur degré d'intensité en fonction de l'augmentation des températures futures et des différents scénarios (Figure 1.2). Ainsi, dans les scénarios les plus optimistes (SSP1-1.9 ; Figure 1.2), une limitation de l'augmentation des températures à +1,5°C à l'horizon 2100 rend hautement probable une perte de biodiversité modérée dans les écosystèmes terrestres et d'eau douce (Figure 1.3A) et un impact fort sur les espèces menacées et endémiques (RFC1, Figure 1.3B).

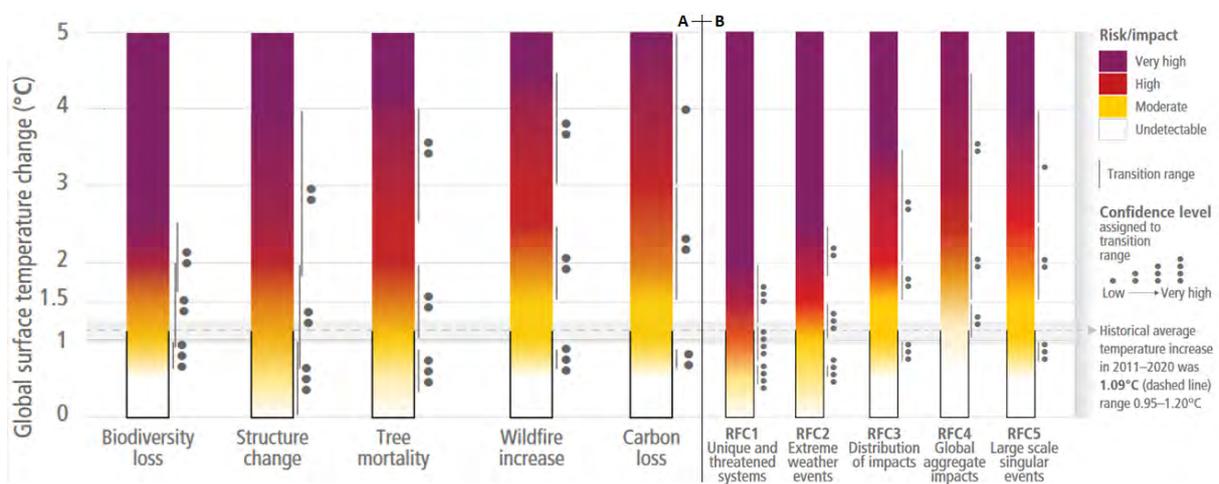


FIGURE 1.3 – Evaluation des risques en fonction de l'élévation des températures futures dans les écosystèmes terrestres et d'eau douce (A) et en cas de faible (voire aucune) adaptation des espèces (B). Source : IPCC 2022

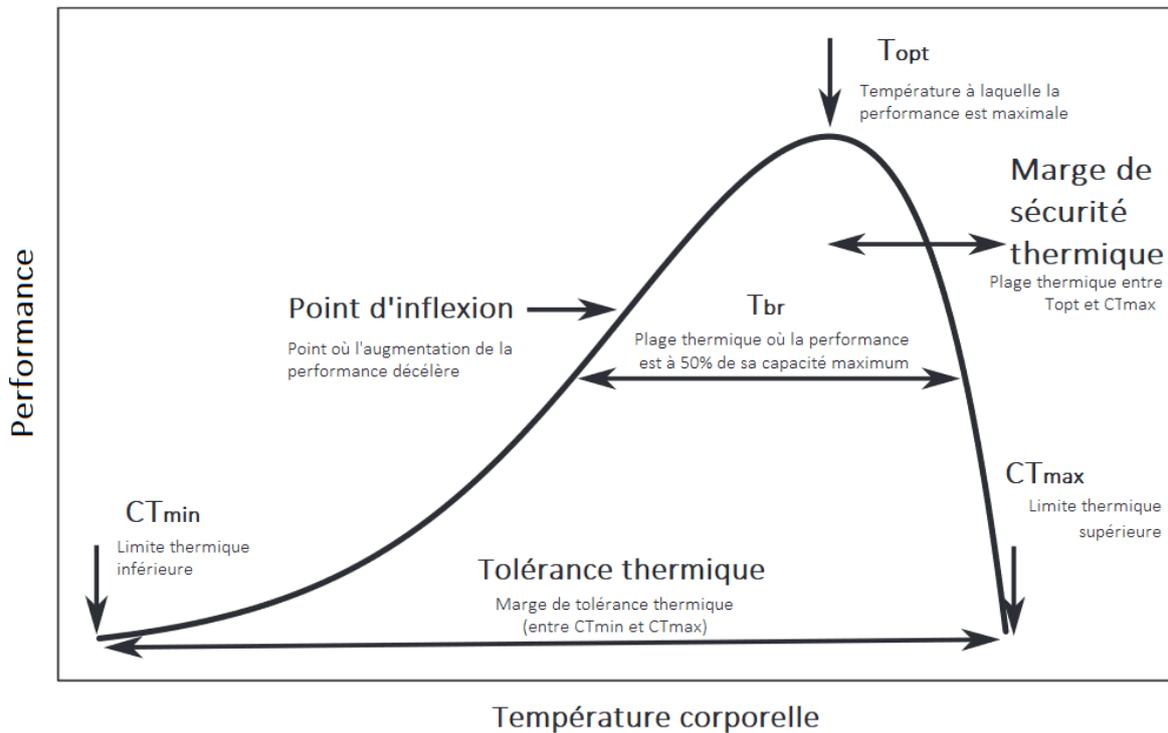


FIGURE 1.4 – Courbe de performance thermique théorique où les tolérances thermiques s'étalent d'une température critique minimum (CT_{min}) à une température critique maximum (CT_{max}) où la performance est nulle. L'optimum thermique (T_{opt}) correspond à une performance maximale. La plage de tolérance thermique couvrant un certain pourcentage de la performance mesurée est une variable souvent étudiée dans la littérature et correspond à l'amplitude thermique (T_{br} pour « thermal breadth, souvent étudiée pour une valeur de 80% ou comme dans cet exemple 50%). La marge de sécurité thermique (« thermal safety margin ») correspond à une chute de performance sur une plage de températures passé l'optimum mais où la CT_{max} n'est pas encore atteinte. Traduit d'après SINCLAIR et al. 2016

Ces risques pèsent en particulier sur les ectothermes, espèces animales dont les fonctions biologiques majeures sont conditionnées par la température ambiante et ses variations (ANGILLETTA 2009). Il a notamment été observé chez ces organismes des modifications physiologiques en fonction de la température avec une augmentation globale des performances entre une température critique minimum où l'organisme ne peut fonctionner et une température optimum où ses performances sont maximales. Passé ce seuil thermique optimum, les capacités physiologiques chutent jusqu'à un point nul arrivé à la température critique maximum au-delà duquel un organisme ne peut plus survivre (R. HUEY et R. STEVENSON 1979; ANGILLETTA, NIEWIAROWSKI et NAVAS 2002). Cette courbe de performances thermique (Figure 1.4) peut correspondre à la fitness des organismes (DEUTSCH et al. 2008; OVERGAARD, KEARNEY et HOFFMANN 2014), leur croissance (KINGSOLVER et WOODS 1997), leur digestion (R. D. STEVENSON, PETERSON et TSUJI 1985; KINGSOLVER et

WOODS 1997), leur respiration (R. D. STEVENSON, PETERSON et TSUJI 1985 ; KINGSOLVER et WOODS 1997 ; KELLERMANN et al. 2019) ou encore leur locomotion (R. D. STEVENSON, PETERSON et TSUJI 1985 ; KELLERMANN et al. 2019). Au sein d'une même espèce, les courbes de performances thermiques peuvent donc varier en fonction du trait étudié, mais il est important de noter qu'elles peuvent aussi varier suivant le sexe (LATIMER, R. S. WILSON et CHENOWETH 2011), la classe d'âge des individus (SINCLAIR et al. 2016) ou la localisation au sein de l'aire de distribution (ANGERT, SHETH et PAUL 2011). Des variations peuvent également s'observer si l'expérience est menée à température fixe ou sous des variations thermiques et suivant le temps d'exposition (KINGSOLVER et WOODS 2016 ; KELLERMANN et al. 2019).

Ainsi, une élévation globale des températures peut impacter différents traits, à différentes échelles et avoir plusieurs conséquences. Des températures plus chaudes peuvent avancer la phénologie des espèces et entraîner une augmentation du taux de croissance permettant aux individus d'atteindre leur maturité sexuelle plus tôt (ATKINSON 1994 ; ANDERSON et al. 2001). Un début de reproduction plus tôt dans l'année et le cycle de vie peut constituer un avantage direct avec une augmentation du nombre de générations par année (i.e. maximisation de la fitness) (ALTERMATT 2010). Néanmoins, il a été démontré que ces individus pouvaient être caractérisés par un taux de survie significativement plus faible, impliquant une diminution du nombre d'individus dans la population (BESTION et al. 2015). Cet impact négatif de l'avancement phénologique peut également s'illustrer par un décalage d'apparition saisonnière des espèces provoquant des limitations d'accès aux ressources (« *phenological mismatch hypothesis* » résumé dans RENNER et ZOHNER 2018). Les individus peuvent également être soumis à des aléas climatiques plus fréquents et plus importants, impactant leur survie, en particulier celles des juvéniles (CROZIER et al. 2008). Bien que certaines populations et/ou espèces de milieux froids peuvent bénéficier sur le court terme de cet avancement phénologique, il a tout de même été noté chez ces individus un impact négatif long terme sur la reproduction, le développement et la survie des individus (LEVY et al. 2016 ; SCRANTON et AMARASEKARE 2017).

Ces phénomènes peuvent également favoriser la présence de certaines espèces et la disparition d'autres sur une aire géographique donnée. Dans les Pyrénées, on peut notamment citer l'exemple du Lézard des Murailles (*Podarcis muralis*) largement réparti en basse altitude qui colonise les refuges climatiques que constituent les milieux de plus hautes altitudes, entrant ainsi en compétition avec l'endémique Lézard de Bonnal (POTTIER 2012). Cet exemple concerne des espèces autochtones aux aires de répartition proches, mais les modifications de niche thermique dans les écosystèmes peuvent aussi induire l'immigration, l'acclimatation et la naturalisation d'espèces exogènes, voire leur propagation dans le cas des espèces exotiques

envahissantes JU et al. 2015 ; BOHER et al. 2016). Enfin, la modification des conditions climatiques peut grandement affecter la pérennité des espèces dont la détermination du sexe est thermo-dépendante (cas des Reptiles non aviens et des poissons téléostéens). Les déséquilibres de sex-ratio induits peuvent conduire à une baisse de reproduction par manque de partenaires sexuels et/ou à une hausse de la consanguinité par manque de diversité génétique, ralentissant les dynamiques de populations et augmentant les risques d'extinction des populations (F J JANZEN 1994 ; Nicola J MITCHELL et al. 2008 ; N. J. MITCHELL et F. J. JANZEN 2010).

Tout l'enjeu repose donc sur l'intensité et la rapidité des changements subis et la capacité des individus à y répondre. Des études ciblées sur des territoires et des espèces précises (comme les espèces bioindicatrices) sont alors cruciales pour comprendre à quel niveau la hausse des températures va avoir un plus grand impact et quelles stratégies de conservation sont possibles pour aider les espèces à y faire face.

1.2.2 Introduction d'espèces

L'introduction d'espèces dans le milieu naturel par l'être humain est un phénomène ancien et généralisé (GALOP 2020). Qu'elle soit volontaire (à des fins alimentaires et/ou économiques) ou involontaire (via le transport ou les échappés d'élevage / laboratoires), cette introduction peut avoir des conséquences directes ou indirectes importantes sur les écosystèmes. Beaucoup d'études se sont concentrées sur le cas des espèces exotiques envahissantes. On peut notamment citer COLAUTTI et MACISAAC 2004 qui établissent cinq stades successifs nécessaires pour qualifier une espèce d'invasive. Une espèce exotique doit ainsi passer la première étape du transport de son lieu d'origine à son nouvel environnement (stade I). Si cette espèce survit dans ce nouvel environnement (stade II), elle a alors la possibilité de s'y établir en se reproduisant (stade III). Puis, les capacités de dispersion de l'espèce et l'adéquation de l'environnement et des autres communautés trophiques vont permettre (ou non) à l'espèce de devenir invasive en étant largement répartie et dominante dans son environnement (stade IV puis V). Cette réflexion s'est portée sur les espèces invasives de manière générale mais s'applique en particulier aux espèces exotiques envahissantes (terme souvent trouvé comme synonyme de « invasive »). Pourtant, comme le précise Valéry et ses collaborateurs en 2009, une espèce invasive peut aussi être autochtone (VALERY et al. 2009). C'est le cas de la Truite fario *Salmo trutta* qui fait partie des 100 espèces les plus invasives à travers le monde mais qui est aussi introduite au sein de son aire de répartition européenne (RAHEL 2007 ; Phaedra BUDY et GAETA 2017).

Dans les Pyrénées, la Truite fario est naturellement présente dans les cours d'eau et a réussi à coloniser certains lacs suite au retrait des glaciers mais ils restent peu nombreux (Figure 1.5, GALOP 2020). Toutefois, l'empoisonnement de cette espèce est très pratiqué et se concentre

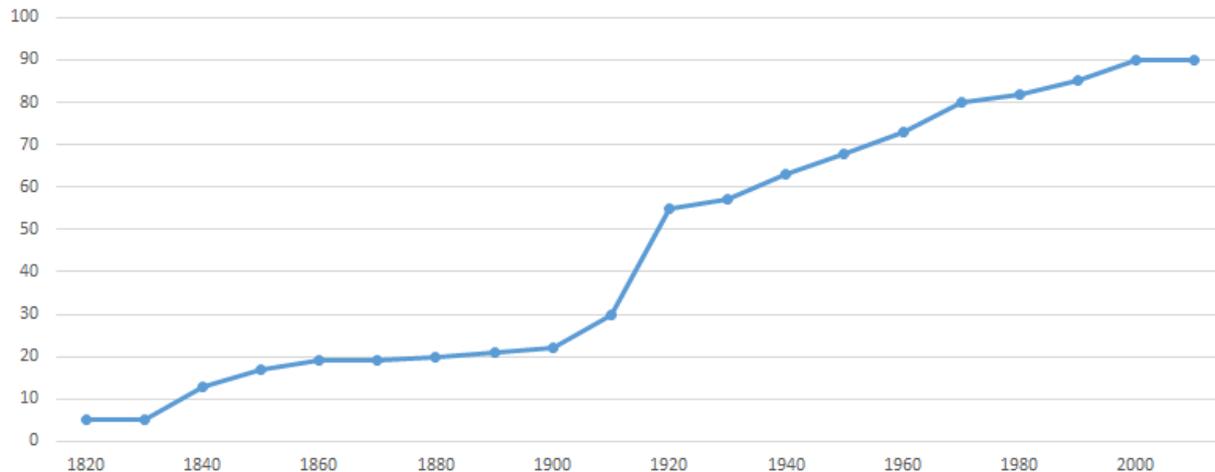


FIGURE 1.5 – Historique du pourcentage de lacs pyrénéens empoisonnés de 1820 à nos jours. D'après GALOP 2020.

surtout sur les lacs d'altitude, dont l'historique a été rigoureusement décrit par GALOP 2020. L'introduction de truites dans les Pyrénées est caractérisée par un contexte socio-économique particulier. Au XIX^{ème} siècle d'abord, la truite est considérée comme une denrée de luxe dans le tourisme thermal et les lacs constituent des viviers à ciel ouverts dans lesquels se servir. Mais le manque d'organisation, de réglementation, voire d'équipements ne permettent pas d'empoisonner beaucoup de lacs et de nombreuses tentatives échouent. Il faut attendre la fin de la seconde guerre mondiale pour voir apparaître une stratégie d'empoisonnement plus organisée grâce à l'équipement plus moderne et donc plus efficace et la création des services Eaux et Forêts et des fédérations de pêche au début du XX^{ème}. L'objectif n'est plus de viser un public touristique gourmet mais des sportifs et des passionnés de pêche de loisir et nécessite des rendements bien plus importants. Ainsi, en 1940, 20% des lacs pyrénéens sont empoisonnés. L'augmentation brutale et constante de la pratique dès 1960 permet ensuite d'avoir en 2015 plus de 85% des lacs avec une présence de poisson avérée (Figure 1.5). Aujourd'hui encore, l'activité de pêche récréative constitue une part importante de l'économie pyrénéenne et a une forte dimension culturelle – voire patrimoniale pour certains (GALOP 2020). Pourtant, on connaît maintenant les potentiels impacts d'une telle pratique sur les écosystèmes lacustres. Tiberti et al., ont notamment montré la diminution significative de l'abondance de macroinvertébrés (TIBERTI, HARDENBERG et BOGLIANI 2014) et l'exclusion de la Grenouille rousse (*Rana temporaria*) (TIBERTI et HARDENBERG 2012) en présence de Salmonidés dans les lacs alpins. Dans le cas de la première étude, ils ont ainsi constaté l'extinction locale de plusieurs groupes de macroinvertébrés par une trop forte pression de prédation des poissons tandis que quelques rares taxons semblaient être favorisés par cette introduction, bénéficiant d'une réduction forte de compétition entre macroinvertébrés. La présence de poissons a ainsi complètement changé la structure trophique des lacs alpins concernés. Dans le cas de la seconde étude, la

présence de Salmonidés semble provoquer un facteur d'exclusion de *R. temporaria* mais il est impossible de savoir si cette absence est la conséquence d'un évitement des lacs empoisonnés ou une extinction locale des amphibiens suite à l'empoisonnement. Dans les deux cas, cette exclusion peut être là aussi une conséquence de la prédation des poissons (sur les oeufs et larves de grenouilles) et/ou d'une compétition pour les ressources alimentaires par exemple. Par prédation ou compétition, *R. temporaria* est ainsi privée d'autant de sites de reproduction qu'il y a de lacs empoisonnés, ce qui peut fortement diminuer la taille des populations et constituer des barrières à la dispersion. Les travaux de Tiberti et al. dans les lacs alpins ne sont pas les seuls sur le sujet et plusieurs études ont pu observer des résultats similaires dans d'autres écosystèmes lacustres (BRONMARK et EDENHAMN 1994; HAMER, LANE et MAHONY 2002; KNAPP 2005; ORIZAOLA et BRANA 2006; MIRO et VENTURA 2020) attestant que l'introduction de poissons prédateurs dans des écosystèmes naïfs peut conduire à des dérèglements du fonctionnement des écosystèmes et un changement de la biodiversité qu'ils abritent. PILLIOD et PETERSON 2001 ont même montré qu'une trop large colonisation des lacs états-unis par l'introduction de truite (90% de la surface totale d'écosystèmes lentiques disponibles) pouvaient induire la disparition d'Amphibiens de paysages entiers – y compris de sites sans poissons – par un manque trop important d'habitats favorables à la reproduction ou l'hivernage des espèces.

Les études historiques ou d'impacts écologiques de l'empoisonnement se concentrent sur les lacs parce que la présence de poissons y est souvent artificielle, pourtant cette pratique concerne aussi les cours d'eau. Bien que historiquement plus réglementée que l'empoisonnement des lacs (GALOP 2020), la pratique s'opère dans des cours d'eau originellement sans poisson ou en renforcement de populations déjà existantes (CHAT et al. 2015). L'impact d'une introduction artificielle régulière et parfois abondante d'un prédateur n'est pourtant pas anodin et il est important de le quantifier pour une gestion durable de la pêche, de la biodiversité et des écosystèmes.

1.2.3 Le Calotriton des Pyrénées

Le Calotriton des Pyrénées (*Calotriton asper*, DUGES 1852) est un urodèle endémique du massif. Rhéophile, c'est une espèce caractéristique des courants de montagne frais et bien oxygénés. Sténotherme, elle supporte mal les fortes variations de température. Bien que ses tolérances thermiques ne soient pas connues, il est plusieurs fois documenté que la température de 15°C se rapprocherait de son optimum de développement (CLERGUE GAZEAU 1983; SILVESTRE 2011). Son aire de répartition s'étale de la Catalogne au Pays Basque, incluant l'ensemble des départements pyrénéens français et espagnols, ainsi que l'Andorre (Figure 1.6). On la retrouve ainsi sur un large gradient altitudinal, de 100 à 2400 m d'altitude (POTTIER

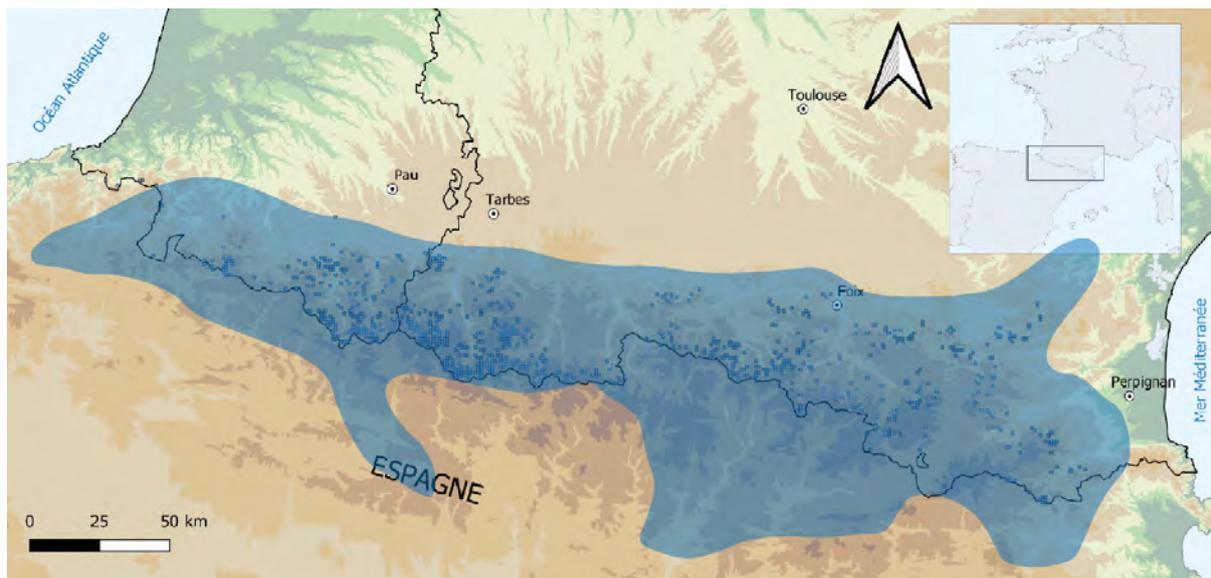


FIGURE 1.6 – Aire de répartition de *Calotriton asper*. Crédit : Société Herpétologique de France

et al. 2021). L'espèce rencontre donc des climats et écosystèmes variés, allant des forêts de feuillues (voire des rivières souterraines) de l'étage collinéen jusqu'aux larges pelouses de l'étage alpin (NICOL 1990 ; POTTIER et al. 2021).

Cette variété de conditions environnementales nécessite des capacités d'adaptation particulières pour les populations qui ont développé des caractéristiques éco-évolutives distinctes. Les différences inter-populationnelles sont telles que pendant longtemps les différents morphes de *C. asper* étaient considérées comme des espèces distinctes. C'est officiellement Dugès en 1852 (DUGES 1852) qui entame cet historique avec la première description attribuée au genre Hémitriton. Plusieurs noms de genres et d'espèces vont se succéder pour les descriptions des différentes populations (*Triton sp.*, *Calotriton punctulatus*, *Euproctus sp.* – attribués par Dumeril, Bibron ou Gray pour ne citer qu'eux (A.M.C DUMERIL, BIBRON et DUMERIL 1854 ; GRAY 1858)). Il faudra attendre la fin du XIX^{ème} siècle pour la reconnaissance de l'hétérogénéité anatomique et morphologique. En 1882, les travaux de Boulenger (BOULENGER 1882) regroupent la plupart des espèces d'Urodèles d'Europe au sein du genre Molge, avec *M. aspera* pour le Calotriton. Beaucoup de confusions ont également été faites avec les deux espèces d'euproctes que l'on retrouve en Corse (*Euproctus montanus*) et Sardaigne (*E. platycephalus*). De la considération de 3 « sous-espèces » d'une même espèce par Roule et Dehaut (ROULE 1909 ; DEHAUT 1920) à la distinction de 3 espèces d'un même genre par Boulenger (BOULENGER 1910), le début du XX^{ème} siècle voit débattre plusieurs scientifiques sur la taxonomie de ces 3 urodèles. La thèse de Despax en 1923 (DESPAX 1923) marque l'historique de l'espèce avec une description précise et large sur sa répartition, son anatomie, son histologie, son éthologie

et son développement larvaire. Ses travaux seront complétés par différents scientifiques pyrénéens – Monique Clergue Gazeau en tête – tout au long du XX^{ème} siècle (CLERGUE GAZEAU 1972; CLERGUE GAZEAU 1976; MARTINEZ RICA et CLERGUE GAZEAU 1977; CLERGUE GAZEAU et MARTINEZ RICA 1978; CLERGUE GAZEAU et BONNET 1979; GASSER et CLERGUE GAZEAU 1981; CLERGUE GAZEAU 1983; CLERGUE GAZEAU 1987; NICOL 1990). Il faudra attendre les avancées techniques du XXI^{ème} siècle pour avoir une caractérisation précise de la phylogénie des différentes espèces d'Urodèles. En 2005, Carranza et Amat déterminent ainsi la taxonomie, la biogéographie et l'évolution des espèces grâce à des marqueurs génétiques et mettent en évidence (1) l'éloignement phylogénétique de la partie pyrénéenne (*Calotriton sp.*) de la partie méditerranéenne (*Euproctus sp.*) et (2) l'existence de 2 espèces pyrénéennes (CARRANZA et AMAT 2005). Le Calotriton des Pyrénées (*C. asper*) et le Calotriton de Montseny (*C. arnoldi* endémique du massif de Montseny en Catalogne) sont alors bien différenciés des Euproctes corse et sarde. Néanmoins, cet historique dense n'est pas anodin : l'ensemble des travaux récents s'accordent à mettre en évidence des différences génétiques (LUCATI, MIRO et VENTURA 2020; CAMARASA 2021), comportementales (TROCHET, DUPOUE et al. 2018), physiologiques (cf. Chapitre II, (GUILLAUME et al. 2020; DELUEN, BLANCHET et al. 2022), ou encore morphologiques (TROCHET, DELUEN et al. 2019; CAMARASA 2021) entre les populations de Calotritons.

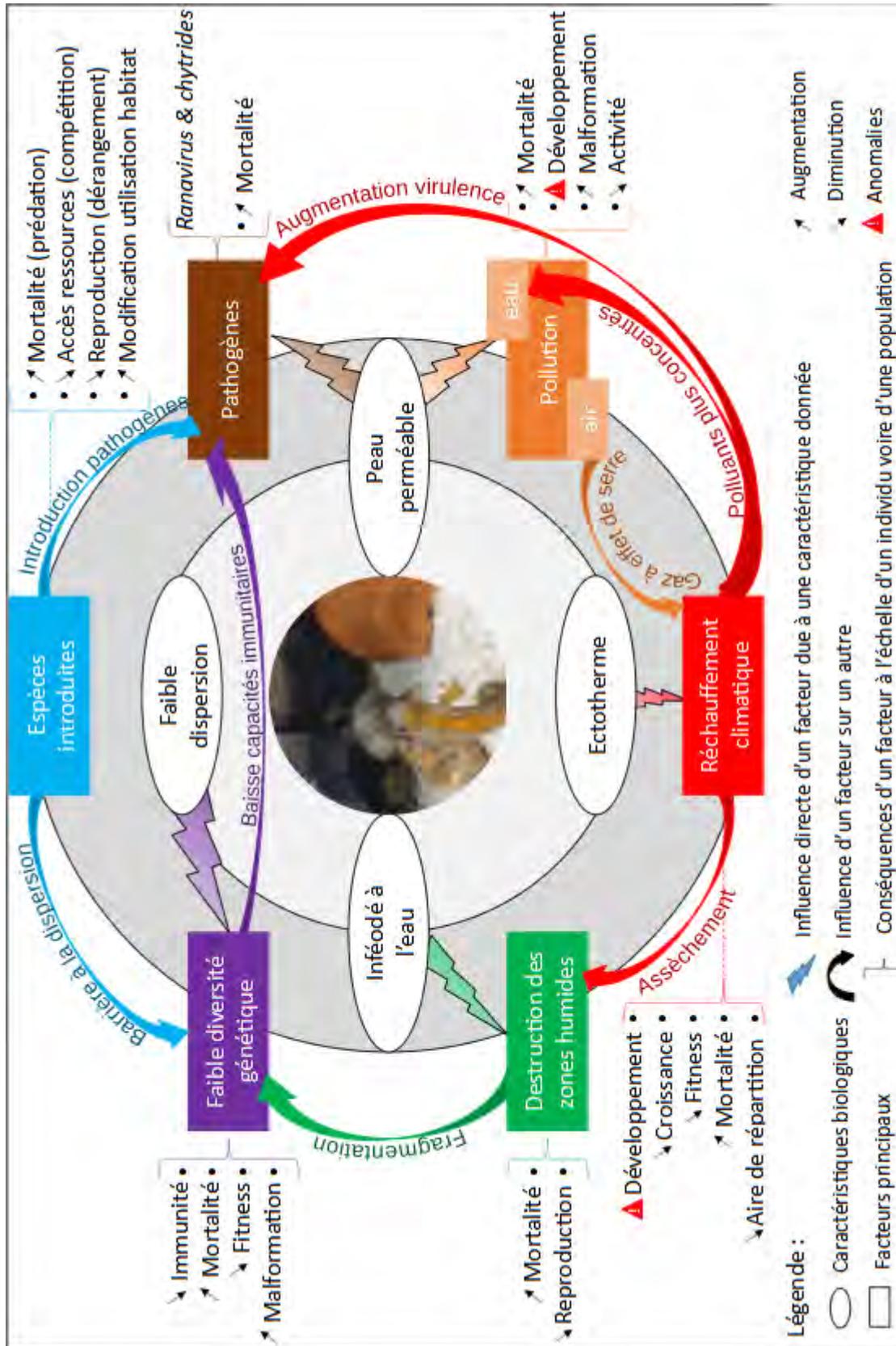


FIGURE 1.7 – Les caractéristiques biologiques du Calotriton des Pyrénées induisent une sensibilité particulière à un ensemble de facteurs qui peuvent avoir une influence l'une sur l'autre. Ces effets combinés peuvent ainsi renforcer l'impact d'un facteur sur les individus et/ou les populations. D'après DALIBARD et al. 2020.

Comme tous les Amphibiens, le Calotriton des Pyrénées est soumis à de multiples menaces, le classant vulnérable sur la liste rouge UICN (Figure 1.7 ; FRANCE, MNHN et SHF 2015). En 2020, Dalibard et son équipe ont identifié sept menaces majeures pesant sur le Calotriton : le changement climatique (détaillé dans la section 1.2.1), les maladies émergentes (i.e. le chytride et ranavirus), l'introduction et translocation d'espèces (détaillé dans la section 1.2.2), la qualité de l'eau (i.e. salage des routes en hiver, nitrates agricoles), l'industrie forestière, les activités hydrauliques (i.e. barrages hydro-électriques et les variations de débit induites) et les activités aquatiques récréatives (i.e. canyoning, rafting). Cet article met l'accent sur la nécessité de quantifier ses menaces pour l'élaboration de plans de gestion (DALIBARD et al. 2020).

La plupart des études déjà réalisées sur l'espèce se sont concentrées sur son anatomie (DESPAX 1923 ; CLERGUE GAZEAU et BONNET 1979 ; SERRA-COBO, UIBLEIN et MARTINEZ-RICA 2000 ; TROCHET, DELUEN et al. 2019), ses traits d'histoire de vie (CLERGUE GAZEAU 1976 ; CLERGUE GAZEAU 1983 ; CLERGUE GAZEAU 1987), son régime alimentaire (SANCHEZ-HERNANDEZ, MONTORI et G. A. LLORENTE 2019), sa taxonomie et sa répartition génétique (CARRANZA et AMAT 2005 ; MONTORI, G. LLORENTE et GARCIA-PARIS 2008 ; MILA et al. 2009 ; LUCATI, MIRO et VENTURA 2020 ; CAMARASA 2021), la caractérisation de son habitat (DALIBARD et al. 2020) ou son écologie générale (DALIBARD 2021 ; POTTIER et al. 2021). MONTORI, G. LLORENTE et GARCIA-PARIS 2008 ; MILA et al. 2009 ont également mis en évidence les faibles diversité génétique et capacité de dispersion du Calotriton des Pyrénées.

Malgré ces travaux denses, peu d'études ont cherché à estimer l'impact de facteurs biotiques ou abiotiques sur les individus ou les populations de *C. asper*. On peut évidemment citer diverses études comme celles qui ont constaté une corrélation entre présence de poisons et absence de *C. asper* (MONTORI 1997 ; MIRO, SABAS et VENTURA 2018 ; MIRO et VENTURA 2020), notamment au sein des lacs que l'espèce n'occupe actuellement peu ou plus (POTTIER et al. 2021). Les travaux de MARTINEZ-SILVESTRE et al. 2020 également, qui décrivent le statut sanitaire de *C. asper* face au chytride. Un manque de connaissances reste néanmoins à combler sur le Calotriton des Pyrénées et ses réponses face aux différentes menaces des changements globaux.

1.3 Outils techniques utiles à la conservation

1.3.1 L'écophysiologie

L'écophysiologie est une discipline récente qui cherche à établir le rôle et l'importance des processus physiologiques (digestion, excrétion, respiration, etc.) dans les caractéristiques et réponses écologiques des espèces (BRADSHAW 2003). L'intérêt est ainsi de mieux comprendre les mécanismes physiologiques mis en place chez les organismes pour faire face aux variations du milieu. Cette discipline peut ainsi s'inscrire dans des objectifs de recherche fondamentale mais aussi servir d'outil et d'angle d'approche pour de la recherche plus appliquée, afin d'évaluer de manière précoce les effets de l'environnement et des activités anthropiques, mais aussi les prédire. En effet, un stress peut entraîner une série de réponses physiologiques à l'échelle des individus impactant d'autres paramètres comme la croissance, les comportements de foraging, la capacité de fuite d'un prédateur, ou la fitness (ANGILLETTA 2009). C'est donc la physiologie des individus qui va être le plus rapidement modifiée en réponse à des facteurs environnementaux biotiques ou abiotiques. Or, ces changements physiologiques individuels peuvent avoir des répercussions à court terme à l'échelle de la population (par exemple, une baisse de fitness individuelle peut avoir des répercussions sur les dynamiques de population ; MARKERT et al. 2010) et/ou long terme à l'échelle transgénérationnelle (par exemple, un stress thermique peut diminuer la production de gamètes qui, si ce trait est héritable, peut engendrer une perte de fertilité sur plusieurs générations ; GEMMELL, METCALF et ALLENDORF 2004 ; HANSEN 2009 ; CHIRAULT et al. 2015). Il est ainsi crucial de s'intéresser aux impacts physiologiques d'une variable environnementale pour anticiper les conséquences possibles d'un changement environnemental sur les individus et les populations. On peut donc estimer sur le court et le long terme l'impact d'un facteur environnemental et suggérer des mesures de conservation adaptée pour la protection de l'espèce cible.

Un paramètre physiologique très étudié est le taux métabolique standard. Sa mesure indique le coût énergétique minimum pour maintenir en vie un organisme (CAREAU, KILLEN et METCALFE 2014). Il est soumis à des trade-offs et influence fortement l'allocation d'énergie aux différentes fonctions vitales de l'individu (CLARKE 1993). Ce taux métabolique standard est mesuré par la quantification de la consommation d'O₂ d'individus adultes au repos, à jeun et en dehors de toute période de reproduction (HULBERT et ELSE 2004). Cette mesure globale constitue une réponse court terme qui permet d'avoir une vision quasi immédiate de l'impact d'une variable environnementale sur la physiologie d'un organisme. En plus de son intérêt scientifique, la consommation d'O₂ représente un avantage technique non négligeable puisque sa mesure est facile, peu invasive et « passive » : l'animal n'a pas besoin d'être actif pour que la donnée soit rigoureuse. Dans le cas du Calotriton, animal placide mais peu coopératif, c'est

la mesure idéale. Peu d'études se sont intéressés à la physiologie du Calotriton mais la plupart a effectivement utilisé la consommation d'O₂ comme proxy du métabolisme (voir par exemple HERVANT, MATHIEU et J.P. DURAND 2000 ; HERVANT, MATHIEU et J. DURAND 2001 ; SCHLEGEL, BRIEGLEB et BULOG 2006 ; ISSARTEL et al. 2010 ; GUILLAUME et al. 2020). La physiologie du Calotriton a ainsi été principalement étudiée sous l'angle cavernicole de l'espèce : soit comme point de comparaison avec d'autres espèces d'amphibiens cavernicoles strictes (i.e. le Protée anguillard *Proteus anguinus*) soit afin d'étudier quels mécanismes permettent au Calotriton de survivre dans les grottes sous-terraines. Aucune étude à ma connaissance n'a utilisé d'approche écophysiologique pour établir la relation entre métabolisme et stress (température et présence d'un prédateur) chez *C. asper*.

1.3.2 La détection d'ADN dégradé

La détection de l'ADN dégradé d'une espèce dans différents substrats (eau, excréments, tissus, etc.) est une technique récente permettant soit d'identifier par metabarcoding l'ensemble des espèces présentes soit d'estimer précisément la présence d'une espèce cible. Cette technique pas ou peu invasive nécessite des outils et protocoles biomoléculaires adaptés à la détection d'ADN dégradé et permet l'évaluation (i) de la distribution d'une espèce exotique envahissante ou menacée (FICETOLA, MIAUD et al. 2008 ; SECONDI et al. 2016), (ii) de l'état sanitaire de populations menacées par la présence de pathogènes ou parasites (BYRNE et al. 2017 ; DUVAL et al. 2021), ou (iii) des relations trophiques d'une communauté par la caractérisation des régimes alimentaires (BIFFI et al. 2017 ; MONTERROSO et al. 2019). En plus de son intérêt scientifique évident, la détection d'ADN dégradé permet une précision parfois plus rigoureuse que les méthodes traditionnelles de détection d'espèce sur le terrain. Elle est adaptée à plusieurs espèces et milieux et permet une économie de temps et de moyens humains non négligeables (DEJEAN et al. 2012 ; BIGGS et al. 2015 ; LARAMIE, PILLIOD et GOLDBERG 2015).

L'échantillonnage est ainsi grandement facilité, notamment dans le cas d'espèces aux comportements cryptiques ou vivant dans des zones difficilement accessibles, comme le Calotriton des Pyrénées. L'extraction et l'amplification de l'ADN se fait ensuite en laboratoire grâce à l'élaboration d'amorces génétiques et permet d'avoir une analyse claire et précise de la présence/absence voire quantité d'ADN de l'espèce cible. Développer et diffuser des amorces spécifiques à la détection d'espèces menacées représente ainsi un objectif de conservation fort.

1.4 Objectifs et présentation du manuscrit

L'objectif général de ces travaux de thèse est de caractériser l'impact de deux composantes des changements globaux sur le Calotriton des Pyrénées : le réchauffement climatique et l'introduction de Salmonidés pour la pêche récréative. Ces deux éléments ont d'abord été étudiés indépendamment dans les chapitres 2 et 3, puis de manière combinée dans le dernier chapitre. Ce manuscrit présente les résultats sous forme d'articles scientifiques, déjà publié (chapitre 2) ou en cours de finalisation (chapitres 3 et 4).

Le chapitre 2 analyse l'impact des températures sur la physiologie du Calotriton à partir de la mesure d'un indicateur du taux métabolique. Les travaux de TROCHET, DUPOUE et al. 2018 ont montré une différenciation des préférences thermiques en fonction de l'altitude d'origine des populations. Il était donc important d'inclure cette donnée dans l'étude en échantillonnant des populations de haute et basse altitudes afin d'estimer une éventuelle différence de sensibilité thermique entre ces deux groupes. J'ai ainsi mesuré la consommation de dioxygène – mesure du métabolisme – des animaux à 11 températures au sein de populations issues de 6 altitudes différentes en faisant l'hypothèse d'une consommation plus importante chez les individus de haute altitude.

Le chapitre 3 s'est lui focalisé sur l'intérêt des outils moléculaires pour différentes problématiques de gestion avec l'élaboration d'amorces génétiques spécifiques à *C. asper* et adaptées à la détection d'ADN dégradé. Bien que la plupart des populations de Calotriton soient maintenant connues, il reste encore des sites qui présentent des conditions environnementales favorables à la présence de l'espèce et/ou qui ont été documentés comme colonisés par *C. asper* mais où aucun individu n'a été observé depuis longtemps (POTTIER et al. 2021). Dans un premier temps, la présence ou non de l'espèce a ainsi pu être déterminée par analyse d'ADN environnemental au sein de son aire de répartition. Dans un second temps, je me suis intéressée à l'impact de la présence in situ de Truite fario *S. trutta* sur les populations de Calotritons. MONTORI 1997 a montré la prédation de la Truite sur *C. asper* avec des individus adultes et larves observés dans les contenus stomacaux des poissons. Néanmoins, cette prédation n'a pas été quantifiée à ma connaissance. L'objectif a donc été de mener une première étude d'estimation de la pression de prédation par détection d'ADN de *C. asper* au sein des fèces de *S. trutta*. Etant donné la taille de la majorité des Truites observées et la taille des Calotritons, j'ai supposé que la prédation se faisait majoritaire sur les stades larvaires. Deux sessions de pêche ont donc été réalisées : une avant le début de la reproduction de *C. asper*, une après en supposant observer un plus grand nombre de détection au sein de la seconde pêche avec une plus forte présence de larves.

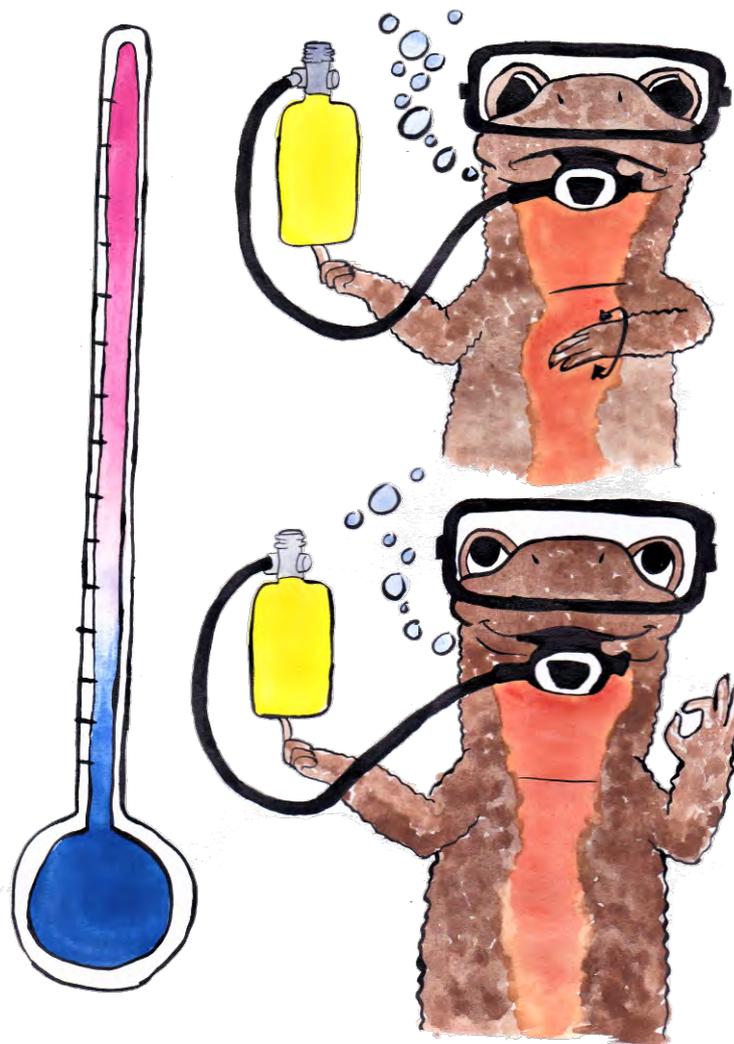
Le chapitre 4 a pour objectif d'étudier un possible effet combiné de la présence de salmoni-

dés et du changement climatique sur la physiologie de *C. asper*. En effet, dans le milieu naturel, la plupart des variables environnementales ont des effets les unes sur les autres (BELLARD et al. 2014). Afin de se rapprocher au maximum des perturbations subies par les espèces, l'étude simultanée de plusieurs menaces est donc primordial et d'intérêt conservatoire. Ainsi, j'ai repris les deux menaces abordées dans les chapitres précédents et choisi d'étudier l'impact de la proximité d'une Truite fario sur la physiologie du Calotriton à différentes températures. J'ai utilisé le même indicateur de l'activité métabolique que dans le chapitre 2, la consommation de dioxygène. Afin de prendre également en compte la présence in situ de Salmonidés, différentes populations de Calotritons vivant en sympatrie ou allopatrie avec des truites fario ont été échantillonnées. En effet, il a déjà été observé des différences phénotypiques majeures entre des organismes vivant en sympatrie ou allopatrie avec un prédateur (BASS et GERLAI 2008 ; ANSON et DICKMAN 2013), ce qui pourrait grandement impacter la réponse physiologique des Calotritons dans cette expérience.

Enfin, dans une dernière partie, l'ensemble des résultats est lié et discuté de manière à évaluer la menace combinée de l'introduction de salmonidés et du changement climatique sur le Calotriton des Pyrénées. Plusieurs critiques et perspectives sont apportées pour améliorer les connaissances sur cette espèce endémique.

CHAPITRE 2

L'IMPACT PHYSIOLOGIQUE DE LA TEMPÉRATURE





Impacts of temperature on O₂ consumption of the Pyrenean brook newt (*Calotriton asper*) from populations along an elevational gradient

Marine Deluen^{a,*}, Simon Blanchet^a, Fabien Aubret^a, Audrey Trochet^b, Eric J. Gangloff^c, Olivier Guillaume^a, Hugo Le Chevalier^a, Olivier Calvez^a, Clémentine Carle^a, Léa Genty^a, Gaëtan Arrondeau^a, Lucas Cazale^a, Laura Kouyoumdjian^a, Alexandre Ribéron^d, Romain Bertrand^d

^a Station d'Ecologie Théorique et Expérimentale, CNRS, UPR2001, 09200 Moulis, France

^b Société Herpétologique de France, Muséum National d'Histoire Naturelle, CP41, 57 rue Cuvier, 75005, Paris

^c Department of Zoology, Ohio Wesleyan University, Delaware, Ohio

^d Laboratoire Évolution et Diversité Biologique, UMR5174, Université de Toulouse III Paul Sabatier, CNRS, IRD, Toulouse, France

2.1 Abstract

Global warming impacts biodiversity worldwide, leading to species' adaptation, migration, or extinction. The population's persistence depends on the maintenance of essential activities, which is notably driven by phenotypic adaptation to local environments. Metabolic rate – that increases with temperature in ectotherms – is a key physiological proxy for the energy available to fuel individuals' activities. Cold-adapted ectotherms can exhibit a higher resting metabolism than warm-adapted ones to maintain functionality at higher elevations or latitudes, known as the metabolic cold-adaptation hypothesis. How climate change will affect metabolism in species inhabiting contrasting climates (cold or warm) is still a debate. Therefore, it is of high interest to assess the pace of metabolic responses to global warming among populations adapted to highly different baseline climatic conditions. Here, we conducted a physiological experiment in the endemic Pyrenean brook newt (*Calotriton asper*). We measured a proxy of standard metabolic rate (SMR) along a temperature gradient in individuals sampled among 6 populations located from 550 to 2189 m a.s.l. We demonstrated that SMR increased with temperature, but significantly diverged depending on populations' origins. The baseline and the slope of the relationship between SMR and temperature were both higher for high-elevation populations than for low-elevation populations. We discussed the stronger metabolic response observed in high-elevation populations suggesting a drop of performance in essential life activities for these individuals under current climate change. With the increase of metabolism as the climate warms, the metabolic-cold adaptation strategy selected in the past could compromise the sustainability of cold-adapted populations if short-term evolutionary responses do not allow to offset this evolutionary legacy.

2.2 Introduction

All organisms process energy from their environment through their metabolism to maintain functionality, develop, grow, and reproduce (J. H. BROWN et al. 2004). The factors which explain variation in this metabolic rate are thus central to understanding ecological interactions across levels of biological organization. For example, both long-term evolutionary forces and immediate environment can shape energy exchange rates, with important consequences for individuals and populations (ILES 2014; SCHULTE 2015). The “Standard Metabolic Rate” (SMR) is a particularly important physiological trait to consider because it indicates the minimum energy cost necessary to sustain life in an organism (CAREAU, KILLEN et METCALFE 2014). This measure of energy requirement for physiological maintenance is subject to trade-offs and influences the energy available for locomotion (i.e., escape, foraging behavior), growth, or reproduction (CLARKE 1993). Also, SMR can vary according to several biotic characteristics such as size, age, sex, or ecological niches (J. H. BROWN et al. 2004). SMR is quantified as the O₂ consumption of resting and unfed individuals, at a completed growth stage and during a non-reproductive period (HULBERT et ELSE 2004). Under conditions of limited energy availability, high SMR can reduce the energy available for non-maintenance functions. In other contexts, such as when energy input is not limited, high SMR can suggest high energy turnover for all vital activities (KOOIJMAN 2000). Moreover, ectothermic animals adapted to cold environments (such as at high-elevation or latitude) may be characterized by higher SMR at a given temperature as a physiological adaptation to cold climates. This phenomenon, known as the metabolic cold adaptation (MCA) hypothesis, suggests that having a higher metabolic rate in cold environments may be advantageous for ectotherms by allowing them to be active at lower temperatures and thus compensate for shorter daily or seasonal warm periods (CLERGUE GAZEAU 1983; GASTON et al. 2009). Support for this hypothesis has been demonstrated in arthropods (TERBLANCHE et al. 2009), amphibians (KREIMAN et al. 2019), and reptiles (DUPOUE, BRISCHOUX et LOURDAIS 2017), though these patterns are not universal (LARDIES, BACIGALUPE et BOZINOVIC 2004; LARDIES, CATALAN et BOZINOVIC 2004).

Temperature is a major driver of variation for most biological processes, from biochemical reactions at the cell level to the fitness of organisms (KINGSOLVER 2009). Warmer temperatures can result in (i) earlier phenology of organisms that can lead to an imbalance in interspecific interactions (KHAROUBA et al. 2018), (ii) a modification of population’s dynamic with a biased sex ratio for some reptile species (THOMPSON et al. 2018), (iii) a change in the spatial distribution of organisms with poleward and/or upward shifts mainly (Jonathan LENOIR et al. 2020) leading community reshuffling with uncertain sustainability due to novel species interactions (WILLIAMS et JACKSON 2007; GIBSON-REINEMER, SHELDON

et RAHEL 2015), and (iv) ultimately local extirpations when organisms are unable to cope with rapid climate change (WHITFIELD et al. 2007; BODENSTEINER et al. 2021). This is especially true in ectotherms in which most physiological functions are directly influenced by temperature (ANGILLETTA 2009). As described by a thermal reaction norm, metabolism increases (ramping phase) with temperature until it reaches a pre-mortal plateau and then drops (mortal fall) as critical limits are approached (LIGHTON et TURNER 2004; TAYLOR et al. 2020). The slope and shape of these thermal reaction norms depend upon species or populations (EVANS 1939; A. V. BROWN et FITZPATRICK 1981; HOMOYACK, HAAS et William A. HOPKINS 2010; LONDONO et al. 2015; CATENAZZI 2016; GANGLOFF, HOLDEN et al. 2016). Thus, global warming may lead to temperatures exceeding the thermal tolerance of ectotherms (DEUTSCH et al. 2008), or impose important sublethal effects such as altering body size, growth rates, immunity, and generating physical deformities (WEERATHUNGA et RAJAPAKSA 2020). This could have negative consequences on individual fitness and populations in the long term, and many ectotherm populations are therefore - or will shortly be - at risk of extirpation (NOVARRO et al. 2018).

To understand the potential response of a species to changing climates, it is necessary to characterize the thermal-dependence curves of metabolic rate across a relevant latitudinal or elevational gradient (SEARS 2005; MUIR, BIEK et MABLE 2014; BULGARELLA et al. 2015; HU et al. 2019). Here, we investigated the physiological sensitivity of the endemic Pyrenean brook newt *Calotriton asper* through the measure of SMR across a range of ecologically relevant temperatures (5 °C–25 °C) and for individuals from populations living at elevations ranging from 250 to 2500 m a.s.l. By characterizing the temperature-dependence of SMR in *C. asper*, we test whether this relationship varies along an elevational gradient. We predict a linear increase in SMR as assay temperatures rise and in accord with the MCA hypothesis - a higher metabolic rate in high-elevation populations than in low-elevation populations at a given temperature (TERBLANCHE et al. 2009; KREIMAN et al. 2019).

2.3 Material and methods

2.3.1 Study species

The Pyrenean brook newt (*Calotriton asper* Dugès, 1852) is an amphibian species from the Pyrenees mountains (Andorra, Spain, France) commonly found in brooks, lakes, and springs ranging from 250 to 2500 m a.s.l. (MARTINEZ RICA et CLERGUE GAZEAU 1977; CLERGUE GAZEAU et MARTINEZ RICA 1978; NICOL 1990; MONTORI, G. LLORENTE et GARCIA-PARIS 2008). This species is listed in appendix IV of the Habitats Directive (92/43/CEE, May 21, 1992), appendix II of the Bern Convention, and as near-threatened species in the

TABLE 2.1 – Characteristics of the 6 studied sites where Pyrenean brook newts were captured.

Sampling site	Date of capture	Number of females	Mean mass females (g) \pm sd	Number of males	Mean mass males (g) \pm sd	Coordinates (latitude/longitude)	Elevation (a.s.l.)	MAAT ($^{\circ}$ C)
Fougax	27 May 2019	5	9.0 \pm 0.8	15	9.6 \pm 2.3	42 $^{\circ}$ 52'9,05" N 1 $^{\circ}$ 53'25,30" E	550	11.4
Belesta	04 June 2019	10	7.1 \pm 2.1	10	9.5 \pm 1.7	42 $^{\circ}$ 53'0,17" N 1 $^{\circ}$ 56'13,16" E	800	10.1
Aulus	13 June 2019	9	7.6 \pm 1.2	11	9.4 \pm 1.7	42 $^{\circ}$ 47'9,42" N 1 $^{\circ}$ 19'20,50" E	1100	10.4
Orlu	25 June 2019	10	9.3 \pm 1.5	10	9.8 \pm 1.4	42 $^{\circ}$ 39'48,21" N 1 $^{\circ}$ 58'2,10" E	1313	6.7
Gavarnie	22 July 2019	10	4.4 \pm 0.9	10	6.2 \pm 1.2	42 $^{\circ}$ 44'19,86" N 0 $^{\circ}$ 1'51,85" O	1724	0.5
Néouvielle	31 July 2019	10	8.5 \pm 0.7	10	10.0 \pm 1.0	42 $^{\circ}$ 50'20,80" N 0 $^{\circ}$ 8'56,30" E	2189	2.4

national Red List of amphibians of metropolitan France (IUCN France). Major threats to *C. asper* include climate change, habitat change, and predation by introduced predatory fish (DALIBARD 2021). *Calotriton asper* is characterized by a low dispersal rate (and gene flow) among populations (MILA et al. 2009 ; LUCATI, POIGNET et al. 2020), which favors high phenotypic variation among populations (SERRA-COBO, UIBLEIN et MARTINEZ-RICA 2000). For instance, previous work highlighted among-population variation according to site elevation in terms of different biological and ecological factors. First, in terms of life-cycle with reproduction that takes place in spring and autumn in low-elevation individuals and summer in high-elevation ones due to water temperature (CLERGUE GAZEAU 1983). Then, in terms of morphology with an increase of body size with elevational gradient according to the Bergmann's rule (TROCHET, DELUEN et al. 2019). Finally, in terms of thermal preferences with a negative relationship between thermal preferences and elevation in low-elevation individuals and a positive relationship in high-elevation ones (TROCHET, DUPOUE et al. 2018).

2.3.2 Sampling sites and newt maintenance in laboratory

We sampled six riverine populations from six independent streams within the French Pyrenees that span along an elevational gradient ranging from 550 to 2189 m a.s.l. during summer 2019. Localizations and sampling dates for the six streams are provided in Table 2.1. Slope (which greatly determines streamflow in rivers, and thus the microhabitat experienced by the brook newt) varied among the sampling streams from 9.8% to 75.1%. Every sampled stream had continuous streamflow over the year. Two populations were sampled in a dense forest

environment (Fougax, Belesta), three populations in an open field (Orlu, Gavarnie, and Néouvielle), and one population in a low-density forest stand (Aulus). Mean annual air temperatures varied among the sampling streams from 10.4 °C to 11.4 °C for low elevation sites and from 0.5 °C to 6.7 °C for high elevation sites, on average over the 1981–2010 period (Figure 2.1; KARGER et al. 2017). Annual snow duration varied among the sampling sites from 26 to 41 days for low elevation streams and from 106 to 178 days for high elevation streams, on average over the 2000–2010 period (GASCOIN et al. 2015). We sampled twenty adults per site by hand found by a visual survey. A total of 120 individuals were sampled with a near-balanced sex ratio (54 females and 66 males; Table 2.1). Non-gravid females were selected to avoid any influence of the reproductive state on respirometry measurements (FINKLER 2006). Individuals were then housed at the laboratory (436 m a.s.l., Moulis, Ariège, France). All individuals were PIT-Tagged for further identification (BIOLOG-ID, France; accreditation of animal experimentation n°A09-1), following the protocol described in LE CHEVALIER et al. 2017. Newts from each population were all housed in a single aquarium of 80 × 35 × 40 cm, at a water temperature of 15 °C ± 2 °C (SILVESTRE 2011) and exposed to a natural photoperiod. For each population, the test period began at least 3 days after capture (mean ± SD : 7 ± 2 days) and lasted 4 weeks on average (± 1 week SD; Table ??). Newts were fed *ad libitum* with *Tubifex sp.* live worms throughout the experiment. However, because digestion may influence physiology in ectotherms (R. B. HUEY 1982; GVOZDIK 2003), feeding was halted 48 h before testing bouts. Each animal was weighed with a digital balance (± 0.1 g) before experiments (Table 2.1). All newts were released at their respective capture sites between 2 and 6 days after their last test (i.e. total mean time of captivity ± SD : 7 ± 1 weeks).

2.3.3 Physiological response

We measured individual oxygen consumption rate as a proxy for SMR across a range of temperature experienced by *C. asper* in its natural environment during the year (i.e. 5 °C ± 1 – 25 °C ± 1). All individuals from each population were tested at three different temperatures (Table 2.2) : one cool test temperature (from 5 °C to 13 °C), one warm test temperature (from 17 °C to 25 °C), and one control temperature (15 °C). To complete the experiment within the three-month activity period and to limit stress on the animals, each population of twenty individuals was divided into five groups of four individuals, and each group of four was tested at different cool and warm test temperatures to cover the entire thermal gradient (Table 2.2). To limit potential confounding effects between temperature *per se* and the order (timing) of tests, we alternated order for all populations between cold, control, and hot temperatures presented in Table 2.2. We let individuals rest for at least one day (mean ± SD : 2.4 ± 1.4 days) between tests.

TABLE 2.2 – Experimental protocol for the metabolic measurements. The table shows, for one population, the different exposure of individuals in every test and control water temperature. The same design was applied for each of the 6 populations, in two sessions separated by three weeks.

Individual ID	Cold test temperatures (°C)		Control temperature (°C)		Hot test temperatures (°C)	
	Target temperature	Effective mean temperature	Target temperature	Effective mean temperature	Target temperature	Effective mean temperature
N1-N4	5	5.7 ± 1			17	17.4 ± 0.6
N5-N8	7	7.5 ± 0.9			19	19.5 ± 0.5
N9-N12	9	9.7 ± 0.9	15	15.5 ± 1	21	21.0 ± 0.8
N13-N16	11	11.7 ± 0.8			23	23.0 ± 0.5
N17-N20	13	13.4 ± 0.7			25	25.8 ± 0.7

Individuals were isolated in a 0.55 L airtight plastic transparent box filled with dechlorinated water (GUILLAUME et al. 2020). To avoid a thermal shock, we gently acclimatized the newts by increasing or decreasing the captivity water temperature (15 °C) to the test water temperature over a 1-h period. After this 1-h acclimatization, the water oxygen concentration was measured every minute for 2 h using FireSting fiber-optical oxygen meters (PyroScience GmbH, Aachen, Germany). An individual measure of oxygen consumption during these 2 h (hereafter SMR in ppm) corresponding to the individual loss in oxygen concentration was calculated by subtracting water oxygen concentration at the end of the experiment to water oxygen concentration at the beginning of the experiment. All tests were performed during the day at fixed and constant hours (9 :00 and 14 :00). Moreover, all tests were repeated twice in two sessions separated by two weeks (mean ± SD : 14.5 ± 7 days).

2.3.4 Statistical analyses

To test if SMR (response variable) varied with effective mean temperature (Table 2.2), elevation, as well as their first to fourth order interactions (explanatory variables), we built a linear mixed-effects model (LMM, with a Gaussian error distribution ; see Figure ?? for verification of the model assumption) with sites of capture, individuals, and sessions as random intercept terms (to control for their potential effect in the estimation of the fixed effects). Because we sampled only 6 populations in a non-continuous elevational gradient, we chose to characterize elevation as a factor. According to the ecological and thermal behavioral differentiation between sites below and above 1300 m highlighted in TROCHET, DUPOUE et al.

2018, elevation of origin was categorized into two classes, with three populations (Fougax, Belesta, and Aulus, 550–1100 m a.s.l) assigned to a “*low elevation class*” and three populations (Orlu, Gavarnie, and Néouvielle, 1300–2189 m a.s.l) assigned to a “*high elevation class*”. Body mass and sex were included in the model as covariates. Newts’ mass and effective mean temperature variables (Table 2.1) were standardized to the mean so their respective effects can be compared in the model.

We started from a full model including all fixed and random effects with interactions between elevation and other variables (i.e. effective mean temperature, mass, and sex). To avoid having a model where one random variable has no effect on our results because all variability of the intercept is explained by other random variables (i.e. singular model), we first selected the random effect structure. The best random effect structure was identified by testing all the combinations of random factors and selecting the candidate model with the lowest Akaike Information Criterion with a correction for a small sample size (AICc). To compare AICc values among candidate models, we fitted all candidate LMMs using the restricted maximum likelihood parameter estimate (BATES, KLIEGL et al. 2018). To ensure robust estimations, all the singular fits (i. e. variances closed to zero) were removed from the list of candidate models before model selection. Second, we selected the fixed effect structure based on AICc, keeping the previously identified random structure constant. Third, we fitted a final LMM based on the fixed and random structure selected using the restricted maximum likelihood parameter estimate to ensure a robust estimate of coefficients (BATES, KLIEGL et al. 2018). In order to compute a robust estimate and test the significance of the direct effects in the selected model (e.g. LUKE 2017), we finally calculated the mean effect of each fixed variable and their respective 95% confidence intervals through a bootstrap approach (N = 5000 iterations). The significance of each variable was determined from the bootstrap distributions for the two alternative hypotheses of a mean coefficient estimate being higher or lower than zero.

To assess the goodness-of-fit of the models, we also computed the mean marginal (i.e. variance explained by the fixed effects) and conditional (i.e. variance explained by both the fixed and random effects) R² values, as well as their respective 95% confidence interval from the set of bootstrap iterations. All statistical analyzes were performed in the programming language R (version 3.6.2; TEAM 2019). To fit LMM and conduct bootstraps, we used the lme4 (BATES, MACHLER et al. 2014) and optimx R-packages (NASH et VARADHAN 2011) respectively. The MuMIn (BARTON 2019) and jtools R-packages (LONG 2019) were used to compute marginal and conditional R² values and to adjust into the same scale mass and effective mean temperature variables, respectively.

2.4 Results

Effective mean temperature, elevation, sex, mass, and their first order interactions were retained in the best model (Table 2.3, Table ??). Marginal and conditional R2 were equal to 0.447 [0.363; 0.529] and 0.558 [0.483; 0.629] respectively (mean [95% CI]). In other words, individuals, population, and session (the random terms) explained a lower proportion of variance in SMR (0.111) than did the effective mean temperature of the tests, elevation's origin of population, sex, and mass of individuals.

TABLE 2.3 – The effects of effective mean temperature, elevation, mass, and sex on *Calotriton asper*' SMR estimated through bootstrapped mixed-effects linear models (N = 5000). Every fixed effect has been tested through a one-sided test based on the bootstrap distributions of coefficients (null hypothesis : the effect is not higher or lower than 0). Significant effects are displayed in bold (P-value < 0.05).

Variable	Mean estimate	95% CI	P-value
Intercept	1.777	[1.626; 1.927]	< 0.0002
Mass	0.696	[0.500; 0.893]	< 0.0002
Temperature	0.485	[0.397; 0.573]	< 0.0002
Elevation class (Low)	-0.522	[-0.732; -0.308]	< 0.0002
Sex (Male)	-0.135	[-0.270; -0.002]	0.0232
Elevation class (Low) * Temperature	-0.111	[-0.223; 0.01]	0.0368
Elevation class (Low) * Sex (Male)	0.184	[-0.003; 0.375]	0.0274
Elevation class (Low) * Mass	-0.230	[-0.474; 0.015]	0.0318

The mass- and temperature-dependence of SMR varies predictably along the elevational gradient (Table 2.3). Specifically, the positive relationships between SMR and both test temperature and mass were steeper for individuals sampled at high elevation populations than for those sampled at low elevation (Figure 2.1), so newts from higher elevations exhibited greater temperature and mass dependencies of standard metabolic rate ($\beta_{\text{mass}} = 0.466$ and $\beta_{\text{t } ^\circ\text{C}} = 0.373$ for low elevation populations; $\beta_{\text{mass}} = 0.696$ and $\beta_{\text{t } ^\circ\text{C}} = 0.485$ for high elevation populations).

Individuals sampled at high elevations had on average a higher SMR than those sampled at low elevation populations (mean [95% CI] : +0.522 ppm [0.732; 0.308]; Table 2.3). However,

this effect depends on the sex of individuals, as highlighted by the significant interaction term between elevation and sex (Table 2.3) : the increase in oxygen consumption from low to high elevations was steeper in females than in males (Figure 2.2).

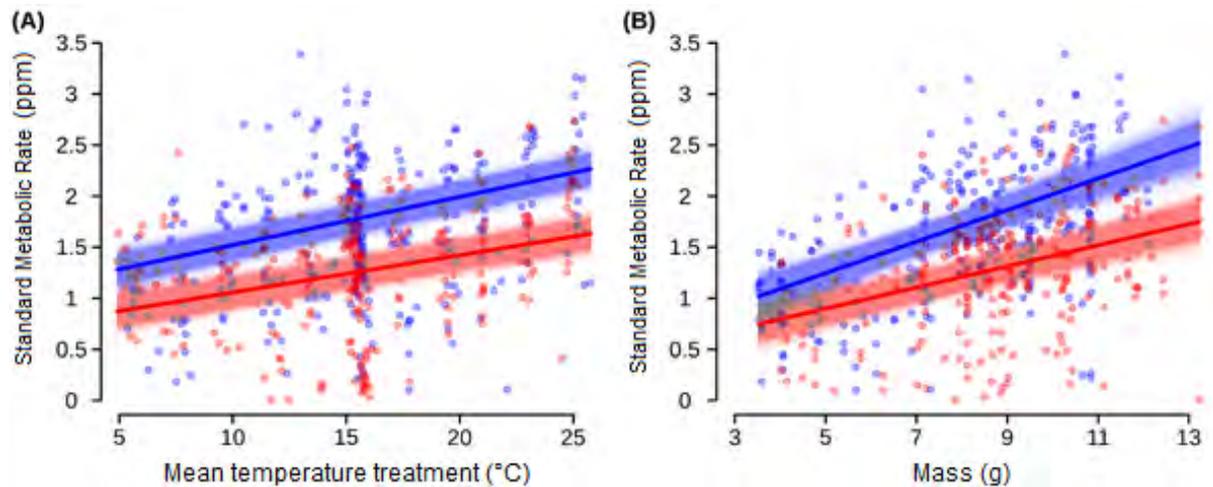


FIGURE 2.1 – SMR of individual brook newts (*C. asper*) from low (red) and high (blue) elevation populations dependent on (A) effective mean water temperature treatment and (B) mass. Points are individual observations and lines display the relationships fitted through the linear mixed-effects model presented in Table 2.3 (dark color = average model, light color = individual bootstrap models) for females only with a mean individual mass of 8.35 g (A) and with a total mean temperature treatment of 15.35 °C (B).

2.5 Discussion

Pyrenean brook newts from higher-elevation populations exhibit higher mass-specific metabolic rates across a range of biologically relevant temperatures compared to conspecifics from lower elevations. This corroborates the metabolic cold adaptation hypothesis (MCA) which predicts a higher metabolic rate in individuals from cold environments (i.e high elevation) than individuals from warmer environments when measured at similar ambient temperatures (KREIMAN et al. 2019). In fact, having a higher metabolic rate in cold environments may be advantageous for ectotherms by allowing them to be active at lower temperatures and thus compensate for a shorter warm period (CLERGUE GAZEAU 1983; GASTON et al. 2009). Finally, a higher SMR allows organisms to achieve development, growth, and reproduction at temperatures that would otherwise be sub-optimal, especially where the life cycle of the species is highly seasonal as in *Calotriton asper* (CLERGUE GAZEAU 1983; LARDIES, BACIGALUPE et BOZINOVIC 2004; TERBLANCHE et al. 2009; SCHAEFER et A. WALTERS 2010).

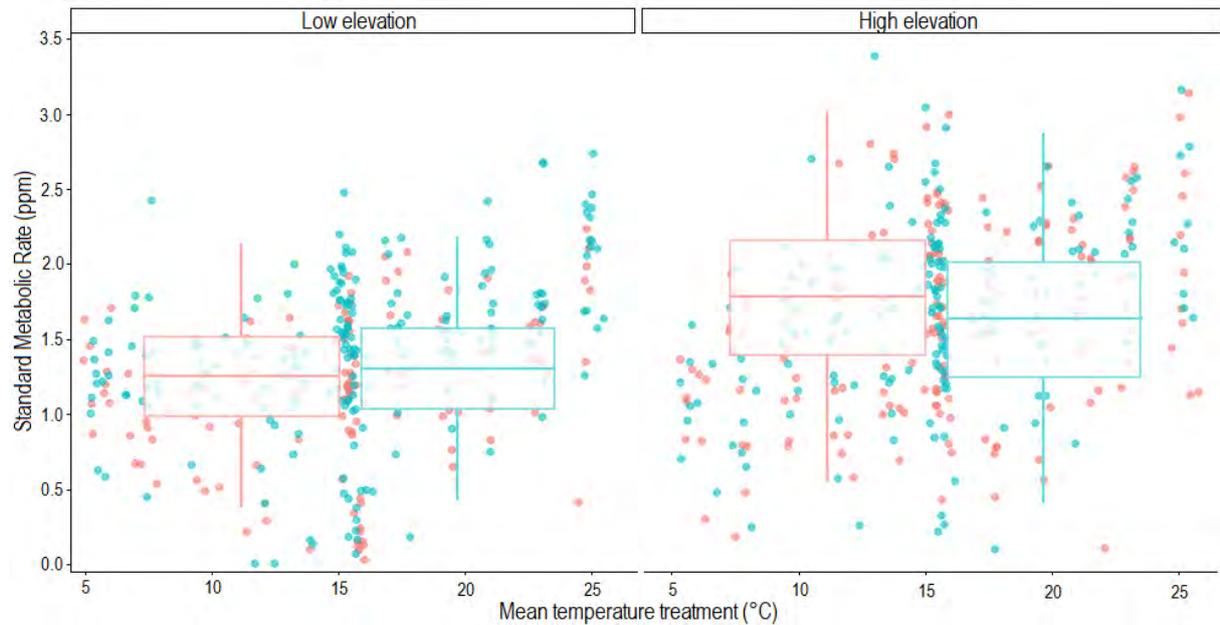


FIGURE 2.2 – Temperature dependence of SMR for female (red) and male (blue) brook newts (*C. asper*) sampled in low (left) and high (right) elevation populations. Points are observations. Boxes display the linear mixed-effects model intercept presented in Table 2.3 and calculated from 5000 bootstrap iterations, independent of the mean temperature treatment axis.

Our results showed a steeper increase in SMR in females than in males from low to high elevation populations. This is surprising as males are known to have a higher SMR than females, which has been hypothesized to have a strategy to provide enough energy for spermatogenesis, mate searching, or amplexus and compensate the male-male competition (RYAN et William A. HOPKINS 2000; FINKLER et CULLUM 2002; FINKLER 2006). In our case, we speculate that a higher metabolic allocation to baseline functionality in females could be a response to a shorter favorable thermal period in cold environments to ensure reproduction. Reproduction in females is known to drive a large proportion of the energy budget so oogenesis will be more efficient in an extreme environment to maintain total reproductive output (ORRELL et KUNZ 2016). As a consequence, a greater amount of energy is likely required in females to prepare the egg production and laying in the short time available at high elevation.

As expected, our results highlight an increase in SMR as the temperature increases (WHITFORD 1973; FINKLER 2006; GANGLOFF et TELEMECO 2018), which confirms that this general rule also holds for the endemic Pyrenean brook newt (*Calotriton asper*). This increase in SMR reflects a rise in metabolic activity that can be advantageous in the short term for ectotherms, leading to a faster growth rate or a longer activity period (ZAGAR et al. 2015). But, prolonged exposure to high temperatures can lead to a loss of performance in different crucial life activities such as locomotion, foraging, or thermoregulation (DEUTSCH et al. 2008; ZAGAR et al. 2015). This loss of performance can be explained by the oxygen- and capacity-limited thermal

tolerances (OCLTT) hypothesis which explains that the respiratory system is not able to provide the oxygen needed to meet demand at high temperatures (PORTNER 2002; PORTNER, BOCK et MARK 2017). Chronic heat stress can even induce premature aging in individuals with negative effects on adult fitness and survival, and impact the sustainability of populations (BESTION et al. 2015; DUPOUE, RUTSCHMANN et al. 2017). In the long term, adaptive responses to high temperatures must be put in place to avoid the inefficiency of subcellular processes, mismatch of oxygen supply and demand, or potentially death.

Moreover, our results showed a significant interaction between temperature and elevation that highlights greater temperature-dependence of SMR in individuals from high elevation. This higher sensitivity in cold environments has already been demonstrated in previous studies in salamanders with a differential effect of temperature on the growth rate, heart rate, and activity in individuals from different thermal environments (CATENAZZI 2016; CARUSO et RISSLER 2019). These environmental-dependant characteristics could be the result of an evolutionary legacy, including potentially adaptive responses acquired by natural selection, and could affect the response of individuals to climate change (UUSI-HEIKKILÄ et al. 2015; BODENSTEINER et al. 2021).

In a global warming context with a rapid increase of temperatures at high elevations, a higher SMR across the experienced temperature range will make high-elevation individuals suffer from increased energetic demands, which could affect energetic allocation to other aspects of life history as growth, reproductive, or immune functions (WEERATHUNGA et RAJAPAKSA 2020). While MCA mechanism may have been adaptive in a past context, it could now compromise the sustainability of populations at high elevation. In this situation, the low dispersal ability and gene flow of *C. asper* (MILA et al. 2009; LUCATI, POIGNET et al. 2020); the intraspecific variation observed in different traits (morphological, ecological, and behavioral; see GASSER et CLERGUE GAZEAU 1981; SERRA-COBO, UIBLEIN et MARTINEZ-RICA 2000; TROCHET, DUPOUE et al. 2018; TROCHET, DELUEN et al. 2019) or the possibility for plastic response in metabolic rate that was recently reported in surface populations of *C. asper* (GUILLAUME et al. 2020) would condition the response of this endemic species to climate change. The diversity observed in our study in metabolic strategies may be of prime importance for this species for coping with future environmental change as it may provide the basis for future adaptation.

Authors contributions

Marine Deluen : Conceptualization, Methodology, Software, Formal analysis, Investigation, Resources, Writing – Original Draft. **Simon Blanchet** : Conceptualization, Validation,

Writing – Original Draft, Funding acquisition, Supervision, Project administration. **Fabien Aubret** : Conceptualization, Validation, Writing – Original Draft, Funding acquisition, Supervision, Project administration. **Audrey Trochet** : Conceptualization, Validation, Resources, Writing – Review & Editing, Funding acquisition. **Eric J. Gangloff** : Writing – Review & Editing. **Olivier Guillaume** : Methodology, Writing – Review & Editing. **Hugo Le Chevalier** : Resources, Writing – Review & Editing. **Olivier Calvez** : Resources. **Clémentine Carle** : Resources, Investigation, Writing – Review & Editing. **Léa Genty** : Resources, Investigation. **Gaëtan Arrondeau** : Resources, Investigation. **Lucas Cazalé** : Resources, Investigation. **Laura Kouyoumdjian** : Writing – Review & Editing. **Alexandre Ribéron** : Writing – Review & Editing, Funding acquisition. **Romain Bertrand** : Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Validation, Writing – Original Draft, Funding acquisition, Supervision, Project administration.

Ethics

Our work complies with the international animal care guidelines of the Association for the Study of Animal Behaviour, and all required French (permit no. 2017-s-02) permits relating to authorization of capture, marking, transport, detention, use, and release of protected amphibian species; and animal experimentation (accreditation n °A09-1) were been obtained.

Declaration of competing interest

We declare no competing financial interest.

Acknowledgments

This work was supported by the French Laboratory of Excellence project “TULIP”, the National Agency of Research project “ISOLAPOP” (ANR-18-CE03-0011), the INTERREG POCTEFA ECTOPYR (no. EFA031/15), and the European Union’s Horizon 2020 research and innovation program under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 752299. We are grateful to the “Parc National des Pyrénées”, the “RNN du Néouvielle”, the “Réserve Nationale de Chasse et de Faune Sauvage d’Orlu” and the region Occitanie for allowing us to sample animals.

CHAPITRE 3

TRUITE ET PRÉDATION IN SITU



Development of a quantitative degraded DNA tool for monitoring the distribution and fish predation of an endemic amphibian (*Calotriton asper*) in the wild

IN PREP

Marine DELUEN, Fabien AUBRET, Romain BERTRAND, Simon BLANCHET, Olivier CALVEZ, Claudine DELMAS, Vincent DUBUT, Hugo LE CHEVALIER, Géraldine LOOT, Jean MURATET, Gilles POTTIER, Alexandre RIBERON, Sylvain ROLLET, Audrey TROCHET, Alice VALENTINI, Charlotte VAYSSIERE

3.1 Abstract

Gathering ecological knowledge about cryptic species is often a challenge depending on human, financial or logistical resources. Yet, this is essential for the conservation of threatened species and wildlife management. The use of DNA tools has thus emerged some years ago as an efficient solution to overcome these constraints. Here, we developed specific primers and ddPCR protocol for the detection of the endemic and vulnerable *Calotriton asper* in water and fish feces. Our results first highlighted the presence of *C. asper* in 6 among 13 sites highly suitable in terms of climatic conditions while the species was not observed yet. Then, we showed that brown trouts (*Salmo trutta*) are a significant predator of *C. asper*. These two complementary objectives can be fulfilled thanks to the non- or low-invasive DNA tool. It permits efficient monitoring of cryptic species like *C. asper* in order to characterize their habitat use in response to global change and manage conservation plans more suitable to anthropogenic threats.

3.2 Introduction

Information on the spatial and temporal distribution of species and the dynamic of populations are central for ecologists, conservationists, and evolutionary biologists (LEVIN 1992). However, active prospection by the mean of direct observations in the wild is not always efficient, especially for species with cryptic behavior, living in difficult-to-access habitats, or observable only under specific conditions (temperature, nycthemeral rhythm, pluviometry, etc). In the last decade, novel techniques were developed to solve these problems, notably by using the DNA extracted from different matrices (water, feces, or urine for example (RUPPERT, KLINE et RAHMAN 2019)). This ensemble of approaches is more generally referred to as environmen-

tal DNA (hereafter eDNA) and consists of the detection of free degraded sequences of DNA in environmental samples. Amongst others, these approaches have been successfully applied for (i) informing the distribution range of endangered or non-native species (FICETOLA, MIAUD et al. 2008; SECONDI et al. 2016), (ii) evaluating the sanitary status of populations by detecting diseases or parasites (BYRNE et al. 2017; DUVAL et al. 2021), or (iii) describing trophic relationships through the characterization of animals' diet (BIFFI et al. 2017; MONTERROSO et al. 2019).

eDNA is often used to inform the spatial distribution of species of conservation interest, mostly in aquatic environments (reviewed in FICETOLA, MANENTI et TABERLET 2019). Species detection by eDNA methods has been found to be at least as sensitive as traditional field surveys (sometimes even more sensitive) in many different species and ecosystems, not to mention the economy of time and human resources (DEJEAN et al. 2012; BIGGS et al. 2015; LARAMIE, PILLIOD et GOLDBERG 2015). Another strength of eDNA is that they allow informing – non-lethally – trophic interactions among species. This constitutes an important application of eDNA methods for conservation, especially in the case of introduced predators that may harm populations of naive native prey that have not evolved strategies to escape novel predators (SALO et al. 2007). For instance, brown trout (*Salmo trutta*) – a predatory fish that has been introduced in many countries worldwide (RAHEL 2007; LOBON-CERVIA et SANZ 2018) – has been associated with the collapse of many native prey populations (MCINTOSH, MCHUGH et P. BUDY 2011; Phaedra BUDY et GAETA 2017). Although brown trout is naturally present in European rivers, it has been introduced in many mountain lakes and streams (MIRO et VENTURA 2013), which has impacted these ecosystems, and more particularly the population dynamics of native amphibian species through predation on larvae or adults (MIRO, SABAS et VENTURA 2018). However, this information remains elusive because it is notoriously difficult to non-invasively monitor the diet of predatory fish (ANDO et al. 2020). A noninvasive and promising approach may be to identify prey items from the DNA contained in the feces of these predators (hereafter fDNA). Most studies that have used fDNA have characterized the entire diet of a target predator, but very few of them have investigated if a target species is eaten by some potential predators (ANDO et al. 2020). Yet, this approach could permit a higher precision and detectability in quantifying the predation on native and/or endangered species, providing an efficient and simpler tool than metabarcoding to conservation managers for preservation purposes.

The Pyrenean brook newt (*Calotriton asper*, Dugès, 1852) is an endemic urodel species from the Pyrenean mountain chain and is found in fresh, well-oxygenated surface or subterranean waters ranging from 100 to 2400 m a.s.l (POTTIER et al. 2021). Like most amphibian species, *C. asper* is affected by several threats that alter its population dynamics and its dis-

tribution range (POUS et al. 2016; DALIBARD et al. 2020). As a result, it is classified as vulnerable species in the national Red List of amphibians of metropolitan France (FRANCE, MNHN et SHF 2015). Although the regional distribution of the species at the Pyrenean scale is relatively well informed, many potential relictual or remote populations have not been inventoried because of the cryptic behavior of *C. asper*, and/or the difficulty of accessing some areas (POTTIER et al. 2021). Indeed, the prospection of *C. asper* can be difficult because it is done either by night on sight or during the day by hand directly in the stream, searching for animals under the rocks by touching and dislodging them. Because of the cryptic behavior of *C. asper*, animals may remain untraceable despite a major sampling effort. Getting new insights on the precise localization of these relictual/remote populations is important as they may serve as source populations and strengthen the resilience and the long-term persistence of *C. asper* metapopulations (LUCATI, POIGNET et al. 2020). Monitoring range margins, in particular, is also important as they are expected to provide the first evidence of the impacts of global change on the species' suitability through colonization and extirpation when the environment shifts towards favorable and unfavorable conditions, respectively (J. LENOIR et SVENNING 2015). Moreover, there is a general belief that some *C. asper* populations (notably those living in mountain lakes colonized and their inlet and outlet creeks) may have suffered from the direct predation by introduced trout, but this has – up to our knowledge – rarely if ever been quantified (MONTORI 1997). Actual information on the potential predation of *C. asper* by brown trout is therefore required to determine whether this can be a factor having contributed (or not) to the decrease in population size of some populations and if yes to set management actions taking into account these interactions between *S. trutta* and *C. asper*. Thus, conservation management of *C. asper* would greatly benefit from eDNA approaches, both for improving knowledge on the spatial distribution of *C. asper* and its vulnerability to introduced predators.

In this study, we developed and tested the suitability of a specific genetic barcode for the detection of *C. asper* in biological tissues and its environment. We first assessed the specificity and sensitivity of the genetic barcode to detect *C. asper*. We then used this new genetic resource to (i) prospect *C. asper* in sites in which it is likely to occur (although its presence has never been confirmed) through detection of its DNA in water samples (eDNA) and compared observations to the outputs of an existing species distribution model (SDM) that assesses the habitat suitability for *C. asper*, and (ii) evaluate whether *S. trutta* predated on *C. asper* in sympatric sites through the detection of *C. asper*'s DNA in the fresh feces of trout (fDNA). In this second experiment, we predicted a higher predation rate on newt larvae than on adults, so we, therefore, performed one sampling session on trout's feces before and one after the reproduction period of *C. asper*. We foresaw detecting newt DNA more in feces from the post-reproduction sampling than from the pre-reproduction sampling.

3.3 Material and methods

3.3.1 *C. asper*'s detection using water eDNA

Design of *C. asper*'s primers

Species-specific primers and a probe were designed for the amplification of a short DNA fragment of 80 bp of the 12S MtDNA region. For the design, the 12S sequence for all the french (native and non-native) metropolitan amphibians species were retrieved from GenBank®. The PrimerQuest program (IDT, Coralville, USA) was used to design the primers and probes (Table 3.1).

TABLE 3.1 – Nucleic acid sequences of *C. asper*'s primers and probes used in our study.

Forward primer 5'-3'	CCCTCTAAGGGCCCAAC
Reverse primer 5'-3'	AGCTTTTCCGTGTTTTCTAGGT
Probe 5'-3'	FAM-TCAGGTCAAGGTGTAGCAAATAAGATGGGA-BHQ-1

Test in silico of *C. asper*'s primers

Primer specificity was tested in silico using the ecoPCR program (BELLEMAIN et al. 2010; FICETOLA, COISSAC et al. 2010) on the EMBL-ENA release 127, allowing three mismatches per primer. Then, the primers were validated using real-time qPCR on two DNA samples from *Calotriton asper*. The real-time qPCR was carried out using a final volume of 25 µL, containing 3 µL of template DNA, 12.5 µL of TaqMan Environmental Master Mix 2.0 (Life Technologies), 6.5 µL of ddH₂O, 1 µL of forward primer (10 µM), 1 µL of reverse primer (10 µM), and 1 µL of probe (2.5 µM) using thermal cycling at 50 °C for 5 min and 95 °C for 10 min, followed by 50 cycles at 95 °C for 30 s and 55 °C for 1 min. To test the sensitivity of primer and probes, the limit of detection (LOD, i.e., the minimum amount of target DNA sequence that can be detected in the sample) and the limit of quantification (LOQ, i.e., the lowest amount of target DNA that yields an acceptable level of precision and accuracy) were calculated by running a dilution series of a known amount of DNA extracted from a tissues sample, ranging from 0.1 ng/µL to 10-10 ng/µL with 12 qPCR replicates per concentration below 10⁻³ ng/µL. LOD and LOQ were calculated using the method proposed in KLYMUS et al. 2020.

We made sure of the specificity of primers to detect the presence of *C. asper* only by Polymerase Chain Reaction (hereafter PCR) with tissue extracted DNA from two other urodel species present in the Pyrenees : the fire salamander (*Salamandra salamandra*) and the palmate newt (*Lissotriton helveticus*).

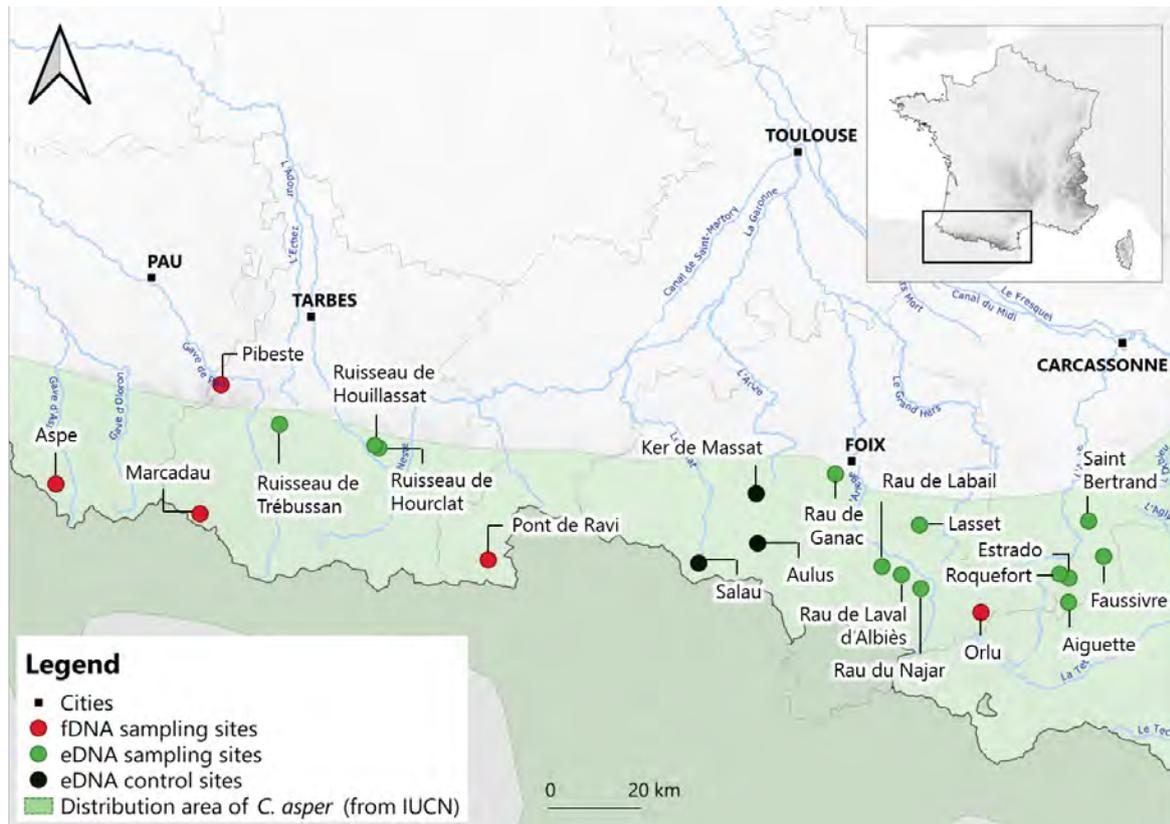


FIGURE 3.1 – Localization of eDNA control sites, eDNA sampling sites, and fDNA sampling sites within the IUCN distribution of *C. asper*. The sites considered at the margin of the IUCN area are those located less than 10km from the edge : Ruisseau de Trébussan, Ruisseau de Houillassat, Ruisseau de Hourclat, Rau de Ganac, Lasset, and Saint Bertrand.

In situ control test

In order to test the ability of the developed primers to detect *C. asper*, we conducted an eDNA survey on three control sites for which the occurrence and abundance of *C. asper* were estimated by expert-driven knowledge (Figure 3.1, Table 3.2). The water was pumped using a peristaltic pump (Vampir sampler, Burkle®) for 30 min with a flow rate of about 1 L/min through disposable sterile tubing and directly filtered through a cross-flow filtration capsule (VigiDNA 0.45 µm, SPYGEN). At the end of each filtration, the water in the capsule was drained, and the capsule was refilled with 80 mL of conservation buffer CL1 (SPYGEN) to prevent eDNA degradation and the filter was stored at room temperature before the DNA extraction.

The DNA extraction was performed following the protocol described in PONT et al. 2018. The real-time amplification was carried out following the protocol described in the in silico section with 12 qPCR replicates per sample. To detect potential contamination, one DNA extraction control and a qPCR negative control (with 12 replicates) were performed in parallel.

A dilution series of DNA ranging from 0.1 ng/ μ L to 10⁻⁴ ng/ μ L was used as the qPCR standard. Samples were run on a BIO-RAD CFX96 Touch real-time PCR detection system in a room dedicated to amplified DNA analysis with negative air pressure and physically separated from the DNA extraction room.

Prospection sites

We then conducted an eDNA survey by targeting further sites for which the occurrence of *C. asper* was unknown. For this survey, we used a filtration protocol similar to the one described above except that we did two filtrations instead of three and used a thinner capsule (0.2 μ m) to optimize yields (PONT et al. 2018). We focused on 13 independent streams within the French Pyrenees during the summers of 2018 and 2019 (Figure 3.1, Table 3.2). These sites were chosen because of (i) the absence of information on the presence of *C. asper* while environmental conditions appeared suitable for the species and (ii) their difficulty of access for a good prospecting and detection of the species along the stream.

Comparison of habitat suitability

As eDNA sampling was conducted on prospective sites where *C. asper* is expected to occur but without any confirmation of the species' presence from experts, we decided to confront the eDNA results to the outputs of an existing species distribution model (hereafter SDM) for *C. asper* that assessed habitat suitability (Pottier et al. 2021). We assumed that the SDM computes higher habitat suitability in sites where *C. asper* has been detected by eDNA because it takes into account only climatic variables but not other variables that can induce the absence of *C. asper* (dispersal barrier, biotic interaction, etc).

A generalized linear model (GLM; GUISAN, EDWARDS JR. et HASTIE 2002) with binomial likelihoods were used to model the climatic dependence of the presence/absence of *C. asper*. We fitted the SDM as follows : $g(\text{Presence/Absence}) = \alpha + \beta_1 T_{nosnow} + \beta_2 T_{nosnow}^2 + \beta_3 \text{Tamp}_{nosow} + \beta_4 \text{Tamp}_{nosow}^2 + \beta_5 P_{nosnow} + \beta_6 P_{nosnow}^2 + \epsilon$, where g is the logistic link function, α and β the fitted parameters of the model, ϵ are the residuals, T_{nosnow} , Tamp_{nosow} and P_{nosnow} are the mean annual temperatures, the annual amplitude of temperatures and the annual accumulated rainfall, respectively, over the period without snow cover. The model was calibrated using a set of 1668 presence and absence extracted from the Global Biodiversity Information Facility (GBIF) and the French Herpetology Society databases. Temperatures and precipitation were extracted from the CHELSA data over the 1979-2013 period (KARGER et al. 2017), and the snow duration was derived from the MODIS sensor (GASCOIN et al. 2015). Climate explained 53.2% of the distribution of *C. asper* in the SDM. We tested its predictive performance by computing AUC-ROC through a cross-validation approach. AUC-ROC

TABLE 3.2 – Characteristics of the 3 control sites and 13 prospection sites where eDNA water samples were collected.

Site's type	Sites' name	Streams	Longitude WGS84	Latitude WGS84	Date of sampling
Control sites	Ker de Massat	Arac	1.33690	42.89627	June 02, 2017
	Aulus	Ruisseau de Ribaut	1.34367	42.79425	June 22, 2017
	Salau	Pouil	1.158638	42.738080	July 11, 2017
Prospection sites	Col de Jau	Aiguette	2.20689	42.68280	June 18, 2019
	Ruisseau de Roquefort	Roquefort	2.18145	42.74090	June 18, 2019
	Estrado	Estrado	2.20752	42.73270	June 18, 2019
	St Bertrand	Saint Bertrand	2.26022	42.85000	June 13, 2019
	Faussivre	Faussivre	2.30284	42.77780	June 12, 2019
	RNR Montségur	Lasset	1.79120	42.83781	July 11, 2019
	Ruisseau de Ganac	Rau de Ganac	1.55568	42.93997	July 12, 2019
	Bois d'Albiès	Rau de Laval d'Albiès	1.68948	42.75146	July 17, 2019
	Vallée de Savignac	Rau du Najar	1.79767	42.70740	July 18, 2019
	Vallée de Luzenac	Rau de Labail	1.74352	42.73522	July 18, 2019
	Vallée du Neez	Ruisseau de Trébussan	0.00690	43.00961	August 14, 2018
	Vallée de Campan	Ruisseau de Houillassat	0.28533	42.96863	August 30, 2018
	Vallée de Campan	Ruisseau de Hourclat	0.27347	42.97393	August 30, 2018

values range from 0.5 when the model predictions are random, to 1 when the model perfectly disentangles species presence and absence in predictions. With an AUC value equal to 0.93, the SDM is considered an excellent model.

3.3.2 *C. asper's* detection using fDNA from *S. trutta*

Design of *S. trutta's* primers

In order to validate our protocol, we included trout primers in ddPCR. We used the nucleic acid sequences of primers and probes used in CAPO et al. 2020 described in Table 3.3.

TABLE 3.3 – Nucleic acid sequences of primers and probes used in CAPO et al. 2020

Forward primer 5'-3'	Reverse primer 5'-3'	Probe 5'-3'	bp
		HEX-	155
cytB_St1F /1R/pb	TCCCAGCACCATCTAACATCTCA ATCTCGGCAAATGTGGCAAACA	AGGCTTATGTCTAGCCACCCAAATTCTT- BHQ2	

TABLE 3.4 – Characteristics of the 5 fishing sites where fDNA trout samples were collected.

Fishing sites	Streams	Longitude (WGS84)	Latitude (WGS84)	Date of sampling	Number of feces
Pibeste	Génie Longue	-0.16029	43.08635	June 24, 2019	40
				September 13, 2019	25
Pont de Ravi	Lis	0.59865	42.74621	August 03, 2020	28
				September 01, 2020	22
Orlu	Oriège	1.96508	42.66018	July 21, 2020	23
				September 29, 2020	28
Aspe	Bélonce	-0.60702	42.86822	July 22, 2019	47
				September 19, 2019	35
Marcadau	Port Marcadau	-0.20388	42.81998	23/07/2020	30
				16/09/2020	30

Studied sites and trout feces sampling

We selected five independent streams within the French Pyrenees (Figure 3.1) according to the following criteria : (i) sites should present a sufficient abundance of both species living in sympatry and (ii) be accessible for electrofishing. Using a portable electrofishing device (Smith & Root®), we sampled a minimum of twenty sub-adult (1+ and 2+) and adult (~3+ and above) trouts (mean fork length \pm sd : 156 ± 31 mm) per site twice (before and after the reproduction period of *C. asper*) during the summers of 2019 or 2020 (depending on the site; Table 3.4).

We anesthetized each trout using a bath of clove oil (eugenol), according to the protocol recommended in CHANSEAU et al. 2002. We measured each of them to the nearest mm (fork length), and their feces were collected by gently pressing the abdomen from the pelvic fin to the cloaca and gathering the feces using sterile tweezers. Feces were stored individually in 1.5 mL Eppendorf® tubes filled with 70% ethanol. Trouts were released alive at the site where they were caught.

fDNA samples analysis

The DNA from each feces was extracted using the DNeasy PowerSoil Kit and following manufacturer protocol (Qiagen®, USA). The droplet digital PCR (hereafter ddPCR) assays were performed using primers and probes of both species (probe HEX for *S. trutta* and probe FAM for *C. asper*). Each ddPCR reaction mixture contained 2,4 µL of fDNA extracted samples, 1,9 µL of each primer (10 µM), 0,5 µL of each probe (10 µM), and 11 µL of Bio-Rad Supermix for Probes (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) for a total volume of 22 µL. ddPCR reactions were performed in sealed 96-well plates including an initial denaturation at 95 °C for 10 min followed by 40 cycles of 30 s at 94 °C, and 60 s of annealing and extension at 60 °C. The amplicons were then subjected to a final 10-min extension at 98 °C and maintained at 4 °C for 30 min. Negative (i.e. pure water instead of DNA template) and positive (i.e. *C. asper*'s buccal swab extracted DNA) were included in each ddPCR assay. The results were then analyzed using Bio-Rad's QuantaSoft™ Analysis Pro version 1.0.596.

3.4 Results

3.4.1 Detection of *C. asper* through eDNA

In situ control tests

In our in silico test of primers and probe, we confirmed the amplification of *C. asper*'s DNA. It also amplifies the following species *Echinotriton chinhaiensis*, *Tylostotriton asperrimus*, and *Tylostotriton vietnamensis* but none of these three species are present in France. The LOQ in this study was 4e-5 ng/µL, and the LOD was 9.5e-06 ng/µL. The threshold cycles observed in the water sample were below the LOQ, and thus it was not possible to quantify the DNA retrieved. For this reason, we used the number of replicates amplified in a sample for relative quantification, rather than reporting the amount of eDNA detected quantitatively, as suggested in BIGGS et al. 2015.

The DNA of *C. asper* was detected in three out of the three water samples taken from Salau and Aulus Rivers, and in one out of the three water samples taken from the Ker de Massat River (Table 3.5, Figure 3.2). When looking closer at the number of positive replicates, we found that it was logically associated with the densities of *C. asper* estimated by expert-driven knowledge : 100% (36/36) of the PCR duplicates were positive in the Salau River (the site with the highest known abundance), 31% (11/36) of the PCR duplicates were positive in the Aulus River (the site with a medium known density), and 3% (1/36) of the PCR duplicates were positive in the Ker de Massat River (the site with the lowest known density).

TABLE 3.5 – Number of positive duplicates for each filtration of each eDNA prospection site. The positive detections of *C. asper*'s DNA are displayed in bold ($N \geq 1/12$). The climate suitability is predicted by SDM.

Site's type	Site's name	Streams	Number of positive duplicates per filter	Percentage of positive duplicates per site	Climate suitability
Control sites	Ker de Massat	Arac	0/12	3%	
			0/12		
			1/12		
	Aulus	Ruisseau de Ribaut	2/12	31%	
			6/12		
			3/12		
Salau	Pouil	12/12	100%		
		12/12			
		12/12			
Prospection sites	Col de Jau	Aiguette	1/12	21%	0.936
			4/12		
	Ruisseau de Roquefort	Roquefort	0/12	0%	0.968
			0/12		
	Estrado	Estrado	7/12	46%	0.975
			4/12		
	St Bertrand	Saint Bertrand	1/12	8%	0.801
			1/12		
	Faussivre	Faussivre	1/12	4%	0.913
			0/12		
	RNR Montségur	Lasset	0/12	0%	0.947
			0/12		
	Ruisseau de Ganac	Rau de Ganac	0/12	4%	0.758
			1/12		
	Bois d'Albiès	Rau de Laval d'Albiès	0/12	0%	0.927
			0/12		
Vallée de Savignac	Rau du Najar	7/12	63%	0.952	
		8/12			
Vallée de Luzenac	Rau de Labail	3/12	21%	0.96	
		2/12			
Vallée du Neez	Ruisseau de Trébussan	1/12	25%	0.963	
		5/12			
Vallée de Campan	Ruisseau de Houillassat	0/12	0%	0.953	
		0/12			
Vallée de Campan	Ruisseau de Hourclat	0/12	0%	0.956	
		0/12			

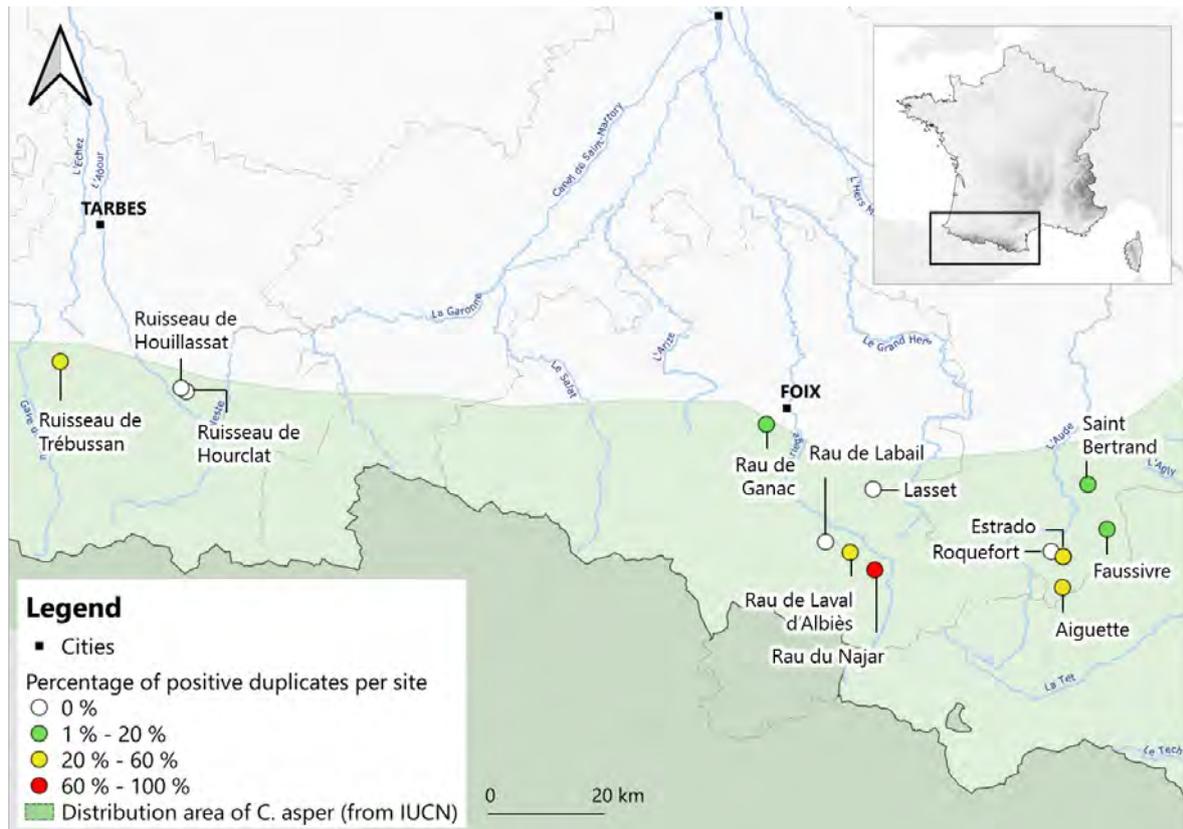


FIGURE 3.2 – Total number of positive duplicates for each eDNA prospection site (x/24).

eDNA in prospection sites and probability of occurrence

The DNA of *C. asper* was detected in two out of the two water samples taken from six sites; in one out of the two water samples taken from two sites; and in zero out of the two water samples taken from the last five sites (Table 3.5, Figure 3.2). When looking closer, we found between 8% (2/24) and 63% (15/24) of positive PCR duplicates for the six sites with DNA detection in all water samples.

The probability of occurrence of *C. asper* is predicted to be high on every prospection site, from 0.758 in Ruisseau de Ganac to 0.975 in Estrado, attesting to the climate suitability of the sites for *C. asper* (Table 3.5). We found no significant relationship between the probability of occurrence predicted by the SDM and the percentage of positive duplicates per site, despite a positive trend (LM : $F = 0.906$; slope = 0.09161 ; $P = 0.361$).

3.4.2 Detection of trout predation on *C. asper* through fDNA

DNA of *C. asper* was detected in four samples (Table 3.6) among three sites confirming the predation of *S. trutta* on *C. asper*. The concentration of newt DNA varied from 0.123 to 2.75 copies/ μ L depending on the amount of DNA (newt's size or number) or the integrity of

DNA (already degraded or preserved) ingested. Among these four positive samples, three were collected after the reproduction period of *C. asper* i.e. after the emergence of newts larvae.

TABLE 3.6 – Number of positive feces for each site. The positive detections of *C. asper*'s DNA are displayed in bold.

Sites	Number of positive feces	Concentration (copies / μ L)	Period of fishing	Fork length (mm)
Pibeste	0/53			
Pont de Ravi	0/74			
Orlu	1/51	0.174	Post-reproduction	210
Aspe	1/70	2.03	Post-reproduction	150
Marcadau	2/60	0.168	Pre-reproduction	175
		0.267	Post-reproduction	160

3.5 Discussion

In this study, the development and use of specific primers and ddPCR protocol for the Pyrenean brook newt permitted applications in two major conservation challenges : the characterization of its spatial distribution and the trophic interactions with an introduced predator. This innovative and minimally invasive method has been proven to be effective and opens the way to a wide field of applications (FICETOLA, MANENTI et TABERLET 2019). This validated method is now made available for the conservation managers in order to precise the knowledge and monitoring of *C. asper* and allows decision support about the preservation of its vulnerable and endemic species.

We first used *C. asper*'s primers to precise the distribution area by the localization of remote populations. *C. asper*'s DNA was not detected in every site and when it was, the percentage of positive duplicates differed. This variation can suggest different densities of populations between prospection sites, as for the control sites. In fact, the percentage of positive duplicates increased with the density population assessed by experts in control sites, demonstrating the high sensitivity of eDNA. According to the SDM's results, all our prospection sites presented a high probability of occurrence of the species, attesting to a favorable climatic niche. Nevertheless, there was no significant relationship between the climatic suitability and the percentage of detection of *C. asper*'s DNA. This result is consistent with how SDM is constructed whose aim is to include favorable climatic factors to the presence of the species and not its absence. Our sites are thus included in the climatic niche of *C. asper* that overestimates the real distribution of the species which is dependent on other biotic or abiotic factors and threats limiting the presence of *C. asper* (DALIBARD et al. 2020), as the presence of a competitor or predator species for instance.

We then used *C. asper*'s primers to confirm the predation of newts by *S. trutta*. *C. asper*'s DNA was detected in four among the 308 trout feces sampled, with three after the emergence of newt larvae. Although it is hard to conclude anything with such a low level of positive detection, it seems that the most likely prey is the larvae and not the adults. It can be explained by the size of larvae, easier to eat than adults, and/or the capacity of the newt to escape the trout which must be harder for larvae at the early stages given their limited locomotion skills. Although the 4/308 proportion of predation may appear to be low, it is not negligible when taking into account different parameters. The first factor to consider is the digestion time of trouts estimated at 24 hours (BRUCE, MOFFITT et DENNIS 2009). Besides, we realized only two fishings per site. It means that four trouts ate newts in two days. Some populations are known to have a high density of individuals (i.e > 20 individuals on a transect of 200 m) such as our control eDNA site Salau, which presented a percentage of positive duplicates of 100%. But most populations of *C. asper* have a low to critical density of individuals (POTTIER et al. 2021). A predation of this magnitude on these vulnerable populations could lead to their collapse and must therefore be taken into account for the conservation management of the species and the Pyrenean rivers, especially under a context of multiple potential environmental stresses such as global change (DALIBARD et al. 2020; POTTIER et al. 2021; DELUEN, BLANCHET et al. 2022).

Monitoring endangered species for their conservation can include different objectives and different methodologies. From the assessment of the species' presence in its distribution area and at its margin to the highlighting of its trophic interactions, the use of degraded DNA is a non-invasive and efficient method. It can constitute a support tool for conservation managers in the decision-making for the establishment of the protection status of an area or the regulation of species introduction. In an environment submitted to global change, the ease of sampling of degraded DNA, in particular eDNA, can constitute an advantage to quickly adjust our knowledge and conservation decisions for the sustainability of species.

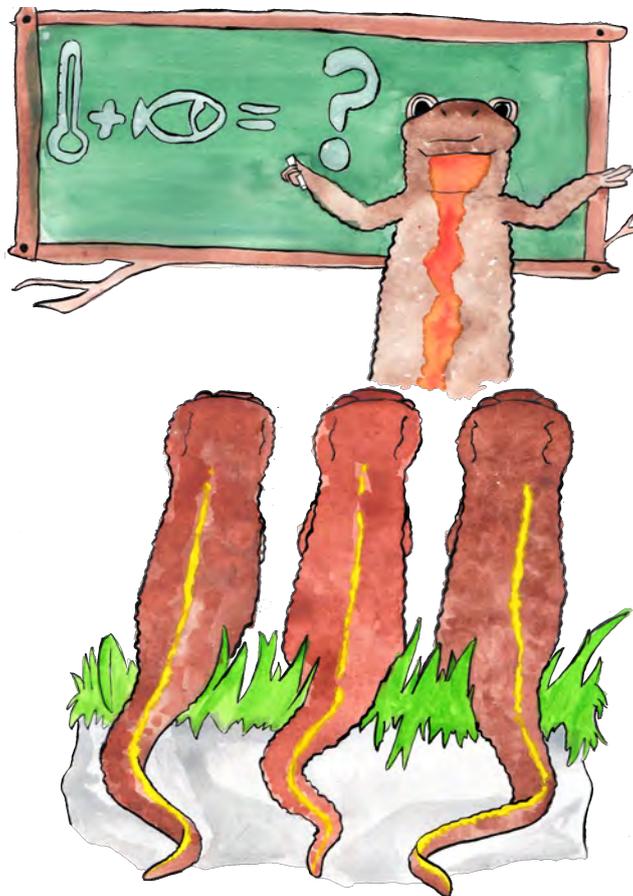
3.6 Acknowledgments

This work was supported by the French Laboratory of Excellence project "TULIP", the National Agency of Research project "ISOLAPOP" (ANR-18-CE03-0011), and the INTERREG POCTEFA ECTOPYR (no. EFA031/15). We are thankful to the « Office Français de la Biodiversité », the « Réserve de Chasse et de la Faune Sauvage d'Orlu », the « Observatoire de la Montagne », The « Réserve Naturelle Régionale du Massif du Pibeste-Aoulhet », the « Office National des Forêts », the « Association Agréée de Pêche et de Protection des Milieux Aquatiques de Luchon », and the « Réserve Naturelle Régionale de Montségur » for allowing us to access to the sites and sample animals. We thank all the interns students who participated to

the sampling : Manon Tissandier, Coline Viallat, Gaëtan Arrondeau, Lucas Cazale, Clémentine Carle, Ophélie Puissant, Bérénice Cariou, Thirsa Van der Veen, Noémie Kuczynski, Thomas Hakim. We are thankful to Nathalie Perthuisot, Amaya Iribar-Pelozuelo, and the Toulouse Genopole for the help for the genetic analyses.

CHAPITRE 4

IMPACT COMBINÉ POISSON - TEMPÉRATURE



Introduced predator and warming disrupt the metabolic rate of the Pyrenean brook newt

IN PREP

Marine DELUEN, Simon BLANCHET, Fabien AUBRET, Eric J. GANGLOFF, Hugo LE CHEVALIER, Audrey TROCHET, Olivier CALVEZ, Olivier GUILLAUME, Bérénice CARIOU, Noémie KUCZYNSKI, Ophélie RAT, Thirsa VAN DER VEEN, Thomas HAKIM, Alexandre RIBERON, Romain BERTRAND

4.1 Introduction

The Anthropocene is defined by the major influence of human activities and impacts environment and biodiversity on a global scale (STEFFEN et al. 2011). These global changes are mostly listed as the consequences of agriculture, hunting, forest industry, pollution, species introduction, and climate change (IPBES 2019). Although it is important to evaluate the impacts of each threat alone on different taxa and factors (behavior, phenology, life history, physiology, demography, etc), it is crucial to investigate the combined impacts of several components of global change on biodiversity (GJONI, BASSET et GLAZIER 2020; CARRIER-BELLEAU et al. 2021). Indeed, it is rare that organisms encounter only one threat in their environments and they may interact with each other (BEEBEE et GRIFFITHS 2005; BELLARD et al. 2014; HARFOOT et al. 2021). Nevertheless, studying combined effects can be complex because of the different responses they can cause (CARRIER-BELLEAU et al. 2021). Multiple stressors can thus be additive : their combined effect corresponds to the sum of each stressor. But more complex interactions can occur with a higher combined effect than the additive (i.e. synergistic effect) or a lower combined effect than the additive (i.e. antagonistic effect) (FOLT et al. 1999). In the context of global change, identifying multiple stressors interactions is particularly important to help in management decisions because of their impact on ecosystem responses.

As ectotherms, most physiological functions of amphibians are directly influenced by ambient temperatures (ANGILLETTA 2009). The actual global warming can have negative direct impacts on their body condition, growth rate, immunity, and fitness leading to an important loss of amphibians diversity and distribution shifts (STUART et al. 2004; ALFORD, BRADFIELD et RICHARDS 2007; READING 2007; Jonathan LENOIR et al. 2020; WEERATHUNGA et RAJAPAKSA 2020). Furthermore, the introduction of species has been well documented for its multiple potential impacts on amphibians populations by direct (i.e. predation and/or com-

petition) and indirect (i.e. behavioral alteration, habitat use shift) interactions (reviewed in BEEBEE et GRIFFITHS 2005). A major concern worldwide is the introduction of fish in aquatic environments for sport fishing. Several studies have documented the correlation between the presence of fish and the absence of amphibians (ORIZAOLA et BRANA 2006; HARTEL et al. 2007; MIRO, SABAS et VENTURA 2018; MILOCH et al. 2020), and even the recovery of amphibians populations after the eradication of fish (TIBERTI, BOGLIANI et al. 2018; MIRO, O'BRIEN et al. 2020).

Some studies were interested in climate change effects on predator-prey interactions. Warm temperatures can thus raise the predation rate in ectothermic predators or affect the behavioral response to predation risk in ectothermic prey (GRIGALTCHIK, WARD et SEEBACHER 2012; ALLAN et al. 2015; LAWS 2017). Some ectothermic prey can also benefit from warmer temperatures in the case of gape-limited predators with a higher growth rate : the preys are thus bigger earlier, limiting the predation (ANDERSON et al. 2001). All these morphological and behavioral traits studied are dependent on the physiologic capacities of organisms. A relevant trait to quantify the physiological impact of stressors on organisms is the « Standard Metabolic Rate » (SMR). It is defined as the minimum energy cost necessary to sustain life (CAREAU, KILLEN et METCALFE 2014) and can be quantified as the O₂ consumption of resting and unfed individuals, at a completed growth stage and during a non-reproductive period (HULBERT et ELSE 2004). It is subject to trade-offs and influences the energy available for locomotion (i.e., escape, foraging behavior), growth, or reproduction (CLARKE 1993). It also can vary according to several biotic characteristics such as size, age, sex, or ecological niches (J. H. BROWN et al. 2004). To our knowledge, few studies have investigated the combined impact of temperature and predator presence on prey's SMR but only on shellfish and none on amphibian. GJONI, BASSET et GLAZIER 2020 showed that temperature interferes significantly with predator cues to modify metabolic scaling of amphipods prey. Felipe A BRICENO et al. 2020 observed a « freezing » response of lobster to the presence of a predator with a decrease of their metabolic rate. But, at a higher temperature, this anti-predator response was not observed anymore. A global warming could thus strongly affect prey behavior and increase predation risk.

In this study, we aimed to estimate the combined impact of temperature and *Salmo trutta*'s presence on SMR of four populations of *Calotriton asper* : two populations sampled in sympatric sites, two in allopatric. The brown trout *S. trutta* is a predatory fish naturally present in European rivers but has been massively introduced in many aquatic systems, impacting the ecosystems and more particularly the population dynamics of native amphibians (RAHEL 2007; MCINTOSH, MCHUGH et P. BUDY 2011; MIRO et VENTURA 2013; Phaedra BUDY et GAETA 2017). The Pyrenean brook newt *C. asper* is an endemic urodel of the Pyrenean

mountains (France, Andorra, Spain). It is dependent on fresh and well-oxygenated water and has been identified as threatened by multiple factors including climate change (DALIBARD et al. 2020; POTTIER et al. 2021) and brown trout *S. trutta*'s introduction (MIRO, SABAS et VENTURA 2018; MIRO et VENTURA 2020; DELUEN, AUBRET et al. p. d.). We measured the individual oxygen consumption of *C. asper* at three different temperatures in the presence and absence of *S. trutta*. We expected to (i) confirm the thermal relation of newt's SMR highlighted in precedent work (DELUEN, BLANCHET et al. 2022), (ii) observe an effect of the presence of *S. trutta* on *C. asper*'s SMR, and (iii) a combined effect of this effect in warm conditions due to a stress accumulation of these two perturbations. We also expected a lower reaction of *S. trutta* presence in allopatric newt populations because of the unknown risk of predation.

4.2 Material and methods

4.2.1 Source populations and husbandry

During summer 2020, we sampled four riverine populations from four independent streams within the French Pyrenees where the populations of *C. asper* live in sympatry or allopatry with *S. trutta*. We sampled twenty adults per site by hand found by a visual survey. A total of 80 individuals were sampled with a near-balanced sex ratio (38 females and 42 males; Table 4.1). Non-gravid females were selected to avoid any influence of the reproductive state on respirometry measurements (FINKLER 2006). Individuals were then housed at the laboratory (436 m a.s.l., Moulis, Ariège, France). All individuals were PIT-Tagged for further identification (BIOLOG-ID, France; accreditation of animal experimentation n°A09-1), following the protocol described in LE CHEVALIER et al. 2017. Newts from each population were all housed in a single aquarium of 80 × 35 × 40 cm, at a water temperature of 15°C ± 1°C (SILVESTRE 2011) and exposed to an artificial light provided by a halogen lamp (12 :12 day :night cycle). Newts were fed *ad libitum* with *Tubifex sp.* live worms throughout the captivity. However, because digestion may influence physiology in ectotherms (R. B. HUEY 1982; GVOZDIK 2003), feeding was halted 48 h before testing bouts. Each animal was weighed with a digital balance (± 0.1 g) before each experiment (Table 4.1). All newts were released at their respective capture sites after all experiments (i.e. total mean time of captivity ± SD : 18 ± 2.5 weeks).

4.2.2 Physiological response

We measured *C. asper*'s individual oxygen consumption rate as a proxy for SMR depending on two predator treatments : absence and presence of trout. We also crossed with three water temperatures (11°C, 15°C, and 19°C) already used in a precedent study (DELUEN,

TABLE 4.1 – Characteristics of the four studied streams where Pyrenean brook newts were captured.

Sampling site	Date of capture	Coordinates WGS84 (latitude/longitude)	Co-occurrence trout-newt status	Number of females	Mean mass females (g) ± sd	Number of males	Mean mass males (g) ± sd
Belesta	02 June 2020	42°53'0,17" N 1°56'13,16" E	Allopatry	10	7.0 ± 0.9	10	8.0 ± 0.9
Fougax	23 June 2020	42°52'9,05" N 1°53'25,30" E	Sympatry	10	6.4 ± 1.1	10	8.7 ± 1.7
Orlu	30 June 2020	42°39'48,21" N 1°58'2,10" E	Sympatry	9	6.7 ± 1.2	11	8.8 ± 0.9
Gavarnie	08 July 2020	42°44'19,86" N 0°1'51,85" O	Allopatry	9	4.1 ± 0.7	11	5.7 ± 0.7

BLANCHET et al. 2022), and that correspond to trout's thermal tolerances (WEHRLY, WANG et MITRO 2007) and developmental optimum for *C. asper* (15°C CLERGUE GAZEAU 1983). To limit potential confounding effects between thermal-predator treatments *per se* and the order (timing) of tests, we alternated order for all populations between temperatures and contact with trouts. We also let newts rest for at least one day (mean ± SD : 2.3 ± 1.4 days) between tests.

Trouts were individually placed in an 80 L black plastic pool filled with dechlorinated water at 15°C ± 1°C and left to soak for 24h (FERRARI, MESSIER et Douglas P CHIVERS 2008). Newts were isolated in a 0.55 L airtight plastic transparent respirometric chamber and installed by a group of four in the plastic pool (Figure 4.1). To avoid a thermal shock, we gently acclimatized the animals by increasing or decreasing the captivity water temperature (15°C) to the test water temperature (11°C or 19°C) over a 1-h period. After this 1-h acclimatization, the water oxygen concentration was measured in the newt's respirometric chambers every minute for 2 h using FireSting fiber-optical oxygen meters (PyroScience GmbH, Aachen, Germany). An individual measure of oxygen consumption during these 2 h (hereafter SMR in ppm) corresponding to the individual loss in oxygen concentration was calculated by subtracting water oxygen concentration at the end of the experiment to water oxygen concentration at the beginning of the experiment. All tests were performed during the day at fixed and constant hours (9 :00 and 14 :00).

4.2.3 Statistical analyses

To test if SMR (response variable) varied with water temperature, predator treatment, co-occurrence status (explanatory variables), as well as their interactions, we built a linear mixed-

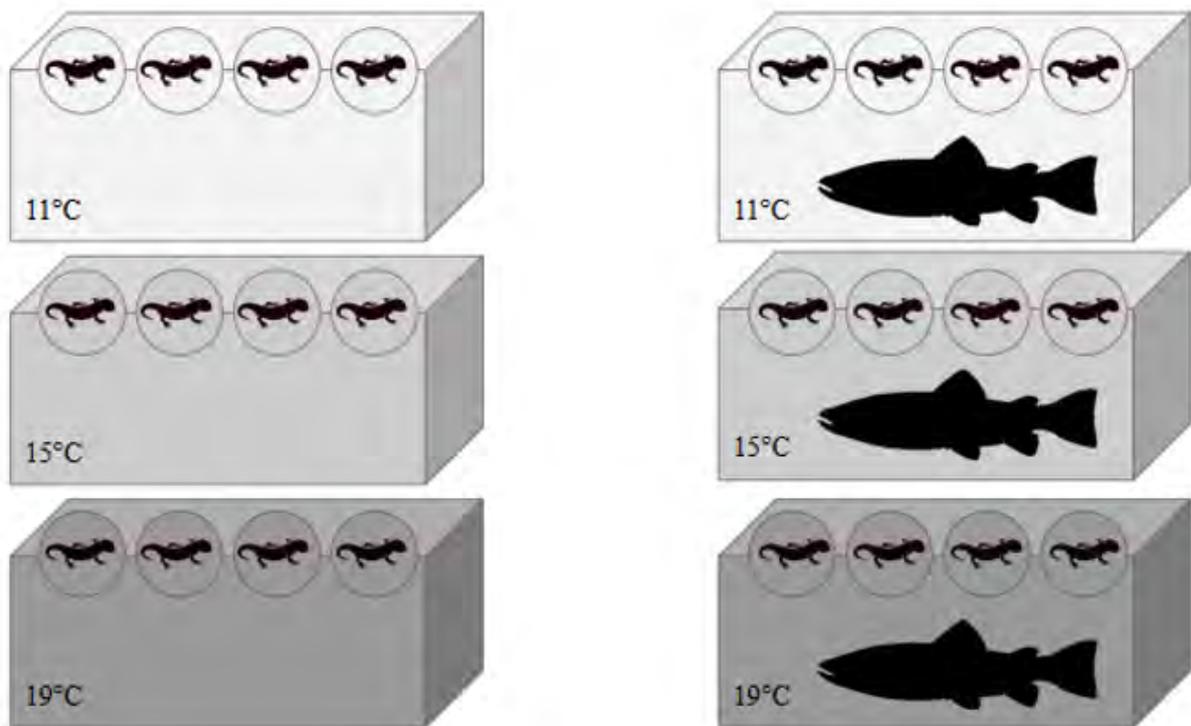


FIGURE 4.1 – Experimental set up in which each individual of *C. asper* was tested by groups of four in every six conditions in a randomised order (thermal treatment : 11 °C, 15 °C, and 19 °C ; predator treatment : « absence » on the left side and « presence » on the right side).

effects model (LMM considering a Gaussian distribution in residuals) with sites of capture, individuals identity, and dates of tests as random intercept terms. The water temperature variable was analyzed as a factor. The variable corresponding to the co-occurrence status of trout and newt in source population was merged into two classes, with two populations (Fougax and Orlu) assigned to a “sympatry class”, and the two other populations (Belesta and Gavarnie) assigned to an “allopatry class”.

We selected the fixed effect structure based on the Akaike Information Criterion with a correction for a small sample size ($\Delta AICc < 4$), while the structure of the random intercept terms was considered constant. We fitted all candidate LMMs using the restricted maximum likelihood parameter estimate (BATES, MACHLER et al. 2014). The best model was determined from the variables selected at least once in the set of selected models. We fitted a final LMM based on the fixed structure selected using the restricted maximum likelihood parameter estimate to ensure a robust estimate of coefficients (BATES, MACHLER et al. 2014). We finally calculated the mean effect of each fixed variable and their respective 95% confidence intervals through a bootstrap approach ($N = 5000$ iterations). The significance of each variable was determined from the bootstrap distributions for the two alternative hypotheses of a mean coefficient estimate being higher or lower than zero (i.e. the null hypothesis). To assess the goodness-of-fit of the models, we also computed the mean $AICc$, the mean marginal (i.e. variance explained by the fixed effects), and mean conditional (i.e. variance explained by both the fixed and random effects) R^2 values, as well as their respective 95% confidence interval from the set of bootstrap iteration. All statistical analyzes were performed under R (version 3.6.2; TEAM 2019). We used the lme4 (BATES, MACHLER et al. 2014) and optimx packages (NASH et VARADHAN 2011) to fit LMM and to conduct bootstraps, as well as the MuMIn package (BARTON 2019) to compute marginal and conditional R^2 .

4.3 Results

Mass, temperature, predator treatments, and co-occurrence status were retained in the best model (Table 4.2). Marginal and conditional R^2 were equal to 0.427 [0.345; 0.501] and 0.551 [0.472; 0.675], respectively (mean [CI95 %]). In other words, individuals, sites of capture, and dates of tests (i.e. the random terms) explained a lower proportion of variance in SMR (0.124) than did the direct effect of the mass of individuals, the temperature of the tests, predator treatments, and co-occurrence status.

The SMR increased with mass (mean [95% CI] : + 0.149 ppm [0.107; 0.190]) and temperature (mean [95% CI] : + 0.169 ppm [0.069; 0.272] at 15°C ; + 0.316 ppm [0.217; 0.418] at 19°C ; Table 4.2). No effect of the presence of trout in the experimental design was obser-

TABLE 4.2 – The effects of mass, temperature, predator treatment, and co-occurrence status on *C. asper*'s SMR estimated through bootstrapped mixed-effects linear models ($n = 5000$). Intercept captured the effect of temperature treatment equal to 11°C, absence of trout in predator treatment, and allopatric status *in situ* on SMR.

Variable	Mean estimate	CI95 %	P-value
Intercept	-0.052	[-0.325 ; 0.229]	> 0.05
Mass	0.149	[0.107 ; 0.190]	< 0.001
Temperature (15°C)	0.169	[0.069 ; 0.272]	< 0.001
Temperature (19°C)	0.316	[0.217 ; 0.418]	< 0.001
Predator treatment (presence)	0.059	[-0.056 ; 0.175]	> 0.05
Co-occurrence status <i>in situ</i> (sympatry)	0.608	[0.207 ; 1.00]	< 0.01
Temperature (15°C) * Predator treatment (presence)	-0.086	[-0.225 ; 0.055]	> 0.05
Temperature (19°C) * Predator treatment (presence)	-0.136	[-0.275 ; 0.006]	< 0.05
Co-occurrence status <i>in situ</i> (sympatry) * Mass	-0.054	[-0.110 ; 0.001]	< 0.05
Co-occurrence status <i>in situ</i> (sympatry) * Predator treatment (presence)	-0.039	[-0.153 ; 0.075]	> 0.05

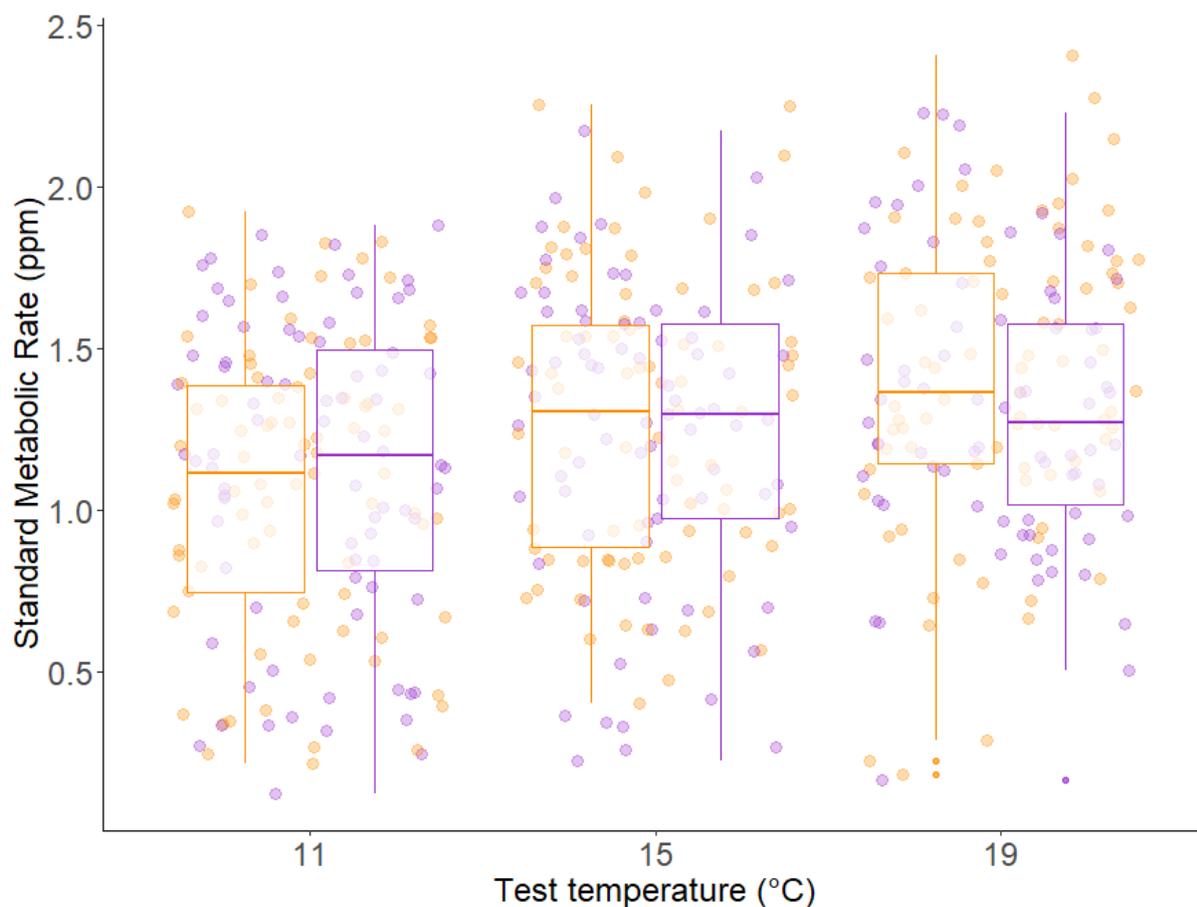


FIGURE 4.2 – Temperature dependence of SMR depending on predator treatment : « absence » in orange, « presence » in purple. Points and boxes are observations.

ved but a significant effect of the presence of trout *in situ* was observed with a higher SMR measured in newts living in sympatry with *S. trutta* than those living in allopatry (mean [95% CI] : + 0.608 ppm [0.207 ; 1.00] ; Table 4.2).

Although the predator treatment in the experimental design alone did not affect *C. asper*'s SMR, we can observe a significant decrease in the SMR at 19°C in the presence of trout (mean [95% CI] : -0.136 ppm [-0.275 ; 0.006] ; Table 4.2, Figure 4.2). Moreover, the mass-dependence of SMR varied in function of the co-occurrence status *in situ*, with a less steep relationship in individuals sampled in sympatric populations (mean [95% CI] : - 0.054 ppm [-0.110 ; 0.001] ; Table 4.2, Figure 4.3).

4.4 Discussion

In this study, we investigated the combined impact of temperature and an introduced predatory fish on the physiology of *C. asper*. Using four newt populations living in sympatry

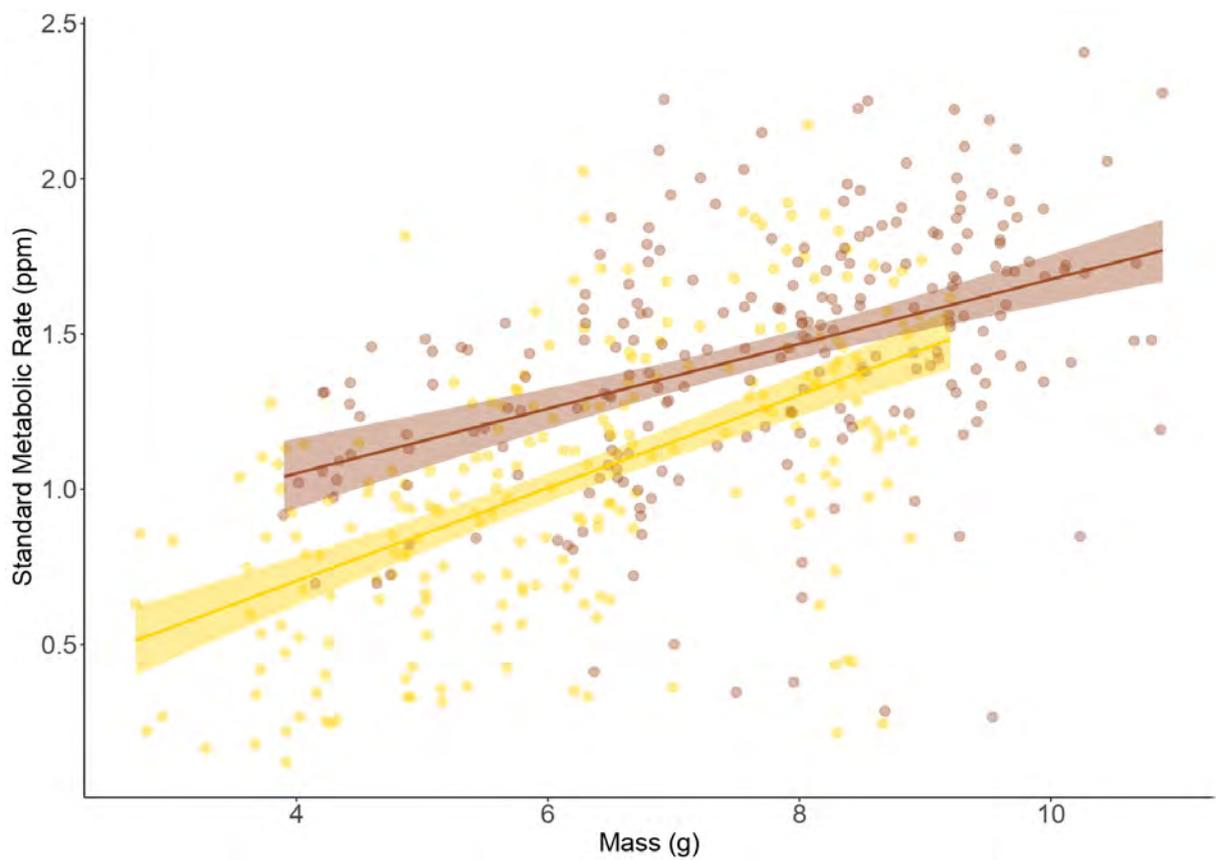


FIGURE 4.3 – Mass-dependence of SMR depending on co-occurrence status *in situ* : "allopatry" in yellow and "sympatry" in brown. The points and lines are observations. The shadow area corresponds to a confidence interval of 95%.

and allopatry with *S. trutta* in an experimental design, we measured the SMR in a thermal and predator pooled treatment. We highlighted that the basal metabolic rate of the Pyrenean brook newt depended on temperatures (as already demonstrated in DELUEN, BLANCHET et al. 2022) and the presence of trout in the source population and during the experiment.

Our results first showed an effect of the presence of trouts *in situ*. Indeed, newts from sympatric sites exhibited a higher SMR than newts from allopatric sites. To our knowledge, no study had focused on SMR variation between prey living in sympatry and allopatry with a predator. However, YUAN et al. 2021 showed that populations of lizards living in sympatry with their snake predator had higher body temperature and hind leg length, as an evolutionary advantage to sprint and escaping predation. Based on these results, we can hypothesize that having a higher SMR could also be an advantage for *C. asper* to escape predation by *S. trutta*. Indeed, a higher SMR reflects a higher metabolic activity (J. H. BROWN et al. 2004) that can permit a faster and/or longer physical activity as an escaping effort. Moreover, the impact of trout presence *in situ* varied depending on the mass of individuals with a higher difference in SMR between sympatric and allopatric populations for small individuals. We can assume that it is a direct consequence of the limited gape of *S. trutta* which, depending on the overall size of the fish, does not allow predation on large animals. If a high SMR is an adaptive response to help them escape predation (as assumed above), big newts do not need to develop this response which constitutes a high energetic cost that could affect energetic allocation to other aspects of life history as growth, reproductive, or immune functions (WEERATHUNGA et RAJAPAKSA 2020). Nevertheless, further investigations are needed to clarify this relationship in order to understand the ecological impact of introduced predators on prey's physiology in the long term.

Then, our result did not show any direct effect of the presence of trout in the experimental design. The absence of direct response of prey facing a predator is poorly documented. In previous work, CAMPBELL 2017 observed the same response in *Gambusia sp.* with no changes in oxygen consumption in presence of predatory cues. While the cause is not clear, some prey species respond more or even only to predators fed with their kind (GELOWITZ, MATHIS et SMITH 1993; D. P. CHIVERS et MIRZA 2001). In our case, the results could also be explained by the fact that adult newts would correspond less to trout's diet than larvae (MONTORI 1997; KATS et FERRER 2003). It would be then interesting to test if newts larvae respond to the trout presence in further studies. Also, our design was intended to avoid a surprise effect by making sudden contact between trouts and newts. The hour of thermal acclimation allowing a regulation from the captivity temperature (15°C) to the test temperatures (11°C or 19°C) served as acclimation to the fish's chemical cues. Our hypothesis assumed that there would still be an effect of the presence of trout, but the lack of SMR variation may be a consequence

of this acclimation or an absence of impact of the presence of fish. To answer this question, it is necessary to conduct the same experiment with sudden contact between animals. In case of acclimation, the SMR would vary and then go back to normal. In case of an absence of effect, the SMR would not vary.

While we did not observe any effect of the presence of trout alone, our results showed a combined antagonistic effect with temperature. Indeed, in warm conditions (i.e. at 19°C), adult newts presented a lower SMR in “trout” treatment than in “control” treatment. It seems that *C. asper* reacts by a “freezing” behavior to these two stressors, decreasing the SMR. This freezing behavior is a widespread answer generally put in place by prey to limit predation risk (FRAKER et al. 2009; STYNOSKI et NOBLE 2012). Although we found some references to thermal perturbations on the predator-risk responses of prey (Felipe A. BRICENO et al. 2018; GJONI, BASSET et GLAZIER 2020), we did not find any results that show the onset of a response after a thermal threshold, as we observed here. We can thus only hypothesize. The freezing behavior could be put in place when the stress suffered is too important, as it could be in the case of a cumulative presence of warm and predator conditions. We can also ask ourselves if *C. asper* did not detect stress cues from trout. Indeed, 19°C is near the top of *S. trutta*'s thermal range (WEHRLY, WANG et MITRO 2007). In this condition, we can assume that fish are submitted to important stress, releasing some chemical cues (ELVIDGE et al. 2017; FEUGERE et al. 2021). The interspecific detection of chemical cues is generally studied under the spectrum of trophic interaction (prey or predation-risk detection) but stressors cues can also be transmitted between species (KAMIO, YAMBE et FUSETANI 2022). In our case, if the only presence of trout does not affect *C. asper* (and is not an acclimation response as suggested above), the effect observed at 19°C could be a response to the stress of *S. trutta*. Finally, if the lack of SMR variation to the only presence of trout corresponds to an acclimation response as suggested above, we can assume that the effect observed at 19°C could be the result of an increase in sensory detection due to the thermal metabolic boost that increases most biological functions in ectotherms (ANGILLETTA 2009).

Whatever the explanatory interpretations can be of our different results, it is clear that temperature and predator presence alone and combined can have a deep impact on the physiology of *C. asper*. A modification in the SMR can represent an adaptive response to different stressors in the short term (ZAGAR et al. 2015). In the long term, a prolonged modification of SMR can have negative impacts. Indeed a modified SMR can decrease the energy available for vital functions (in case of a lower SMR) or non-maintenance functions (in case of a higher SMR) (KOOIJMAN 2000). In both cases, different physiological or behavioral traits involved in growth, immune system, or reproduction can be affected (CLARKE 1993; WEERATHUNGA et RAJAPAKSA 2020). If the reproductive functions are impacted and the fitness reduced, it can

lower the dynamic of populations and their persistence. The multiple threats that constitute the global change are thus of primary interest to elucidate its impact on biodiversity, especially given the complexity of combined effects.

CHAPITRE 5

DISCUSSION GÉNÉRALE

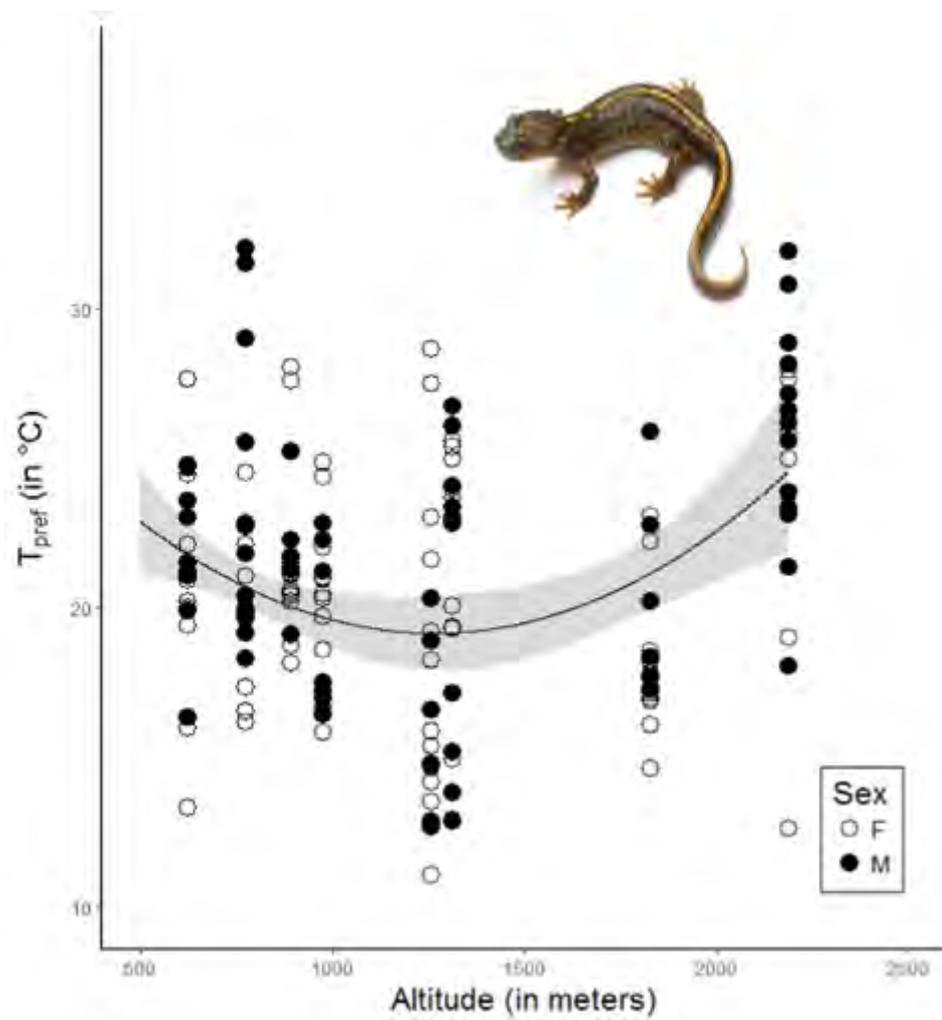


Les changements globaux de l'Anthropocène exposent les organismes à des stress biotiques et abiotiques croissants. Si le réchauffement climatique constitue une menace pour la biodiversité, l'introduction d'espèces peut aussi perturber le fonctionnement des écosystèmes. Ces deux composantes du changement global constituent des enjeux majeurs au sein des territoires montagnards et peuvent entraîner des modifications sur la répartition et la pérennité des espèces locales. Dans ce contexte, l'étude de l'écologie du Calotriton de Pyrénées, encore mal connue, est cruciale pour une gestion adaptée à l'espèce et au territoire. Ses traits d'histoire de vie sont bien documentés grâce à un panel de travaux scientifiques différents (détaillés dans POTTIER et al. 2021). Néanmoins, peu d'études se sont concentrées sur l'impact des changements globaux sur son écophysiologie, pourtant déterminant pour la compréhension des mécanismes de survie des populations. Cette thèse s'inscrit donc dans l'objectif de compléter les connaissances déjà acquises sur l'espèce en étudiant l'impact des températures et de la présence de Salmonidés introduits sur *C. asper*, à partir d'expérimentations en laboratoire et de suivi *in situ*.

5.1 Effets de la température sur les individus de *C. asper*

Les études qui se sont intéressées à l'écologie thermique du Calotriton sont limitées. Les travaux réalisés au sein du projet INTERREG POCTEFA ECTOPYR (2016-2020) en font parti et ont permis de décrire les préférences thermiques de 8 populations de *C. asper* le long du gradient altitudinal (TROCHET, DUPOUE et al. 2018). Une relation particulière a ainsi été observée entre le milieu de vie des animaux et leur comportement thermique (Figure 5.1), mettant en évidence deux types de variations phénotypiques le long du gradient altitudinal. Les individus échantillonnés dans la première moitié du gradient (< 1300 m a.s.l.) semblent choisir des températures qui correspondent à ce qu'ils ont l'habitude de rencontrer dans leur milieu (i.e. des températures chaudes à basse altitude et des températures plus fraîches à moyenne altitude, *co-gradient hypothesis*). Au contraire, les individus issus de la partie haute de l'aire de répartition (> 1300 m a.s.l.) semblent avoir choisi des températures de manière plus opportuniste (i.e. des températures fraîches à moyenne altitude et des températures chaudes à haute altitude, *counter-gradient hypothesis*). En effet, à haute altitude, la fenêtre de températures favorables à la reproduction de *C. asper* est courte (i.e. 15°C, en Juillet-Aout, CLERGUE GAZEAU 1983). Les animaux semblent donc saisir l'opportunité de maximiser leur métabolisme et l'ensemble de leurs fonctions biologiques en thermorégulant dans des zones plus favorables (ANGILLETTA 2009).

Les variations de phénotypes au sein de différents milieux peuvent fournir des informations importantes pour comprendre la répartition actuelle des espèces et prédire leur capacité d'adaptation aux changements environnementaux futurs (GIENAPP et al. 2008). Dans ce but,



cette étude comportementale a constitué une première approche pour explorer l'écologie thermique de *C. asper*. Pour aller plus loin, j'ai étudié dans cette thèse l'impact des températures sur la physiologie du Calotriton tout en m'appuyant sur ces travaux. En effet, le taux métabolique standard (« *standard metabolic rate* », SMR) mesuré dans les chapitres 2 et 4 détermine l'énergie minimum disponible pour l'ensemble des fonctions biologiques de base d'un organisme (CAREAU, KILLEN et METCALFE 2014), dont les comportements de thermorégulation étudiés dans TROCHET, DUPOUE et al. 2018. Dans le chapitre 2, j'ai aussi mis en évidence un effet de l'altitude d'origine des populations. Les individus de haute altitude (> 1300 m a.s.l.) étaient caractérisés par un taux métabolique supérieur aux individus de basse altitude (< 1300 m a.s.l.). Ces résultats corroborent ceux présentés dans TROCHET, DUPOUE et al. 2018 et leurs interprétations. Ainsi, en plus de volontairement chercher des températures plus chaudes pour augmenter leur activité métabolique, les individus de haute altitude (i.e. de milieu froid) ont un métabolisme plus élevé leur permettant d'être actifs à des températures inférieures et ainsi maintenir l'ensemble de leurs fonctions vitales au sein de ce milieu thermiquement peu favorable (KREIMAN et al. 2019). Mes travaux ont également confirmé chez le Calotriton des Pyrénées le phénomène physiologique largement répandu d'augmentation du taux métabolique avec les températures (CLARKE et FRASER 2004). Ces résultats ont eux aussi montré une variation en fonction de l'altitude avec une réaction à la température plus importante chez les individus de haute que chez ceux de basse altitude.

Les conséquences écologiques d'une telle réponse physiologique à la température peuvent s'étudier à l'échelle individuelle et populationnelle, à court et long terme. Une activité physiologique plus élevée permet une meilleure efficacité métabolique sur le court terme, favorisant l'allocation d'énergie pour différentes fonctions chez les individus (i.e. développement, croissance, reproduction, etc, ZAGAR et al. 2015, Figure 5.2A). En revanche, une exposition prolongée à un stress physiologique peut mener à une baisse de performances générales impactant la locomotion, la recherche de nourriture ou les comportements de thermorégulation (ZAGAR et al. 2015) pourtant primordiaux chez de nombreuses espèces d'ectothermes, dont le Calotriton comme présenté plus haut. Ces considérations concernent néanmoins un taux métabolique global. Il faut noter que l'augmentation du taux métabolique standard chez un individu, comme mesuré ici, implique des conséquences plus particulières. En effet, le SMR est une mesure de l'énergie minimum requise pour mener à bien les fonctions de base d'un organisme. Il se mesure donc sur des individus au repos, à jeun, adulte et en dehors de toute activité de reproduction (HULBERT et ELSE 2004; CAREAU, GIFFORD et BIRO 2014). A l'inverse, lors d'un effort physique important, un individu va exprimer un taux métabolique maximum (« *maximum metabolic rate* », MMR) correspondant au plus haut taux métabolique possible (CAREAU, GIFFORD et BIRO 2014). La différence entre ces deux valeurs (SMR : minimum vital; MMR : maximum) peut donc varier suivant les conditions environnementales

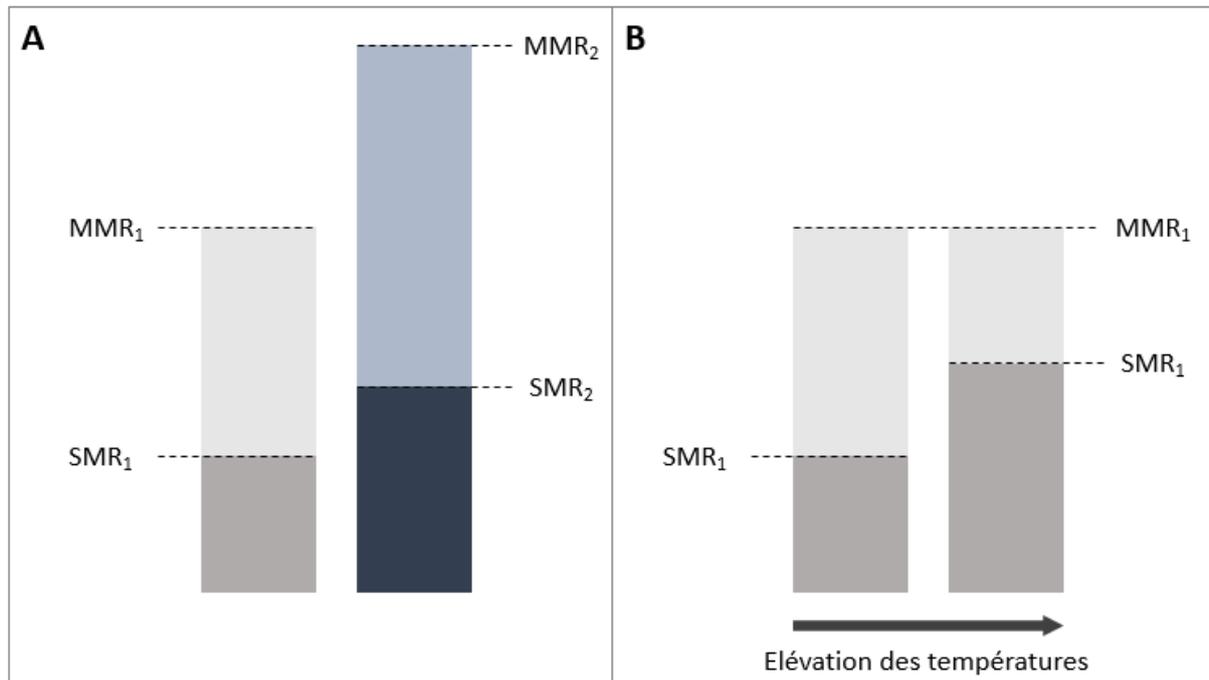


FIGURE 5.2 – Représentation schématique des taux métaboliques standard (SMR) et maximum (MMR) (A) de deux individus aux taux métaboliques différents et (B) d'un même individu avant et après une élévation des températures. Plus le SMR est proche du MMR, plus l'énergie allouée à d'autres fonctions que celles de maintenance de l'organisme est faible. D'après CLARKE et FRASER 2004.

et déterminer l'énergie disponible pour des fonctions de routine. Une augmentation du SMR par une élévation de la température peut donc induire un état « de survie » des individus empêchant toute autre fonction (Figure 5.2B) comme la locomotion, la croissance, la digestion ou la reproduction. La baisse de fitness induite chez plusieurs individus peut alors avoir des impacts à l'échelle populationnelle avec une diminution de la dynamique de population, une augmentation du risque de consanguinité voire une extinction locale (F J JANZEN 1994 ; Nicola J MITCHELL et al. 2008 ; N. J. MITCHELL et F. J. JANZEN 2010).

La caractérisation de la relation entre SMR et température chez *C. asper* n'avait encore jamais été établie. Pourtant, cette donnée écophysiological détermine l'énergie disponible à l'ensemble des fonctions biologiques clés de l'animal et nous donne un indice de l'impact que peut avoir la température du milieu sur la vie du Calotriton. De plus, j'ai mis en évidence une différence de réaction à la température entre les populations. La plus grande sensibilité des populations de haute altitude à une élévation des températures suggérée par ces résultats (Figure 5.3) constitue une préoccupation importante dans un contexte de réchauffement climatique. Elles doivent donc recevoir une attention particulière dans les décisions de conservation du Calotriton des Pyrénées.

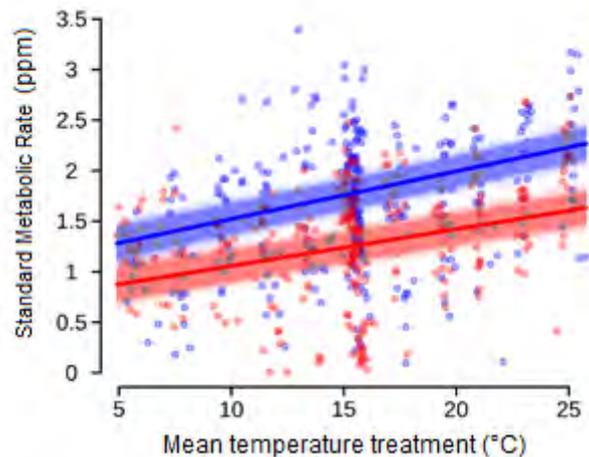


FIGURE 5.3 – SMR des individus de *C. asper* de basse (bleu) et haute (rouge) altitude en fonction de la température. Pour plus de détail voir DELUEN, BLANCHET et al. 2022, Chapitre 2.

Néanmoins, ces résultats n'apportent pas toutes les réponses aux questions concernant l'écologie thermique de *C. asper*. Même s'ils illustrent bien l'impact court et long terme d'une exposition à des températures chaudes, aucune information n'a été mise en évidence sur les tolérances thermiques de l'espèce. Ainsi nous ne connaissons pas la température optimum (T_{opt}) de fonctionnement permettant aux individus de maximiser leurs performances métaboliques ou la température critique maximum (CT_{max}) à laquelle l'organisme ne peut plus fonctionner. Ces données faciliteraient les prédictions d'impact du réchauffement climatique sur les populations de Calotriton en précisant la vitesse à laquelle les performances chuteront passé la T_{opt} ou la capacité des animaux à se remettre d'un stress thermique. Une méthode largement répandue pour établir les courbes de performances thermiques d'un organisme est de mesurer un effort physique à différentes températures. GVOZDIK et VAN DAMME 2006 ; GVOZDIK et VAN DAMME 2008 ont notamment mesuré les vitesses de nage et de course à différentes températures chez plusieurs espèces du genre *Triturus*. C'était l'objectif premier de cette thèse : reprendre le protocole développé par GVOZDIK et VAN DAMME 2008 et l'appliquer au Calotriton. Malheureusement, l'espèce n'a pas réagi comme escompté : alors que GVOZDIK et VAN DAMME 2006 n'ont eu que 15% de leurs essais inexploitable, cette proportion a représenté plus de 95% avec *C. asper*. En effet, lorsque l'animal est incité à avancer par la stimulation du bout de sa queue par un pinceau, le Calotriton des Pyrénées est caractérisé par un comportement de « freezing » quasi immédiat et s'aplatit pour ne plus bouger. Plusieurs modifications du protocole d'origine ont été faites mais aucune n'ayant fonctionné, je me suis concentrée sur la mesure du SMR. Il serait néanmoins intéressant de se pencher à nouveau sur cette problématique et adapter un protocole au comportement de *C. asper*.

Il faut également noter que ces travaux de thèse se sont concentrés sur l'impact d'une

température fixe. Le Calotriton est certes un ectotherme dont les réponses physiologiques à une température donnée sont importantes à étudier dans une problématique de changement climatique et d'élévation globale des températures. Mais le changement climatique se caractérisant aussi par des variations de températures plus brutales et extrêmes que la normale (IPCC 2022), il est intéressant d'étudier les réponses physiologiques et comportementales face à des variations de températures. En effet, cela permettrait d'estimer les capacités de thermorégulation de *C. asper* et de quantifier l'impact des changements thermiques sur ce sténotherme. Contrairement aux Anoures qui peuvent directement s'exposer au soleil (LILLYWHITE 1970), *C. asper* a plutôt tendance à fuir ce rayonnement avec des comportements de cache très prononcés (DESPAX 1923). Les variations de températures de l'eau au sein de son habitat semblent donc être son mode principal de thermorégulation. On peut ainsi facilement observer ce comportement chez l'espèce sur le terrain ou en conditions expérimentales. Je pense notamment au site d'Orlu (1313 m d'altitude, petits courts d'eau à faible débit en milieu ouvert alimentant l'Oriège, court d'eau principal) où on peut observer des Calotritons sous une pierre avec un très faible niveau d'eau où la température en plein soleil atteint les 20°C et à moins d'1m des congénères abrités dans une résurgence d'eau souterraine à 10°C. En conditions expérimentales, cette activité de thermorégulation s'est aussi constatée lors des tests de *preferendum* thermiques réalisés en 2018 (TROCHET, DUPOUE et al. 2018) où les individus pouvaient librement circuler au sein d'une arène divisée en 5 zones régulées à différentes températures. Une donnée que nous n'avons pas exploitée dans cet article est le nombre de fois où les animaux ont changé de zone, soit dans un but d'exploration de l'arène (comportement très développé aussi chez Calotriton) soit dans un but de thermorégulation. En 30min d'expérimentation, l'ensemble des individus testés ont changé de zone 24 fois en moyenne (± 22 fois). Au-delà de la forte variabilité inter-individuelle constatée (comme souvent chez Calotriton), on remarque que les changements de zones thermiques sont nombreux. On peut donc s'interroger sur la pertinence biologique de maintenir en élevage ses animaux à une température constante sans gradient thermique et de se limiter à l'étude de ses réponses en conditions de température fixe. Dans un travail futur, il serait intéressant de renouveler l'expérience exposée dans le Chapitre 2 de manière prolongée (e.g 7 jours), tout en faisant varier les températures sur un cycle nyctéméral d'abord pour reproduire les variations de températures jour-nuit, puis d'un jour à l'autre pour mimer les variations thermiques que peuvent subir les écosystèmes sur une semaine.

Pour aller plus loin, il faut également rappeler la présence de *C. asper* sur les deux versants pyrénéens. Les travaux présentés ici se sont concentrés sur des populations françaises pour des raisons logistiques. Néanmoins je reste convaincue de la nécessité de mener à bien des études conjointes entre France, Andorre et Espagne pour caractériser les populations les plus à risques et mettre en place des protocoles de conservation durables à l'échelle de l'espèce. Le

projet INTERREG POCTEFA ECTOPYR a fait ses preuves en terme d'étude transfrontalière et pourrait être réitéré. Comme des différences d'écologie thermique ont été observées entre basse et haute altitude, il serait important d'enquêter sur la possibilité de réactions différentes entre versant nord et sud. Le versant espagnol étant plus exposé avec des températures moyennes plus importantes que sur le versant français, on peut supposer que ces populations seront les premières à pâtir du réchauffement climatique et à subir des stress thermiques forts de plus en plus répétés.

5.2 Effets de la présence de *S. trutta* sur les individus de *C. asper*

Le Calotriton des Pyrénées occupe principalement des milieux naturellement dépourvus de Salmonidés. En effet, les populations de moyenne et haute altitude exploitent des zones en amont d'obstacles majeurs pour les poissons (cascades, pentes, etc) qui ne peuvent pas remonter les cours d'eau (MIRO et VENTURA 2020). Mais l'empoisonnement depuis le début du XXème des milieux aquatiques pyrénéens (lentiques et lotiques) favorise la rencontre entre poissons et Amphibiens (GALOP 2020 ; MIRO et VENTURA 2020). La plupart des études qui se sont intéressées à l'impact des Salmonidés sur les Amphibiens en général ont montré des impacts directs de prédation (KNAPP 2005 ; ORIZAOLA et BRANA 2006 ; TIBERTI, BRIGHENTI et al. 2016) ou compétition (FINLAY et VREDENBURG 2007). Pour le Calotriton, des études ont montré une corrélation entre présence de poissons et absence de *C. asper* (MIRO, SABAS et VENTURA 2018 ; MIRO et VENTURA 2020) en faisant l'hypothèse que ce facteur d'exclusion était une conséquence d'une prédation et/ou compétition. A ma connaissance, seule l'étude de MONTORI 1997 a déjà référencé la prédation de la truite fario *S. trutta* sur *C. asper* en attestant de la présence de fragments d'adultes et de larves dans le contenu stomacal des poissons.

Néanmoins ces connaissances sont insuffisantes pour mesurer l'impact individuel et populationnel de la présence de poissons. Dans ces travaux de thèse, j'ai pu faire une première estimation de la prédation de la Truite fario sur le Calotriton (Chapitre 3) et mesurer l'impact physiologique d'une telle sympatrie (Chapitre 4). Sur un total de cinq sites échantillonnés sur seulement deux jours chacun, 4/308 fèces de Truites contenaient de l'ADN de Calotriton. Ce chiffre a priori faible met en évidence une prédation potentiellement bien plus importante une fois extrapolé à la totalité de la période d'activité du Calotriton (entre deux et quatre mois). Étant donné la faible densité estimée pour beaucoup de populations (POTTIER et al. 2021), cette mortalité induite par la présence de prédateurs introduits peut être délétère pour des populations déjà fragilisées. D'autant plus si l'on considère l'impact physiologique de vivre en

sympatrie avec un prédateur. J'ai effectivement montré que les Calotritons issus de populations sympatriques présentaient un taux métabolique (SMR) plus important que leurs congénères issus de populations allopatriques. Cette activité métabolique plus importante pourrait représenter un avantage adaptatif à la présence de prédateurs, permettant à la proie d'allouer plus d'énergie à la fuite. Cette hypothèse est corroborée par l'observation d'un effet physiologique de la sympatrie plus important chez les petits individus, plus susceptibles d'être prédatés. D'ailleurs, bien que les résultats positifs d'ADN soient peu nombreux, un nombre plus important d'individus prédatés a été observé en période post-reproduction (3/4), alors que les larves sont présentes dans le cours d'eau. L'ensemble de ces données pourraient donc suggérer que la prédation est plus forte sur les larves (MIRO et VENTURA 2020; POTTIER et al. 2021) et que les impacts de la présence de *S. trutta* sur *C. asper* sont plus importants sur ces stades précoces.

Les outils biomoléculaires développés il y a quelques années permettent des applications diverses, notamment à des fins conservatoires (FICETOLA, MIAUD et al. 2008). Le développement d'amorces génétiques spécifiques à la détection d'ADN dégradé représente un intérêt majeur pour faire un état des lieux des populations. Pour une espèce protégée, l'intérêt est multiple car cette technique permet à la fois d'établir l'état sanitaire des individus (BYRNE et al. 2017; DUVAL et al. 2021), d'identifier ses proies et ses prédateurs (BIFFI et al. 2017; MONTERROSO et al. 2019) ou d'attester de sa présence dans le milieu (FICETOLA, MIAUD et al. 2008; SECONDI et al. 2016). Ce dernier point facilite aussi un état des lieux des écosystèmes dans le cas d'espèces bioindicatrices comme le Calotriton. A l'origine du chapitre 3, des amorces spécifiques ont été développées en amont de ce projet de thèse pour prospecter des sites favorables (i.e. conditions climatiques, topographie) à la présence du Calotriton au sein de son aire de répartition ou à sa marge. J'ai repris ces résultats en les intégrant dans une démarche plus large dans l'application de cette technique biomoléculaire avec la détection de l'ADN de Calotriton dans les fèces de Truite fario – espèce native des cours d'eau pyrénéens massivement introduite pour la pêche récréative (MCINTOSH, MCHUGH et P. BUDY 2011; Phaëdra BUDY et GAËTA 2017; LOBON-CERVIA et SANZ 2018). Cette technique complète ainsi les observations faites par MONTORI 1997 et permet une estimation de l'impact de la gestion de pêche actuelle dans les Pyrénées. A ma connaissance, aucune autre étude quantitative n'a été réalisée sur les interactions proies-prédateurs d'autres espèces d'amphibiens-poissons. Il est donc difficile de mettre en regard ce résultat à d'autres modèles que Truite-Calotriton.

Il semblerait également que l'effet de vivre en sympatrie ait déjà été étudié sur plusieurs traits dépendants de la physiologie comme la croissance, le comportement ou différentes mesures morphologiques (e.g. HERMANN et THALER 2014; B. T. WALTERS et al. 2017; DONG et al. 2018; YUAN et al. 2021) mais qu'aucun travail n'ait déjà recherché l'existence de cet

effet sur le taux métabolique spécifiquement. Or, comme discuté précédemment, la physiologie et notamment le taux métabolique constitue une variable de premier intérêt pour estimer l'impact d'un stress environnemental sur un individu et par extension sur une population.

Néanmoins, il est important de noter que les analyses de fèces présentées ici ne permettent qu'une estimation de la prédation. En effet, avec seulement deux échantillonnages par site et en tenant compte du temps de digestion d'environ 24h de *S. trutta* (BRUCE, MOFFITT et DENNIS 2009), les résultats ne sont révélateurs de la prédation effective que sur deux journées. Un moyen de palier ce problème serait de reproduire l'échantillonnage, sur les mêmes sites, avec au minimum une pêche par semaine pour avoir un continuum sur l'entièreté de la période d'activité de *C. asper*. Cela pourrait ainsi représenter entre 8 et 16 passages par site suivant l'altitude et la durée d'activité correspondante (2 mois à haute altitude et 4 à basse altitude) et peut-être mettre en évidence de façon plus rigoureuse une prédation préférentielle sur les larves.

5.3 Effets combinés de la température et de la présence de *S. trutta* sur les individus de *C. asper*

Comme démontré jusqu'ici, les impacts des températures d'une part et de la présence de poissons d'autre part sur le Calotriton des Pyrénées ne sont pas négligeables. Dans le Chapitre 4, je me suis intéressée à leur effet combiné et mes résultats ont mis en évidence un effet antagoniste de la présence de prédateur en condition chaude. La diminution du SMR dans ces conditions semble correspondre à un comportement de « freezing » dont le Calotriton est familier. En milieu naturel comme en conditions expérimentales, l'espèce est caractérisée par deux comportements principaux : l'exploration et l'utilisation de caches. Dans le cas de cette expérimentation, aucun échappatoire n'était offert aux individus, empêchant l'exploration vers d'autres conditions plus favorables ou des caches. L'option restante serait donc de s'immobiliser et réduire ainsi son activité physique et métabolique. En condition naturelle, une augmentation des comportements de cache va limiter le temps alloué à l'ensemble des autres activités comme la dispersion, la recherche de nourriture ou la reproduction. Dans un contexte de réchauffement climatique et en tenant compte des faibles capacités de dispersion de *C. asper*, une forte densité de poissons peut donc provoquer un dérangement majeur sur les activités vitales des Amphibiens.

Qu'elles soient biotiques ou abiotiques, les variables environnementales peuvent interagir entre elles et avoir des effets combinés sur le milieu et les espèces (détaillé au Chapitre 1). De plus en plus d'études s'intéressent à ces impacts, notamment dans un contexte de changement global où plusieurs perturbations environnementales et menaces peuvent s'influencer

(GJONI, BASSET et GLAZIER 2020 ; CARRIER-BELLEAU et al. 2021). Néanmoins, la plupart des travaux réalisés sur l'impact des températures sur les relations trophiques se sont concentrés sur l'étude de traits morphologiques ou comportementaux (e.g. ANDERSON et al. 2001 ; GRIGALTCHIK, WARD et SEEBACHER 2012 ; LAWS 2017). La physiologie des organismes, qui influence directement ces traits, a été moins étudiée mais semble tout autant être modifiée par cet effet combiné (Felipe A BRICENO et al. 2020 ; GJONI, BASSET et GLAZIER 2020). Les travaux réalisés ici permettent une meilleure estimation de l'impact des changements globaux dans leur ensemble.

Néanmoins, comme exposé en introduction, plusieurs menaces pèsent sur le Calotriton des Pyrénées. Celles étudiées ici ont été estimées par les scientifiques parmi les plus importantes (DALIBARD et al. 2020). Mais, aucune considération n'a été faite pour un quelconque impact combiné avec d'autres menaces identifiées. Une variable notamment peu étudiée est la qualité de l'eau alors que de nombreux cours d'eau Pyrénéens sont soumis à une pollution chimique et que les amphibiens sont connus pour y être particulièrement sensibles (DALIBARD et al. 2020). En effet, en présence de polluants chimiques, il a été estimé une diminution de la survie et de la masse des individus et une augmentation forte de la fréquence d'apparition de malformations (EGEA-SERRANO et al. 2012). De plus, la baisse des débits dans les rivières due au dérèglement climatique a tendance à concentrer les polluants dans l'eau et augmenter la sensibilité des Amphibiens aux polluants (BELLOS et SAWIDIS 2005 ; NOYES et LEMA 2015). Cette interaction est réciproque puisque les polluants ont été identifiés comme altérant la capacité des organismes à faire face au changement climatique (NOYES et LEMA 2015). Il a également été observé qu'une exposition à des polluants chimiques, même en très faible quantité, altère la réponse à la présence de prédateurs (POLO-CAVIA, BURRACO et GOMEZ-MESTRE 2016). Toutes ces connaissances regroupent une bibliographie intéressante pour étudier l'impact combiné des 3 composantes les plus problématiques des changements globaux : changement climatique, introduction d'espèces prédatrices et pollution chimique. Le protocole de respirométrie utilisé dans cette thèse pourrait tout à fait être réutilisé en faisant varier ces 3 paramètres (Table 5.1). Une étude préliminaire devrait être mise en place pour estimer quel(s) polluant(s) utiliser et en quelle quantité, notamment grâce à des prélèvements sur différents sites pour voir ce que les Calotritons ont l'habitude de rencontrer ou non. Afin de mettre en évidence d'éventuelles différences entre les sites comme durant cette thèse, les populations d'études peuvent être choisies suivant leur sensibilité thermique (i.e. basse/haute altitude, voir Chapitre 2), leur cohabitation avec les Salmonidés (i.e. sympatrie/allopatrie, voir Chapitre 4) et l'intensité de pollution de leur environnement.

TABLE 5.1 – Suggestion de protocole expérimental pour l'étude de l'effet combiné des polluants chimiques, présence de prédateurs introduits et températures sur le taux métabolique standard de *C. asper*

Polluant	Salmonidés	Températures		
		11°C	15°C	19°C
Absence	Absence	Mesure du SMR		
	Présence			
Présence	Absence			
	Présence			

5.4 Remise en contexte général

Les réponses aux changements globaux du Calotriton des Pyrénées identifiées dans ce travail de thèse sont caractérisées par une forte variabilité en fonction des caractéristiques du milieu de vie des animaux :

- l'altitude – et l'environnement thermique qui correspond – détermine de manière directe la réaction des individus à la température, suggérant une plus grande sensibilité chez les populations de haute altitude ;
- le contact in situ avec *Salmo trutta* – Salmonidé largement introduit pour la pêche de loisir – influence le métabolisme basal de *C. asper*.

Cela complète tous les autres travaux déjà réalisés où l'histoire des études menées sur le Calotriton des Pyrénées montre des spécificités pour chaque population. Tout commence avec le descriptif de l'espèce (voir Chapitre 1) : les nombreux débats taxonomiques et la diversité morphologie décrite (résumé dans POTTIER et al. 2021). Puis les travaux de Clergue-Gazeau qui constituent une avancée majeure dans la description biologique de l'espèce où l'on constate des différences importantes dans les traits d'histoire de vie de l'espèce qui dépendent complètement de l'altitude (et donc des conditions thermiques des milieux). On observe ainsi des périodes d'activité réduite de presque 50% et un âge de maturité sexuelle doublé chez les populations de haute altitude par rapport à celles de basse altitude (CLERGUE GAZEAU 1983). Comme décrit plus haut, on peut également noter des différences comportementales liées aux différences climatiques le long du gradient altitudinal avec des préférences thermiques qui varient suivant l'étage montagnard (TROCHET, DUPOUE et al. 2018). Ces caractéristiques découlent évidemment du caractère ectotherme de l'animal dont les périodes d'activité, la croissance, les comportements thermiques et les caractéristiques physiologiques dépendent de la température (ANGILLETTA 2009). Mais ces différences ne se bornent pas qu'à une différenciation climatique des milieux de vie en fonction de l'altitude. Une forte structuration génétique a ainsi été montrée par LUCATI, MIRO et VENTURA 2020 avec cinq lignées diffé-

rentes aux évolutions distinctes. Dans ses travaux de thèse, CAMARASA 2021 a observé des caractéristiques démographiques variables entre les populations (structure d'âge et longévité) qui ne dépendraient pas des particularités de l'habitat.

Les conditions biotiques et abiotiques des milieux et/ou la structuration génétique induisent donc des différences phénotypiques entre les populations de Calotriton à tous les niveaux (physiologiques, morphologiques, comportementales, écologiques). Il est ainsi évident que pour toute future étude, qu'elle soit à visée conservatoire ou de recherche fondamentale, il faut considérer plusieurs populations pour tenir compte de leurs particularités.

Pour de futures études, il faudrait également aller plus loin que l'étude physiologique du SMR. Bien qu'étant un indice intéressant et rigoureux pour l'estimation de l'impact d'une variable biotique ou abiotique sur l'organisme, il reste une conséquence directe et « imposée » par les variations environnementales (CLARKE et FRASER 2004). Il n'indique pas quelle réponse est mise en place par l'organisme entre une tentative de fuite vers un environnement plus favorable ou un maintien dans le milieu par des mécanismes adaptatifs (ROSENZWEIG et al. 2007).

Pour identifier la volonté/capacité de fuite du milieu, une possibilité serait de coupler ces résultats écophysiologiques à des expérimentations comportementales. Un protocole pourrait être mis en place au sein d'une arène présentant une (ou plusieurs, voir Chapitre 4) conditions stressantes et offrant aux Calotritons des possibilités de cache et de fuite vers des environnements plus favorables. Le fait que l'animal reste ou non dans l'arène permettra déjà d'avoir une estimation du comportement de *C. asper* face à un stress, indépendamment de sa physiologie. Les passages de l'arène vers les environnements favorables pourront également varier entre couloir d'eau et couloir terrestre. Effectivement, l'ensemble des études s'intéressant au Calotriton des Pyrénées s'effectuent pendant sa phase aquatique et profite de la capacité de *C. asper* à pouvoir rester entièrement dans l'eau sans accès terrestre. Ainsi le choix préférentiel entre passage terrestre et passage aquatique pourrait être intéressant pour estimer les capacités de dispersion en phase terrestre de l'animal, estimées à un niveau très faible jusqu'à maintenant (MILA et al. 2009). C'est déjà dans ce but qu'avait été réalisée une première expérience de locomotion il y a quelques années. Comme précisé plus haut au sujet de l'étude du MMR de Calotriton, l'expérience n'a malheureusement pas aboutie, puisque la stimulation nécessaire à la marche des individus sur le chemin terrestre expérimental a constitué un stress trop important, induisant un comportement de « freezing » instantané. Dans le protocole d'arène proposé ici, l'animal ne subirait aucune stimulation et effectuerait son choix seul, lors d'une expérience filmée de plusieurs heures. Toujours dans le même objectif d'estimation des capacités de dispersion, il est important d'enfin se pencher sur un des plus gros questionnements des spécialistes sur le Calotriton : sa phase terrestre. Les commentaires personnels des différents

experts mentionnent des hibernations dans le cours d'eau enfouis dans le creux des berges ou dans la végétation (souche, mousses, etc) à proximité de l'eau. Depuis plusieurs années, il est discuté entre divers spécialistes d'un projet de télémétrie sur *C. asper* afin d'identifier son occupation de l'habitat pendant l'hiver. CUCHEROUSET et al. 2008 ont mené une première étude dans ce sens mais le dispositif ne permet une détection qu'à une trentaine de centimètre. L'idéal serait de reproduire les travaux effectués sur le Triton marbré par LE CHEVALIER et al. 2017 avec des transmetteurs pour du radio-tracking. Néanmoins, cette technique reste hautement invasive et *C. asper* reste une espèce plus petite que le Triton marbré. La technologie ne permet pas encore à ma connaissance d'implanter des transmetteurs de taille raisonnable dans leur cavité abdominale.

Aussi, savoir à quels mécanismes adaptatifs sont soumis les différences physiologiques observées en fonction de l'altitude (voir Chapitre 2) ou de la présence de truite *in situ* (voir Chapitre 4) est tout aussi important puisqu'ils vont déterminer la capacité d'adaptation et donc de survie de l'espèce face à cet environnement changeant (STEARNS 1989). Ces réponses phénotypiques peuvent être influencées par des facteurs génétiques, environnementaux ou une interaction entre les deux. Un moyen de connaître quel facteur influence le plus un trait phénotypique est de réaliser une expérimentation en jardin commun (*common garden*, MIAUD et MERILA 2000). En mettant dans un même environnement des individus qui expriment des phénotypes différents dans leur milieu naturel, on peut ainsi estimer si la part génétique (i.e. les différences sont maintenues) ou la part environnementale (i.e. les individus expriment le même phénotype) est plus forte dans l'expression du trait observé (MIAUD et MERILA 2000). C'est ce qui a été réalisé dans cette thèse où il semblerait que les différentes réponses physiologiques exprimées par les Calotritons dépendent d'un facteur génétique. Néanmoins, cela n'indique pas quels mécanismes adaptatifs sont impliqués. En effet, l'expression d'un trait phénotypique peut être gouvernée par plusieurs mécanismes adaptatifs tels que l'adaptation locale et la plasticité phénotypique (OROMI, SANUY et SINSCH 2012). L'adaptation génétique locale peut être définie comme le résultat de mécanismes de sélection divergents entre plusieurs environnements locaux. Avec un flux de gènes réduit, ces mécanismes de sélection peuvent conduire à une évolution différente des populations en réponse à des conditions écologiques et spécifiques (OROMI, SANUY et SINSCH 2012). L'adaptation génétique locale est possible si les populations ont des variations génétiques élevées et si la sélection divergente entre les différents environnements est forte par rapport au flux génétique (KELLER et al. 2013). D'autre part, la plasticité phénotypique est un facteur évolutif capable de favoriser ou de retarder un changement génétique (OROMI, SANUY et SINSCH 2012). Elle peut être définie comme la capacité d'un organisme à produire divers phénotypes relativement différents en réponse à de multiples environnements (DEWITT, SIH et D. S. WILSON 1998). Ces mécanismes peuvent être complexes à identifier. Pour s'affranchir d'un effet dû à une plasticité

intragénérationnelle ou développementale (WEST-EBERHARD 2003), il est ainsi nécessaire de reproduire les expériences menées sur plusieurs générations élevées dans des conditions expérimentales communes (à basse altitude, 15°C, en l'absence de *S. trutta*) : si les générations suivantes maintiennent les phénotypes observés chez leurs parents, l'influence d'une adaptation locale pourra être suggérée. A noter qu'il a déjà été identifié une certaine plasticité du taux métabolique chez *C. asper* en réponse à des conditions souterraines (GUILLAUME et al. 2020). Ainsi, après 8 années passées dans des conditions cavernicoles, l'activité métabolique d'individus issus de populations épigées a significativement été réduite pour correspondre au taux exprimé par des individus issus de populations hypogées. On peut supposer un même processus pour les paramètres présentés dans ces travaux, avec une modification des réponses physiologiques passé un temps long.

Les perspectives de recherche sont donc larges mais qu'en est-il des perspectives de conservation ? L'identification de tendances sur les facteurs de stress seuls ou en interaction et la réponse des organismes peut mieux informer les gestionnaires dans leurs décisions de conservation et les élus dans leur législation. A condition de concevoir des expériences écologiquement réalistes qui tiennent compte de l'impact des facteurs de stress locaux (e.g. l'introduction de Salmonidés) dans le contexte de facteurs de stress globaux (e.g. le changement climatique). Les facteurs de stress globaux ne peuvent pas être stoppés par des actions locales alors que les facteurs de stress locaux peuvent facilement être modulés directement par des décisions de gestion adaptées au territoire. Une réduction des facteurs de stress locaux pourrait notamment améliorer la résilience des organismes face aux facteurs de stress globaux (C. J. BROWN et al. 2013). La mesure conservatoire principale identifiée par la littérature sur différents changements globaux peut se résumer à une préservation des milieux en partenariat avec tous les acteurs du territoire. Ainsi, tandis que (HELLER et ZAVALITA 2009) mettent en évidence une forte nécessité de maintenir voire restaurer les corridors écologiques pour favoriser la dispersion des organismes face au changement climatique, (COWX, ARLINGHAUS et COOKE 2010) insistent sur l'importance que les communautés de pêche (individus et fédérations) soient activement incluses dans les projets de recherche et de conservation pour permettre leur implication volontaire dans la préservation des écosystèmes aquatiques.

BIBLIOGRAPHIE

- ALFORD, Ross A., Kay S. BRADFIELD et Stephen J. RICHARDS (2007). « Ecology : global warming and amphibian losses ». In : *Nature* 447.7144, E3-4, discussion E5-6. ISSN : 1476-4687. DOI : 10.1038/nature05940.
- ALLAN, Bridie J. M. et al. (2015). « Feeling the heat : the effect of acute temperature changes on predator-prey interactions in coral reef fish ». In : *Conservation Physiology* 3.1, cov011. ISSN : 2051-1434. DOI : 10.1093/conphys/cov011.
- ALTERMATT, Florian (2010). « Climatic warming increases voltinism in European butterflies and moths ». In : *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences* 277.1685, p. 1281-1287. DOI : 10.1098/rspb.2009.1910.
- ANDERSON, Michael T et al. (2001). « The direct and indirect effects of temperature on a predator-prey relationship ». In : *Canadian Journal of Zoology* 79.10, p. 1834-1841. ISSN : 0008-4301. DOI : 10.1139/z01-158.
- ANDO, Haruko et al. (2020). « Methodological trends and perspectives of animal dietary studies by noninvasive fecal DNA metabarcoding ». In : *Environmental DNA* 2.4, p. 391-406. ISSN : 2637-4943. DOI : 10.1002/edn3.117.
- ANGERT, Amy L., Seema N. SHETH et John R. PAUL (2011). « Incorporating Population-Level Variation in Thermal Performance into Predictions of Geographic Range Shifts ». In : *Integrative and Comparative Biology* 51.5, p. 733-750. ISSN : 1540-7063. DOI : 10.1093/icb/icr048. (Visité le 04/07/2022).
- ANGILLETTA, Michael J. (2009). *Evolutionary Thermal Biology*. Oxford University Press. ISBN : 978-0-19-171874-8.
- ANGILLETTA, Michael J., Peter H. NIEWIAROWSKI et Carlos A. NAVAS (2002). « The evolution of thermal physiology in ectotherms ». In : *Journal of Thermal Biology* 27.4, p. 249-268. ISSN : 0306-4565. DOI : 10.1016/S0306-4565(01)00094-8.

- ANSON, Jennifer R. et Chris R. DICKMAN (2013). « Behavioral responses of native prey to disparate predators : naiveté and predator recognition ». In : *Oecologia* 171.2, p. 367-377. ISSN : 1432-1939. DOI : 10.1007/s00442-012-2424-7.
- ARNETH, Almut et al. (2019). « Framing and Context ». In : *Climate Change and Land*. Geneva : Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), p. 1-98.
- ATKINSON, D. (1994). « Temperature and Organism Size—A Biological Law for Ectotherms ? » In : *Advances in Ecological Research*. T. 25. Academic Press, p. 1-58.
- BAILEY, Evann (2021). « The effects of urbanization on insect morphology : a meta-analysis ». In : *Honors Theses*.
- BARNOSKY, Anthony D. et al. (2011). « Has the Earth's sixth mass extinction already arrived ? » In : *Nature* 471.7336, p. 51-57. ISSN : 1476-4687. DOI : 10.1038/nature09678.
- BARTON, Kamil (2019). *MuMIn : Multi-Model Inference*. URL : <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn> (visité le 25/02/2021).
- BASS, Stephanie L. S. et Robert GERLAI (2008). « Zebrafish (*Danio rerio*) responds differentially to stimulus fish : The effects of sympatric and allopatric predators and harmless fish ». In : *Behavioural Brain Research* 186.1, p. 107-117. ISSN : 0166-4328. DOI : 10.1016/j.bbr.2007.07.037.
- BATES, Douglas, Reinhold KLIEGL et al. (2018). « Parsimonious Mixed Models ». In : *arXiv :1506.04967 [stat]*. arXiv : 1506.04967.
- BATES, Douglas, Martin MACHLER et al. (2014). « Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4 ». In : *arXiv :1406.5823 [stat]*.
- BEEBEE, Trevor J. C. et Richard A. GRIFFITHS (2005). « The amphibian decline crisis : A watershed for conservation biology ? » en. In : *Biological Conservation* 125.3, p. 271-285. ISSN : 0006-3207. DOI : 10.1016/j.biocon.2005.04.009.
- BELLARD, Celine et al. (2014). « Vulnerability of biodiversity hotspots to global change ». In : *Global Ecology and Biogeography* 23.12, p. 1376-1386. ISSN : 1466-8238. DOI : 10.1111/geb.12228.
- BELLEMANN, Eva et al. (2010). « ITS as an environmental DNA barcode for fungi : an in silico approach reveals potential PCR biases ». In : *BMC Microbiology* 10.1, p. 189. ISSN : 1471-2180. DOI : 10.1186/1471-2180-10-189.
- BELLOS, D. et T. SAWIDIS (2005). « Chemical pollution monitoring of the River Pinios (Thessalia—Greece) ». In : *Journal of Environmental Management* 76.4, p. 282-292. ISSN : 0301-4797. DOI : 10.1016/j.jenvman.2005.01.027.
- BESTION, Elvire et al. (2015). « Live Fast, Die Young : Experimental Evidence of Population Extinction Risk due to Climate Change ». en. In : *PLOS Biology* 13.10, e1002281. ISSN : 1545-7885. DOI : 10.1371/journal.pbio.1002281.

- BIFFI, Marjorie et al. (2017). « Novel insights into the diet of the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) using next-generation sequencing molecular analyses ». In : *Journal of Mammalogy* 98.5, p. 1497-1507. ISSN : 0022-2372. DOI : 10.1093/jmammal/gyx070.
- BIGGS, Jeremy et al. (2015). « Using eDNA to develop a national citizen science-based monitoring programme for the great crested newt (*Triturus cristatus*) ». en. In : *Biological Conservation*. Special Issue : Environmental DNA : A powerful new tool for biological conservation 183, p. 19-28. ISSN : 0006-3207. DOI : 10.1016/j.biocon.2014.11.029.
- BODENSTEINER, Brooke L. et al. (2021). « Thermal adaptation revisited : How conserved are thermal traits of reptiles and amphibians? » en. In : *Journal of Experimental Zoology Part A : Ecological and Integrative Physiology* 335.1, p. 173-194. ISSN : 2471-5646. DOI : 10.1002/jez.2414.
- BOHER, Francisca et al. (2016). « Ectotherms in Variable Thermal Landscapes : A Physiological Evaluation of the Invasive Potential of Fruit Flies Species ». In : *Frontiers in Physiology* 7. ISSN : 1664-042X.
- BOISVERT-MARSH, Laura, Catherine PERIE et Sylvie de BLOIS (2019). « Divergent responses to climate change and disturbance drive recruitment patterns underlying latitudinal shifts of tree species ». In : *Journal of Ecology* 107.4, p. 1956-1969. ISSN : 1365-2745. DOI : 10.1111/1365-2745.13149.
- BOTTS, Emily A., Barend F. N. ERASMUS et Graham J. ALEXANDER (2015). « Observed range dynamics of South African amphibians under conditions of global change ». In : *Austral Ecology* 40.3, p. 309-317. ISSN : 1442-9993. DOI : 10.1111/aec.12215.
- BOULENGER, G.-A. (1882). *Catalogue of the Batrachia Gradientia s. Caudata and Batrachia Apoda in the collections of the British Museum. 2nd Edition*. Cornell University Library.
- (1910). *Les Batraciens et principalement ceux d'Europe*. Doin & fils.
- BRADSHAW, S. D. (2003). *Vertebrate ecophysiology : an introduction to its principles and applications*. en. Cambridge, UK ; New York, NY, USA : Cambridge University Press. ISBN : 978-0-521-81797-4.
- BRICENO, Felipe A et al. (2020). « Temperature alters the physiological response of spiny lobsters under predation risk ». In : *Conservation Physiology* 8.1, coaa065. ISSN : 2051-1434. DOI : 10.1093/conphys/coaa065.
- BRICENO, Felipe A. et al. (2018). « Changes in metabolic rate of spiny lobster under predation risk ». In : *Marine Ecology Progress Series* 598, p. 71-84. ISSN : 0171-8630, 1616-1599. DOI : 10.3354/meps12644.
- BRONMARK, Christer et Per EDENHAMN (1994). « Does the Presence of Fish Affect the Distribution of Tree Frogs (*Hyla arborea*)? » In : *Conservation Biology* 8.3. Publisher : [Wiley, Society for Conservation Biology], p. 841-845. ISSN : 0888-8892.

- BROWN, Arthur V. et Lloyd C. FITZPATRICK (1981). « Metabolic acclimation to temperature in the ozark salamander *Plethodon dorsalis angusticlavius* ». In : *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Physiology* 69.3, p. 499-503. ISSN : 0300-9629. DOI : 10.1016/0300-9629(81)93010-3.
- BROWN, Christopher J. et al. (2013). « Managing for Interactions between Local and Global Stressors of Ecosystems ». In : *PLOS ONE* 8.6, e65765. ISSN : 1932-6203. DOI : 10.1371/journal.pone.0065765.
- BROWN, James H. et al. (2004). « Toward a Metabolic Theory of Ecology ». In : *Ecology* 85.7, p. 1771-1789. ISSN : 1939-9170. DOI : 10.1890/03-9000.
- BRUCE, R. Louise, Christine M. MOFFITT et Brian DENNIS (2009). « Survival and Passage of Ingested New Zealand Mudsnails through the Intestinal Tract of Rainbow Trout ». In : *North American Journal of Aquaculture* 71.4, p. 287-301. ISSN : 1522-2055, 1548-8454. DOI : 10.1577/A08-033.1.
- BUDY, Phaedra et Jereme W. GAETA (2017). « Brown Trout as an Invader : A Synthesis of Problems and Perspectives in North America ». In : *Brown Trout*. John Wiley & Sons, Ltd, p. 523-543. ISBN : 978-1-119-26835-2.
- BULGARELLA, Mariana et al. (2015). « Elevational variation in adult body size and growth rate but not in metabolic rate in the tree weta *Hemideina crassidens* ». In : *Journal of Insect Physiology* 75, p. 30-38. ISSN : 0022-1910. DOI : 10.1016/j.jinsphys.2015.02.012.
- BYRNE, Allison Q. et al. (2017). « Unlocking the story in the swab : A new genotyping assay for the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* ». In : *Molecular Ecology Resources* 17.6, p. 1283-1292. ISSN : 1755-0998. DOI : 10.1111/1755-0998.12675.
- CAMARASA, Sebastia (2021). « Population dynamics of the Pyrenean newt (*Calotriton asper*) : demography, morphometry and population genetics ». Thèse de doct. Universitat de Lleida.
- CAMPBELL, Melissa (2017). « Effects of Predatory Cues on Copper Sensitivity and Metabolic Rate in *Gambusia affinis* ». In : *Electronic Theses and Dissertations*. URL : <https://dc.etsu.edu/etd/3250>.
- CAPO, Eric et al. (2020). « Effects of filtration methods and water volume on the quantification of brown trout (*Salmo trutta*) and Arctic char (*Salvelinus alpinus*) eDNA concentrations via droplet digital PCR ». In : *Environmental DNA* 2.2, p. 152-160. ISSN : 2637-4943. DOI : 10.1002/edn3.52.
- CAREAU, Vincent, Matthew E. GIFFORD et Peter A. BIRO (2014). « Individual (co)variation in thermal reaction norms of standard and maximal metabolic rates in wild-caught slimy salamanders ». en. In : *Functional Ecology* 28.5. Sous la dir. de Marek KONARZEWSKI, p. 1175-1186. ISSN : 02698463. DOI : 10.1111/1365-2435.12259.
- CAREAU, Vincent, Shaun S. KILLEN et Neil B. METCALFE (2014). « Adding Fuel to the "Fire of Life" : Energy Budgets across Levels of Variation in Ectotherms and Endotherms ».

- en. In : *Integrative Organismal Biology*. John Wiley & Sons, Ltd, p. 219-233. ISBN : 978-1-118-39881-4.
- CARRANZA, Salvador et Felix AMAT (2005). « Taxonomy, biogeography and evolution of Euproctus (Amphibia : Salamandridae), with the resurrection of the genus Calotriton and the description of a new endemic species from the Iberian Peninsula ». In : *Zoological Journal of the Linnean Society* 145.4, p. 555-582. ISSN : 1096-3642, 0024-4082. DOI : 10.1111/j.1096-3642.2005.00197.x.
- CARRIER-BELLEAU, Charlotte et al. (2021). « Environmental stressors, complex interactions and marine benthic communities' responses ». In : *Scientific Reports* 11.1, p. 4194. ISSN : 2045-2322. DOI : 10.1038/s41598-021-83533-1.
- CARUSO, Nicholas M. et Leslie J. RISSLER (2019). « Demographic consequences of climate variation along an elevational gradient for a montane terrestrial salamander ». In : *Population Ecology* 61.2, p. 171-182. ISSN : 1438-3896, 1438-390X. DOI : 10.1002/1438-390X.1005.
- CATENAZZI, Alessandro (2016). « Ecological implications of metabolic compensation at low temperatures in salamanders ». In : *PeerJ* 4, e2072. ISSN : 2167-8359. DOI : 10.7717/peerj.2072.
- CHANSEAU, M. et al. (2002). « L'utilisation de l'huile de clou de girofle comme anesthésique pour les smolts de saumon atlantique (*Salmo salar* L.) et comparaison de ses effets avec ceux du 2-phenoxyethanol ». In : *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 365-366, p. 579-589. ISSN : 0767-2861. DOI : 10.1051/kmae:2002054.
- CHAT, Joelle et al. (2015). *Continuité écologique et conservation de la diversité génétique et écotypique d'un grand migrateur (Salmo trutta)*. Rapp. tech. INRA, UMR 1224 Ecobiop (Ecologie Comportementale et Biologie des Populations de Poissons), Aquapole, St Pee sur Nivelles, France.
- CHIRAULT, Marlene et al. (2015). « A Combined Approach to Heat Stress Effect on Male Fertility in *Nasonia vitripennis* : From the Physiological Consequences on Spermatogenesis to the Reproductive Adjustment of Females Mated with Stressed Males ». In : *PLOS ONE* 10.3, e0120656. ISSN : 1932-6203. DOI : 10.1371/journal.pone.0120656.
- CHIVERS, D. P. et R. S. MIRZA (2001). « Importance of predator diet cues in responses of larval wood frogs to fish and invertebrate predators ». In : *Journal of Chemical Ecology* 27.1, p. 45-51. ISSN : 0098-0331. DOI : 10.1023/a:1005663815856.
- CLARKE, A. (1993). « Seasonal Acclimatization and Latitudinal Compensation in Metabolism : Do They Exist ? » In : *Functional Ecology* 7.2, p. 139-149. ISSN : 0269-8463. DOI : 10.2307/2389880.

- CLARKE, A. et K. P. P. FRASER (2004). « Why does metabolism scale with temperature ? »
In : *Functional Ecology* 18.2, p. 243-251. ISSN : 1365-2435. DOI : <https://doi.org/10.1111/j.0269-8463.2004.00841.x>.
- CLEGG, M. T., B. K. EPPERSON et A. H. D. BROWN (1992). *Genetic Diversity and Reproductive System*. Sous la dir. d'Yvette DATTEE, Christian DUMAS et Andre GALLAIS. Springer. ISBN : 978-3-642-76998-6.
- CLERGUE GAZEAU, M. (1972). « Euproctus asper hypogé, comparaison avec les autres cavernicoles et essai d'introduction dans leurs classifications ». In : *Ann. Speleol.* 27.4, p. 793-806.
- (1976). « Reproduction des Urodèles, perturbations apportées à la reproduction de l'espèce *Euproctus asper* épigée par sa mise en élevage à la grotte de Moulis. II. *Euproctus asper* femelle ». In : *Ann. Speleol.* 31, p. 163-168.
- (1983). « Variations du cycle sexuel des Urodèles pyrénées à tendance aquatique, rôle de la température. II. Les femelles (*Euproctus asper* Dugès, *Triturus helveticus* Razoumowsky) ». In : *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse* 118, p. 153-159.
- (1987). « L'urodèle *Euproctus asper* (Dugès) dans les Pyrénées-Orientales : répartition géographique et cycle sexuel à basse altitude ». In : *Vie milieu (1980)* 37.2, p. 133-138. ISSN : 0240-8759.
- CLERGUE GAZEAU, M. et ML BONNET (1979). « Analyse biométrique de composants du squelette de l'Urodèle *Euproctus asper*. II : Populations d'altitude et de localisation géographique différentes ». In : *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse* 115.3-4, p. 425-438.
- CLERGUE GAZEAU, M. et JP MARTINEZ RICA (1978). « Les différents biotopes de l'urodèle pyrénéen : *Euproctus asper* ». In : *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse* 114, p. 461-471.
- COLAUTTI, Robert I. et Hugh J. MACISAAC (2004). « A neutral terminology to define 'invasive' species ». In : *Diversity and Distributions* 10.2, p. 135-141. ISSN : 1472-4642. DOI : [10.1111/j.1366-9516.2004.00061.x](https://doi.org/10.1111/j.1366-9516.2004.00061.x).
- COWX, I. G., R. ARLINGHAUS et S. J. COOKE (2010). « Harmonizing recreational fisheries and conservation objectives for aquatic biodiversity in inland waters ». In : *Journal of Fish Biology* 76.9, p. 2194-2215. ISSN : 1095-8649. DOI : [10.1111/j.1095-8649.2010.02686.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02686.x).
- CROZIER, L. G. et al. (2008). « Potential responses to climate change in organisms with complex life histories : evolution and plasticity in Pacific salmon ». In : *Evolutionary Applications* 1.2, p. 252-270. ISSN : 1752-4571. DOI : [10.1111/j.1752-4571.2008.00033.x](https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2008.00033.x).
- CRUTZEN, Paul J. (2002). « Geology of mankind ». en. In : *Nature* 415.6867, p. 23-23. ISSN : 1476-4687. DOI : [10.1038/415023a](https://doi.org/10.1038/415023a).
- CUCHEROUSSET, J. et al. (2008). « Portable PIT detector as a new tool for non-disruptively locating individually tagged amphibians in the field : a case study with Pyrenean brook

- salamanders (*Calotriton asper*) ». en. In : *Wildlife Research* 35.8, p. 780-787. ISSN : 1448-5494, 1448-5494. DOI : 10.1071/WR08074.
- CUSHMAN, Samuel A. (2006). « Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians : A review and prospectus ». In : *Biological Conservation* 128.2, p. 231-240. ISSN : 0006-3207. DOI : 10.1016/j.biocon.2005.09.031.
- DALIBARD, Manon (2021). « Étude de l'habitat du Calotriton des Pyrénées (*Calotriton asper*) : De l'échelle de son aire de distribution en France à celle d'un cours d'eau ». Thèse de doct. Université de Toulouse.
- DALIBARD, Manon et al. (2020). « Identifying threats to Pyrenean brook newt (*Calotriton asper*) to improve decision making in conservation management : A literature review complemented by expert-driven knowledge ». en. In : *Journal for Nature Conservation* 54, p. 125801. ISSN : 1617-1381. DOI : 10.1016/j.jnc.2020.125801.
- DEHAUT, EG (1920). *Contribution à l'Etude de la Vie Vertébrée Insulaire de la Région Méditerranéenne Occidentale et particulièrement en Sardaigne et en Corse*. Lechevalier.
- DEJEAN, Tony et al. (2012). « Improved detection of an alien invasive species through environmental DNA barcoding : the example of the American bullfrog *Lithobates catesbeianus* ». en. In : *Journal of Applied Ecology* 49.4, p. 953-959. ISSN : 1365-2664. DOI : 10.1111/j.1365-2664.2012.02171.x.
- DELUEN, Marine, Fabien AUBRET et al. (p. d.). « Development and use of genetic tools for monitoring the Pyrenean brook newt (*Calotriton asper*) in the wild ». In : ().
- DELUEN, Marine, Simon BLANCHET et al. (2022). « Impacts of temperature on O2 consumption of the Pyrenean brook newt (*Calotriton asper*) from populations along an elevational gradient ». en. In : *Journal of Thermal Biology* 103, p. 103166. ISSN : 0306-4565. DOI : 10.1016/j.jtherbio.2021.103166.
- DESPAX, R (1923). « Contribution à l'étude anatomique et biologique des Batraciens Urodèles du groupe des Euproctes et spécialement de l'Euprocte des Pyrénées Triton (*Euproctus asper*, Dugès) ». In : *Bulletin de la Societe d'Histoire Naturelle de Toulouse* 51, p. 185-440.
- DEUTSCH, Curtis A. et al. (2008). « Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude ». en. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105.18, p. 6668-6672. ISSN : 0027-8424, 1091-6490. DOI : 10.1073/pnas.0709472105.
- DEWITT, T. J., A. SIH et D. S. WILSON (1998). « Costs and limits of phenotypic plasticity ». In : *Trends in Ecology & Evolution* 13.2, p. 77-81. ISSN : 0169-5347. DOI : 10.1016/S0169-5347(97)01274-3.
- DONG, Shihao et al. (2018). « Olfactory eavesdropping of predator alarm pheromone by sympatric but not allopatric prey ». In : *Animal Behaviour* 141, p. 115-125. ISSN : 0003-3472. DOI : 10.1016/j.anbehav.2018.05.013.

- DUGES, A (1852). « Recherches zoologiques sur les Urodèles de France. » In : *Annales des Sciences Naturelles* 3.17, p. 253-272.
- DUMERIL, A.M.C, G BIBRON et A DUMERIL (1854). « Erpétologie générale ou histoire naturelle complète des Reptiles. T. 9 – Batraciens Urodèles. » In : *Librairie encyclopédique de Roret*.
- DUPOUE, Andreaz, Francois BRISCHOUX et Olivier LOURDAIS (2017). « Climate and foraging mode explain interspecific variation in snake metabolic rates ». In : *Proceedings. Biological Sciences* 284.1867, p. 20172108. ISSN : 1471-2954. DOI : 10.1098/rspb.2017.2108.
- DUPOUE, Andreaz, Alexis RUTSCHMANN et al. (2017). « Shorter telomeres precede population extinction in wild lizards ». In : *Scientific Reports* 7.1, p. 16976. ISSN : 2045-2322. DOI : 10.1038/s41598-017-17323-z.
- DUVAL, Eloise et al. (2021). « Urine DNA (uDNA) as a non-lethal method for endoparasite biomonitoring : Development and validation ». In : *Environmental DNA* 3.5, p. 1035-1045. ISSN : 2637-4943. DOI : 10.1002/edn3.228.
- EGEA-SERRANO, Andres et al. (2012). « Understanding of the impact of chemicals on amphibians : a meta-analytic review ». In : *Ecology and Evolution* 2.7, p. 1382-1397. ISSN : 2045-7758. DOI : 10.1002/ece3.249.
- ELVIDGE, C.K. et al. (2017). « Social cues may advertise habitat quality to refuge-seeking conspecifics ». In : *Canadian Journal of Zoology* 95.1, p. 1-5. ISSN : 0008-4301. DOI : 10.1139/cjz-2016-0144.
- EVANS, Gertrude (1939). « Factors Influencing the Oxygen Consumption of Several Species of Plethodontid Salamanders in Aerial and Aquatic Media ». en. In : *Ecology* 20.1, p. 74-95. ISSN : 1939-9170. DOI : 10.2307/1930806.
- FERRARI, Maud C.O, François MESSIER et Douglas P CHIVERS (2008). « Can prey exhibit threat-sensitive generalization of predator recognition ? Extending the Predator Recognition Continuum Hypothesis ». In : *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences* 275.1644, p. 1811-1816. DOI : 10.1098/rspb.2008.0305.
- FEUGERE, Lauric et al. (2021). « Thermal stress induces a positive phenotypic and molecular feedback loop in zebrafish embryos ». In : *Journal of Thermal Biology* 102, p. 103114. ISSN : 0306-4565. DOI : 10.1016/j.jtherbio.2021.103114.
- FICETOLA, Gentile Francesco, Eric COISSAC et al. (2010). « An In silico approach for the evaluation of DNA barcodes ». In : *BMC Genomics* 11.1, p. 434. ISSN : 1471-2164. DOI : 10.1186/1471-2164-11-434.
- FICETOLA, Gentile Francesco, Raoul MANENTI et Pierre TABERLET (2019). « Environmental DNA and metabarcoding for the study of amphibians and reptiles : species distribution, the microbiome, and much more ». en. In : *Amphibia-Reptilia* 40.2, p. 129-148. ISSN : 0173-5373, 1568-5381. DOI : 10.1163/15685381-20191194.

- FICETOLA, Gentile Francesco, Claude MIAUD et al. (2008). « Species detection using environmental DNA from water samples ». In : *Biology Letters* 4.4, p. 423-425. DOI : 10.1098/rsbl.2008.0118.
- FINKLER, Michael S. (2006). « Effects of Temperature, Sex, and Gravidity on the Metabolism of Small-Mouthed Salamanders, *Ambystoma texanum*, during the Reproductive Season ». In : *Journal of Herpetology* 40.1, p. 103-106. ISSN : 0022-1511. DOI : 10.1670/104-05N.1.
- FINKLER, Michael S. et Kathryn A. CULLUM (2002). « Sex-Related Differences in Metabolic Rate and Energy Reserves in Spring-Breeding Small-Mouthed Salamanders (*Ambystoma texanum*) ». In : *Copeia* 2002.3. Sous la dir. de R. E. GATTEN JR., p. 824-829. ISSN : 0045-8511, 1938-5110. DOI : 10.1643/0045-8511(2002)002[0824:SRDIMR]2.0.CO;2.
- FINLAY, Jacques C. et Vance T. VREDENBURG (2007). « Introduced Trout Sever Trophic Connections in Watersheds : Consequences for a Declining Amphibian ». In : *Ecology* 88.9, p. 2187-2198. ISSN : 1939-9170. DOI : 10.1890/06-0344.1.
- FOLT, C. L. et al. (1999). « Synergism and antagonism among multiple stressors ». In : *Limnology and Oceanography* 44.3part2, p. 864-877. ISSN : 00243590. DOI : 10.4319/lo.1999.44.3_part_2.0864.
- FRAKER, Michael E. et al. (2009). « Characterization of an alarm pheromone secreted by amphibian tadpoles that induces behavioral inhibition and suppression of the neuroendocrine stress axis ». In : *Hormones and Behavior* 55.4, p. 520-529. ISSN : 0018-506X. DOI : 10.1016/j.yhbeh.2009.01.007.
- FRANCE, UICN, MNHN et SHF (2015). *La Liste rouge des espèces menacées en France – Chapitre Reptiles et Amphibiens de France métropolitaine*. Paris, France.
- GALOP, Didier (2020). « Aux origines du peuplement piscicole des lacs d'altitude des Pyrénées ». In : *Magazine truite & cie*, p. 20.
- GANGLOFF, Eric J., Kaitlyn G. HOLDEN et al. (2016). « Hormonal and metabolic responses to upper temperature extremes in divergent life-history ecotypes of a garter snake ». In : *The Journal of Experimental Biology* 219.18, p. 2944-2954. ISSN : 0022-0949, 1477-9145. DOI : 10.1242/jeb.143107.
- GANGLOFF, Eric J. et Rory S. TELEMECO (2018). « High Temperature, Oxygen, and Performance : Insights from Reptiles and Amphibians ». en. In : *Integrative and Comparative Biology* 58.1, p. 9-24. ISSN : 1540-7063. DOI : 10.1093/icb/icy005.
- GASCOIN, S. et al. (2015). « A snow cover climatology for the Pyrenees from MODIS snow products ». English. In : *Hydrology and Earth System Sciences* 19.5. Publisher : Copernicus GmbH, p. 2337-2351. ISSN : 1027-5606. DOI : 10.5194/hess-19-2337-2015.

- GASSER, F et M. CLERGUE GAZEAU (1981). « Les protéines sériques de l'urodèle *Euproctus asper* (Dugès), éléments de différenciation génétique dans les pré-pyrénées espagnoles ». In : *Vie et milieu* 31, p. 297-302.
- GASTON, Kevin J. et al. (2009). « Macrophysiology : A Conceptual Reunification. » In : *The American Naturalist* 174.5, p. 595-612. ISSN : 0003-0147. DOI : 10.1086/605982.
- GELOWITZ, Cherie M., Alicia MATHIS et R. Jan F. SMITH (1993). « Chemosensory Recognition of Northern Pike (*Esox lucius*) by Brook Stickleback (*Culaea inconstans*) : Population Differences and the Influence of Predator Diet ». In : *Behaviour* 127.1/2, p. 105-118. ISSN : 0005-7959.
- GEMMELL, Neil J., Victoria J. METCALF et Fred W. ALLENDORF (2004). « Mother's curse : the effect of mtDNA on individual fitness and population viability ». In : *Trends in Ecology & Evolution* 19.5, p. 238-244. ISSN : 0169-5347. DOI : 10.1016/j.tree.2004.02.002.
- GERHARDT, A (2002). « Bioindicator Species and Their Use in Biomonitoring ». In : *ENVIRONMENTAL MONITORING* 1, p. 10.
- GIBSON-REINEMER, Daniel K., Kimberly S. SHELDON et Frank J. RAHEL (2015). « Climate change creates rapid species turnover in montane communities ». In : *Ecology and Evolution* 5.12, p. 2340-2347. ISSN : 2045-7758. DOI : 10.1002/ece3.1518.
- GIENAPP, P. et al. (2008). « Climate change and evolution : disentangling environmental and genetic responses ». In : *Molecular Ecology* 17.1, p. 167-178. ISSN : 0962-1083. DOI : 10.1111/j.1365-294X.2007.03413.x.
- GJONI, V., A. BASSET et D. S. GLAZIER (2020). « Temperature and predator cues interactively affect ontogenetic metabolic scaling of aquatic amphipods ». In : *Biology Letters* 16.7, p. 20200267. DOI : 10.1098/rsbl.2020.0267.
- GOTTHARD, Karl et Soren NYLIN (1995). « Adaptive Plasticity and Plasticity as an Adaptation : A Selective Review of Plasticity in Animal Morphology and Life History ». In : *Oikos* 74.1, p. 3-17. ISSN : 0030-1299. DOI : 10.2307/3545669.
- GRAY (1858). « Proposal to separate the family Salamandridae, Gray, into two families, according to the form of the skull. » In : *Proceedings of the Zoological Society of London*, p. 136-144.
- GRIGALTCHIK, Veronica S., Ashley J. W. WARD et Frank SEEBACHER (2012). « Thermal acclimation of interactions : differential responses to temperature change alter predator-prey relationship ». In : *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences* 279.1744, p. 4058-4064. DOI : 10.1098/rspb.2012.1277.
- GUILLAUME, Olivier et al. (2020). « Reduction in the metabolic levels due to phenotypic plasticity in the Pyrenean newt, *Calotriton asper*, during cave colonization ». In : *Ecology and Evolution*. ISSN : 2045-7758. DOI : <https://doi.org/10.1002/ece3.6882>.

- GUIBAN, Antoine, T.C. EDWARDS JR. et T. HASTIE (2002). « Generalized linear and generalized additive models in studies of species distributions : Setting the scene ». In : *Ecological Modelling* 157.2-3, p. 12. DOI : 10.1016/S0304-3800(02)00204-1.
- GVOZDIK, Lumir (2003). « Postprandial thermophily in the Danube crested newt, *Triturus dobrogicus* ». en. In : *Journal of Thermal Biology* 28.8, p. 545-550. ISSN : 0306-4565. DOI : 10.1016/j.jtherbio.2003.08.002.
- GVOZDIK, Lumir et Raoul VAN DAMME (2006). « *Triturus* newts defy the running-swimming dilemma ». In : *Evolution ; International Journal of Organic Evolution* 60.10, p. 2110-2121. ISSN : 0014-3820. DOI : 10.1554/06-070.1.
- (2008). « The evolution of thermal performance curves in semi-aquatic newts : Thermal specialists on land and thermal generalists in water? ». In : *Journal of Thermal Biology* 33.7, p. 395-403. ISSN : 0306-4565. DOI : 10.1016/j.jtherbio.2008.06.004.
- HAMER, A., S. LANE et M. MAHONY (2002). « The role of introduced mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) in excluding the native green and golden bell frog (*Litoria aurea*) from original habitats in south-eastern Australia ». In : *Oecologia* 132.3, p. 445-452. ISSN : 1432-1939. DOI : 10.1007/s00442-002-0968-7.
- HANSEN, Peter J. (2009). « Effects of heat stress on mammalian reproduction ». In : *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences* 364.1534, p. 3341-3350. DOI : 10.1098/rstb.2009.0131.
- HARFOOT, Michael B. J. et al. (2021). « Using the IUCN Red List to map threats to terrestrial vertebrates at global scale ». In : *Nature Ecology & Evolution* 5.11, p. 1510-1519. ISSN : 2397-334X. DOI : 10.1038/s41559-021-01542-9.
- HARTEL, Tibor et al. (2007). « The effect of fish and aquatic habitat complexity on amphibians ». In : *Hydrobiologia* 583.1, p. 173. ISSN : 1573-5117. DOI : 10.1007/s10750-006-0490-8.
- HAVEL, John E. et al. (2015). « Aquatic invasive species : challenges for the future ». In : *Hydrobiologia* 750.1, p. 147-170.
- HELLER, Nicole E. et Erika S. ZAVALETA (2009). « Biodiversity management in the face of climate change : A review of 22 years of recommendations ». In : *Biological Conservation* 142.1, p. 14-32. ISSN : 0006-3207. DOI : 10.1016/j.biocon.2008.10.006.
- HERMANN, Sara L. et Jennifer S. THALER (2014). « Prey perception of predation risk : volatile chemical cues mediate non-consumptive effects of a predator on a herbivorous insect ». In : *Oecologia* 176.3, p. 669-676. ISSN : 0029-8549, 1432-1939. DOI : 10.1007/s00442-014-3069-5.
- HERVANT, F., J. MATHIEU et J. DURAND (2001). « Behavioural, physiological and metabolic responses to long-term starvation and refeeding in a blind cave-dwelling (*Proteus anguinus*)

- and a surface-dwelling (*Euproctus asper*) salamander ». In : *Journal of Experimental Biology* 204.2, p. 269-281. ISSN : 0022-0949. DOI : 10.1242/jeb.204.2.269.
- HERVANT, F., J. MATHIEU et J.P. DURAND (2000). « Metabolism and circadian rhythms of the European blind cave salamander *Proteus anguinus* and a facultative cave dweller, the Pyrenean newt (*Euproctus asper*) ». In : *Canadian Journal of Zoology* 78.8, p. 1427-1432. ISSN : 1480-3283, 0008-4301. DOI : 10.1139/cjz-78-8-1427.
- HOMYACK, Jessica A., Carola A. HAAS et William A. HOPKINS (2010). « Influence of temperature and body mass on standard metabolic rate of eastern red-backed salamanders (*Plethodon cinereus*) ». In : *Journal of Thermal Biology* 35.3, p. 143-146. ISSN : 03064565. DOI : 10.1016/j.jtherbio.2010.01.006.
- HOULAHAN, Jeff E et C Scott FINDLAY (2003). « The effects of adjacent land use on wetland amphibian species richness and community composition ». In : *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 60.9, p. 1078-1094. ISSN : 0706-652X. DOI : 10.1139/f03-095.
- HOWARD, Walter E. (1960). « Innate and Environmental Dispersal of Individual Vertebrates ». In : *The American Midland Naturalist* 63.1, p. 152-161. ISSN : 0003-0031. DOI : 10.2307/2422936.
- HSIUNG, An C. et al. (2018). « Altitudinal migration : ecological drivers, knowledge gaps, and conservation implications ». In : *Biological Reviews* 93.4, p. 2049-2070. ISSN : 1469-185X. DOI : 10.1111/brv.12435.
- HU, Ying-Chao et al. (2019). « Thermal dependence of feeding performance and resting metabolic expenditure in different altitudinal populations of toad-headed lizards ». In : *Journal of Thermal Biology* 80, p. 16-20. ISSN : 0306-4565. DOI : 10.1016/j.jtherbio.2019.01.001.
- HUEY, R. et R. STEVENSON (1979). « Integrating Thermal Physiology and Ecology of Ectotherms : A Discussion of Approaches ». In : DOI : 10.1093/ICB/19.1.357.
- HUEY, Raymond B. (1982). « Temperature, physiology, and the ecology of reptiles ». In : *Biology of the Reptilia*. Academic Press, p. 25-74.
- HUGHES, A. Randall et al. (2008). « Ecological consequences of genetic diversity ». In : *Ecology Letters* 11.6, p. 609-623. ISSN : 1461-0248. DOI : 10.1111/j.1461-0248.2008.01179.x.
- HULBERT, A. J. et P. L. ELSE (2004). « Basal Metabolic Rate : History, Composition, Regulation, and Usefulness ». In : *Physiological and Biochemical Zoology* 77.6, p. 869-876. ISSN : 1522-2152, 1537-5293. DOI : 10.1086/422768.
- ILES, Alison C. (2014). « Toward predicting community-level effects of climate : relative temperature scaling of metabolic and ingestion rates ». In : *Ecology* 95.9, p. 2657-2668. ISSN : 0012-9658. DOI : 10.1890/13-1342.1.

- IPBES (2019). *Global Assessment Report on Biodiversity and Ecosystem Services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services*. Rapp. tech.
- IPCC (2022). *Climate Change 2022 : Impacts, Adaptation and Vulnerability*. Rapp. tech.
- ISSARTEL, Julien et al. (2010). « Selection of physiological and metabolic adaptations to food deprivation in the Pyrenean newt *Calotriton asper* during cave colonisation ». In : *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Molecular & Integrative Physiology* 155.1, p. 77-83. ISSN : 1095-6433. DOI : 10.1016/j.cbpa.2009.10.002.
- IUCN (2019). *The IUCN Red List of Threatened Species Version 2019-3*.
- JANZEN, F J (1994). « Climate change and temperature-dependent sex determination in reptiles. » In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91.16, p. 7487-7490. DOI : 10.1073/pnas.91.16.7487.
- JU, Rui-Ting et al. (2015). « Increases in both temperature means and extremes likely facilitate invasive herbivore outbreaks ». In : *Scientific Reports* 5.1, p. 15715. ISSN : 2045-2322. DOI : 10.1038/srep15715.
- KAMIO, Michiya, Hidenobu YAMBE et Nobuhiro FUSEYANI (2022). « Chemical cues for intraspecific chemical communication and interspecific interactions in aquatic environments : applications for fisheries and aquaculture ». In : *Fisheries Science* 88.2, p. 203-239. ISSN : 1444-2906. DOI : 10.1007/s12562-021-01563-0.
- KARGER, Dirk Nikolaus et al. (2017). « Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas ». In : *Scientific Data* 4.1, p. 170122. ISSN : 2052-4463. DOI : 10.1038/sdata.2017.122.
- KATS, Lee B. et Ryan P. FERRER (2003). « Alien predators and amphibian declines : review of two decades of science and the transition to conservation ». In : *Diversity and Distributions* 9.2, p. 99-110. ISSN : 1472-4642. DOI : 10.1046/j.1472-4642.2003.00013.x.
- KELLER, I. et al. (2013). « Widespread phenotypic and genetic divergence along altitudinal gradients in animals ». In : *Journal of Evolutionary Biology* 26.12, p. 2527-2543. ISSN : 1420-9101. DOI : 10.1111/jeb.12255.
- KELLERMANN, Vanessa et al. (2019). « Comparing thermal performance curves across traits : how consistent are they ? » In : *Journal of Experimental Biology* 222.11, jeb193433. ISSN : 0022-0949. DOI : 10.1242/jeb.193433.
- KHAROUBA, Heather M. et al. (2018). « Global shifts in the phenological synchrony of species interactions over recent decades ». In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115.20, p. 5211-5216. ISSN : 0027-8424, 1091-6490. DOI : 10.1073/pnas.1714511115.
- KINGSOLVER, Joel G. (2009). « The well-temperated biologist. (American Society of Naturalists Presidential Address) ». In : *The American Naturalist* 174.6, p. 755-768. ISSN : 1537-5323. DOI : 10.1086/648310.

- KINGSOLVER, Joel G. et H. Arthur WOODS (1997). « Thermal Sensitivity of Growth and Feeding in *Manduca sexta* Caterpillars ». In : *Physiological Zoology* 70.6, p. 631-638. ISSN : 0031-935X. DOI : 10.1086/515872.
- (2016). « Beyond Thermal Performance Curves : Modeling Time-Dependent Effects of Thermal Stress on Ectotherm Growth Rates ». In : *The American Naturalist* 187.3, p. 283-294. ISSN : 0003-0147. DOI : 10.1086/684786.
- KLYMUS, Katy E. et al. (2020). « Reporting the limits of detection and quantification for environmental DNA assays ». In : *Environmental DNA* 2.3, p. 271-282. ISSN : 2637-4943. DOI : 10.1002/edn3.29.
- KNAPP, Roland A. (2005). « Effects of nonnative fish and habitat characteristics on lentic herpetofauna in Yosemite National Park, USA ». In : *Biological Conservation* 121.2, p. 265-279. ISSN : 00063207. DOI : 10.1016/j.biocon.2004.05.003.
- KOOIJMAN, S. a. L. M. (2000). *Dynamic Energy and Mass Budgets in Biological Systems*. English. Cambridge University Press. ISBN : 978-0-521-78608-9.
- KREIMAN, Lucas E. et al. (2019). « Testing the metabolic homeostasis hypothesis in amphibians ». In : *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences* 374.1778, p. 20180544. DOI : 10.1098/rstb.2018.0544.
- LARAMIE, Matthew B., David S. PILLIOD et Caren S. GOLDBERG (2015). « Characterizing the distribution of an endangered salmonid using environmental DNA analysis ». In : *Biological Conservation*. Special Issue : Environmental DNA : A powerful new tool for biological conservation 183, p. 29-37. ISSN : 0006-3207. DOI : 10.1016/j.biocon.2014.11.025.
- LARDIES, Marco A, Leonardo D BACIGALUPE et Francisco BOZINOVIC (2004). « Testing the metabolic cold adaptation hypothesis : an intraspecific latitudinal comparison in the common woodlouse ». In : *Evolutionary Ecology Research* 6, p. 567-578.
- LARDIES, Marco A, Tamara P CATALAN et Francisco BOZINOVIC (2004). « Metabolism and life-history correlates in a lowland and highland population of a terrestrial isopod ». In : *Canadian Journal of Zoology* 82.5, p. 677-687. ISSN : 0008-4301. DOI : 10.1139/z04-033.
- LATIMER, C. a. L., R. S. WILSON et S. F. CHENOWETH (2011). « Quantitative genetic variation for thermal performance curves within and among natural populations of *Drosophila serrata* ». In : *Journal of Evolutionary Biology* 24.5, p. 965-975. ISSN : 1420-9101. DOI : 10.1111/j.1420-9101.2011.02227.x.
- LAWS, Angela N (2017). « Climate change effects on predator-prey interactions ». In : *Current Opinion in Insect Science*. Global change biology * Molecular physiology 23, p. 28-34. ISSN : 2214-5745. DOI : 10.1016/j.cois.2017.06.010.
- LAWTON, John H. et Robert M. MAY, éd. (1995). *Extinction Rates*. Oxford, New York : Oxford University Press. ISBN : 978-0-19-854829-4.

- LAZZARO, Brian P et Tom J LITTLE (2009). « Immunity in a variable world ». In : *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences* 364.1513, p. 15-26. DOI : 10.1098/rstb.2008.0141.
- LE CHEVALIER, Hugo et al. (2017). « Marking techniques in the Marbled Newt (*Triturus marmoratus*) : PIT-Tag and tracking device implant protocols ». In : *Acta Herpetologica*, p. 79-88. DOI : 10.13128/ACTA_HERPETOL-19158.
- LENOIR, J. et J.-C. SVENNING (2015). « Climate-related range shifts – a global multidimensional synthesis and new research directions ». In : *Ecography* 38.1, p. 15-28. ISSN : 1600-0587. DOI : 10.1111/ecog.00967.
- LENOIR, Jonathan et al. (2020). « Species better track climate warming in the oceans than on land ». In : *Nature Ecology & Evolution* 4.8, p. 1044-1059. ISSN : 2397-334X. DOI : 10.1038/s41559-020-1198-2.
- LEVIN, Simon A. (1992). « The Problem of Pattern and Scale in Ecology : The Robert H. MacArthur Award Lecture ». In : *Ecology* 73.6, p. 1943-1967. ISSN : 1939-9170. DOI : 10.2307/1941447.
- LEVY, Ofir et al. (2016). « Ontogeny constrains phenology : opportunities for activity and reproduction interact to dictate potential phenologies in a changing climate ». In : *Ecology Letters* 19.6, p. 620-628. ISSN : 1461-0248. DOI : 10.1111/ele.12595.
- LIGHTON, John R. B. et Robbin J. TURNER (2004). « Thermolimit respirometry : an objective assessment of critical thermal maxima in two sympatric desert harvester ants, *Pogonomyrmex rugosus* and *P. californicus* ». In : *Journal of Experimental Biology* 207.11, p. 1903-1913. ISSN : 0022-0949. DOI : 10.1242/jeb.00970.
- LILLYWHITE, Harvey B. (1970). « Behavioral Temperature Regulation in the Bullfrog, *Rana catesbeiana* ». In : *Copeia* 1970.1, p. 158. ISSN : 00458511. DOI : 10.2307/1441983.
- LOBON-CERVIA, J. et N. SANZ (2018). *Brown trout : biology, ecology and management*. Wiley. ISBN : 978-1-119-26835-2.
- LONDONO, Gustavo A. et al. (2015). « Basal metabolism in tropical birds : latitude, altitude, and the 'pace of life' ». In : *Functional Ecology* 29.3, p. 338-346. ISSN : 1365-2435. DOI : 10.1111/1365-2435.12348.
- LONG, Jacob A. (2019). *jtools : Analysis and Presentation of Social Scientific Data*. URL : <https://CRAN.R-project.org/package=jtools>.
- LUCATI, Federica, Alexandre MIRO et Marc VENTURA (2020). « Conservation of the endemic Pyrenean newt (*Calotriton asper*) in the age of invasive species : interlake dispersal and colonisation dynamics. » In : *Amphibia-Reptilia* 41.2, p. 281-282. DOI : 10.1163/15685381-2020seh1.

- LUCATI, Federica, Manon POIGNET et al. (2020). « Multiple glacial refugia and contemporary dispersal shape the genetic structure of an endemic amphibian from the Pyrenees ». In : *Molecular Ecology*. ISSN : 1365-294X. DOI : 10.1111/mec.15521.
- LUKE, Steven G. (2017). « Evaluating significance in linear mixed-effects models in R ». In : *Behavior Research Methods* 49.4, p. 1494-1502. ISSN : 1554-3528. DOI : 10.3758/s13428-016-0809-y.
- MARKERT, Jeffrey A. et al. (2010). « Population genetic diversity and fitness in multiple environments ». In : *BMC Evolutionary Biology* 10.1, p. 205. ISSN : 1471-2148. DOI : 10.1186/1471-2148-10-205.
- MARTINEZ RICA, JP et M. CLERGUE GAZEAU (1977). « Données nouvelles sur la répartition géographique de l'espèce *Euproctus asper* (Dugès), Urodèle Salamandridae ». In : *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse* 113, p. 318-330.
- MARTINEZ-SILVESTRE, Albert et al. (2020). « Presence of the Fungus *B. dendrobatidis*, but not *B. salamandrivorans*, in Wild Pyrenean Brook Newts (*Calotriton asper*) in Spain and France ». In : *HERPETOLOGICAL REVIEW* 51.4, p. 738-743.
- MCINTOSH, A.R., P.A. MCHUGH et P. BUDY (2011). « Brown Trout (*Salmo trutta*) ». In : *A handbook of global freshwater invasive species*. Francis R.A. Earthscan, p. 285-296. ISBN : 978-1-84971-228-6.
- MEYERS, Lauren Ancel et James J. BULL (2002). « Fighting change with change : adaptive variation in an uncertain world ». In : *Trends in Ecology & Evolution* 17.12, p. 551-557. ISSN : 0169-5347. DOI : 10.1016/S0169-5347(02)02633-2.
- MIAUD, Claude et Juha MERILA (2000). « Local adaptation or environmental induction? Causes of population differentiation in alpine amphibians ». en. In : *Biota*, p. 20.
- MILA, Borja et al. (2009). « Marked genetic structuring and extreme dispersal limitation in the Pyrenean brook newt *Calotriton asper* (Amphibia : Salamandridae) revealed by genome-wide AFLP but not mtDNA ». In : *Molecular ecology* 19, p. 108-20. DOI : 10.1111/j.1365-294X.2009.04441.x.
- MILOCH, Daniela et al. (2020). « Endemic amphibians cornered in headwaters by trout invasion in a mountain range in Argentina ». In : *Aquatic Conservation : Marine and Freshwater Ecosystems*. ISSN : 1099-0755. DOI : 10.1002/aqc.3441.
- MIRO, Alexandre, David O'BRIEN et al. (2020). « Rapid amphibian community recovery following removal of non-native fish from high mountain lakes ». In : *Biological Conservation* 251, p. 108783. ISSN : 00063207. DOI : 10.1016/j.biocon.2020.108783.
- MIRO, Alexandre, Ibor SABAS et Marc VENTURA (2018). « Large negative effect of non-native trout and minnows on Pyrenean lake amphibians ». In : *Biological Conservation* 218, p. 144-153. ISSN : 0006-3207. DOI : 10.1016/j.biocon.2017.12.030.

- MIRO, Alexandre et Marc VENTURA (2013). « Historical use, fishing management and lake characteristics explain the presence of non-native trout in Pyrenean lakes : Implications for conservation ». In : *Biological Conservation* 167, p. 17-24. ISSN : 0006-3207. DOI : 10.1016/j.biocon.2013.07.016.
- (2020). « Introduced fish in Pyrenean high mountain lakes : impact on amphibians and other organisms, and conservation implications ». In : *Limnetica* 39.1, p. 283-297. ISSN : 0213-8409. DOI : 10.23818/limn.39.19.
- MITCHELL, N. J. et F. J. JANZEN (2010). « Temperature-Dependent Sex Determination and Contemporary Climate Change ». In : *Sexual Development* 4.1-2. Publisher : Karger Publishers, p. 129-140. ISSN : 1661-5425, 1661-5433. DOI : 10.1159/000282494.
- MITCHELL, Nicola J et al. (2008). « Predicting the fate of a living fossil : how will global warming affect sex determination and hatching phenology in tuatara? » In : *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences* 275.1648, p. 2185-2193. DOI : 10.1098/rspb.2008.0438.
- MOLINA-MARTINEZ, Arcangel et al. (2016). « Changes in butterfly distributions and species assemblages on a Neotropical mountain range in response to global warming and anthropogenic land use ». In : *Diversity and Distributions* 22.11, p. 1085-1098. ISSN : 1472-4642. DOI : 10.1111/ddi.12473.
- MONTERROSO, Pedro et al. (2019). « Feeding ecological knowledge : the underutilised power of faecal DNA approaches for carnivore diet analysis ». In : *Mammal Review* 49.2, p. 97-112. ISSN : 1365-2907. DOI : 10.1111/mam.12144.
- MONTORI, Albert (1997). « Trophic segregation between the Pyrenean Newt (*Euproctus asper*) and the Brown Trout (*Salmo trutta fario*) ». In : *Herpetologia Bonnensis*, p. 273-278.
- MONTORI, Albert, Gustavo LLORENTE et Mario GARCIA-PARIS (2008). « Allozyme differentiation among populations of the Pyrenean newt *Calotriton asper* (Amphibia : Caudata) does not mirror their morphological diversification ». In : *Zootaxa* 1945, p. 39-50. DOI : 10.11646/zootaxa.1945.1.2.
- MORET, Pierre et al. (2016). « Climate warming effects in the tropical Andes : first evidence for upslope shifts of Carabidae (Coleoptera) in Ecuador ». In : *Insect Conservation and Diversity* 9.4, p. 342-350. ISSN : 1752-4598. DOI : 10.1111/icad.12173.
- MOSKWIK, Matthew (2014). « Recent elevational range expansions in plethodontid salamanders (Amphibia : Plethodontidae) in the southern Appalachian Mountains ». In : *Journal of Biogeography* 41.10, p. 1957-1966. ISSN : 1365-2699. DOI : 10.1111/jbi.12352.
- MUIR, Anna P., Roman BIEK et Barbara K. MABLE (2014). « Behavioural and physiological adaptations to low-temperature environments in the common frog, *Rana temporaria* ». In :

- BMC Evolutionary Biology* 14.1, p. 110. ISSN : 1471-2148. DOI : 10.1186/1471-2148-14-110.
- NASH, John C. et Ravi VARADHAN (2011). « Unifying Optimization Algorithms to Aid Software System Users : optimx for R ». In : *Journal of Statistical Software* 43.1, p. 1-14. ISSN : 1548-7660. DOI : 10.18637/jss.v043.i09.
- NICOL, A. (1990). *L'Euprocte des Pyrénées*. ISBN : 2-85302-117-3.
- NORIN, Tommy et Neil B. METCALFE (2019). « Ecological and evolutionary consequences of metabolic rate plasticity in response to environmental change ». In : *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences* 374.1768, p. 20180180. DOI : 10.1098/rstb.2018.0180.
- NOVARRO, Alexander J. et al. (2018). « Physiological responses to elevated temperature across the geographic range of a terrestrial salamander ». In : *The Journal of Experimental Biology* 221.18, jeb178236. ISSN : 0022-0949, 1477-9145. DOI : 10.1242/jeb.178236.
- NOYES, Pamela D. et Sean C. LEMA (2015). « Forecasting the impacts of chemical pollution and climate change interactions on the health of wildlife ». In : *Current Zoology* 61.4, p. 669-689. ISSN : 1674-5507. DOI : 10.1093/czoolo/61.4.669.
- OPCC (2018). *Le changement climatique dans les Pyrénées : impacts, vulnérabilités et adaptation*. Rapp. tech.
- ORIZAOLA, G. et F. BRANA (2006). « Effect of salmonid introduction and other environmental characteristics on amphibian distribution and abundance in mountain lakes of northern Spain ». In : *Animal Conservation* 9.2, p. 171-178. ISSN : 1469-1795. DOI : 10.1111/j.1469-1795.2006.00023.x.
- OROMI, Neus, Delfi SANUY et Ulrich SINSCH (2012). « Altitudinal variation of demographic life-history traits does not mimic latitudinal variation in natterjack toads (*Bufo calamita*) ». In : *Zoology (Jena, Germany)* 115.1, p. 30-37. ISSN : 1873-2720. DOI : 10.1016/j.zool.2011.08.003.
- ORRELL, K. S. et T. H. KUNZ (2016). « Energy Costs of Reproduction ». In : *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*. Elsevier. ISBN : 978-0-12-409548-9.
- OVERGAARD, Johannes, Michael R. KEARNEY et Ary A. HOFFMANN (2014). « Sensitivity to thermal extremes in Australian *Drosophila* implies similar impacts of climate change on the distribution of widespread and tropical species ». In : *Global Change Biology* 20.6, p. 1738-1750. ISSN : 1365-2486. DOI : 10.1111/gcb.12521.
- PILLIOD, David S. et Charles R. PETERSON (2001). « Local and Landscape Effects of Introduced Trout on Amphibians in Historically Fishless Watersheds ». In : *Ecosystems* 4.4, p. 322-333. ISSN : 1432-9840. DOI : 10.1007/s10021-001-0014-3.

- POLO-CAVIA, Nuria, Pablo BURRACO et Ivan GOMEZ-MESTRE (2016). « Low levels of chemical anthropogenic pollution may threaten amphibians by impairing predator recognition ». In : *Aquatic Toxicology* 172, p. 30-35. ISSN : 0166-445X. DOI : 10.1016/j.aquatox.2015.12.019.
- PONT, Didier et al. (2018). « Environmental DNA reveals quantitative patterns of fish biodiversity in large rivers despite its downstream transportation ». In : *Scientific Reports* 8.1, p. 10361. ISSN : 2045-2322. DOI : 10.1038/s41598-018-28424-8.
- PORTNER, Hans-O. (2002). « Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography : systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. » In : *Comparative Biochemistry and physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology* 132.4, p. 739-761. ISSN : 1095-6433, 1531-4332. DOI : 10.1016/s1095-6433(02)00045-4.
- PORTNER, Hans-O., Christian BOCK et Felix C. MARK (2017). « Oxygen- and capacity-limited thermal tolerance : bridging ecology and physiology ». In : *Journal of Experimental Biology* 220.15, p. 2685-2696. ISSN : 0022-0949, 1477-9145. DOI : 10.1242/jeb.134585.
- POTTIER, Gilles (2012). *Pottier G. 2012. Plan National d'Actions en faveur des Lezards des Pyrenees*. Rapp. tech. Ministere de l'Ecologie.
- POTTIER, Gilles et al. (2021). « Systématique, biologie, écologie, répartition et statut de conservation du Calotriton des Pyrénées *Calotriton asper* (Dugès, 1852) (Amphibia, Urodela, Salamandridae) en France : vers un Plan National d'Actions. » fr. In : *Herp me Societe Herpetologique de France* 3, p. 1-125. ISSN : 2724-9468.
- POUS, Philip de et al. (2016). « Range contraction and loss of genetic variation of the Pyrenean endemic newt *Calotriton asper* due to climate change ». en. In : *Regional Environmental Change* 16.4, p. 995-1009. ISSN : 1436-378X. DOI : 10.1007/s10113-015-0804-3.
- QUARANTA, Angelo et al. (2009). « Why Amphibians Are More Sensitive than Mammals to Xenobiotics ». In : *PLOS ONE* 4.11, e7699. ISSN : 1932-6203. DOI : 10.1371/journal.pone.0007699.
- RAHEL, Frank J. (2007). « Biogeographic barriers, connectivity and homogenization of freshwater faunas : it's a small world after all ». In : *Freshwater Biology* 52.4, p. 696-710. ISSN : 1365-2427. DOI : 10.1111/j.1365-2427.2006.01708.x.
- READING, C. J. (2007). « Linking global warming to amphibian declines through its effects on female body condition and survivorship ». In : *Oecologia* 151.1, p. 125-131. ISSN : 1432-1939. DOI : 10.1007/s00442-006-0558-1.
- RENNER, Susanne S. et Constantin M. ZOHNER (2018). « Climate Change and Phenological Mismatch in Trophic Interactions Among Plants, Insects, and Vertebrates ». In : *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 49.1, p. 165-182. ISSN : 1543-592X, 1545-2069. DOI : 10.1146/annurev-ecolsys-110617-062535.

- ROSENZWEIG, C et al. (2007). « Assessment of observed changes and responses in natural and managed systems ». In : DOI : 10.5167/UZH-33180.
- ROULE, L (1909). In : *Sur les Amphibiens du genre Euproctus*. Séanc. Acad. sci., p. 1092-1094.
- ROWE, CL, WA HOPKINS et C BRIDGES (2003). « Physiological ecology of amphibians in relation to susceptibility to natural and anthropogenic factors ». In : *Amphibian decline : an integrated analysis of multiple stressor effects*, p. 9-57.
- RUPPERT, Krista M., Richard J. KLINE et Md Saydur RAHMAN (2019). « Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding : A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA ». In : *Global Ecology and Conservation* 17, e00547. ISSN : 2351-9894. DOI : 10.1016/j.gecco.2019.e00547.
- RYAN, Travis J. et William A. HOPKINS (2000). « Interaction of Sex and Size and the Standard Metabolic Rate of Paedomorphic *Ambystoma talpoideum* : Size Does Matter ». In : *Copeia* 2000.3. Sous la dir. de Jr. GATTEN R. E., p. 808-812. ISSN : 0045-8511. DOI : 10.1643/0045-8511(2000)000[0808:IOSASA]2.0.CO;2.
- SALO, Palvi et al. (2007). « Alien predators are more dangerous than native predators to prey populations ». In : *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences* 274.1615, p. 1237-1243. DOI : 10.1098/rspb.2006.0444.
- SANCHEZ-HERNANDEZ, Javier, Albert MONTORI et Gustavo A. LLORENTE (2019). « Ontogenetic Dietary Shifts and Food Resource Partitioning in a Stream-Dwelling Urodela Community : Mechanisms to Allow Coexistence Across Seasons ». In : *Russian Journal of Herpetology* 26.3, p. 135. ISSN : 1026-2296. DOI : 10.30906/1026-2296-2019-26-3-135-149.
- SAVINI, D. et al. (2010). « The top 27 animal alien species introduced into Europe for aquaculture and related activities ». In : *Journal of Applied Ichthyology* 26.s2, p. 1-7. ISSN : 1439-0426. DOI : 10.1111/j.1439-0426.2010.01503.x.
- SCHAEFER, Jacob et Ashley WALTERS (2010). « Metabolic cold adaptation and developmental plasticity in metabolic rates among species in the *Fundulus notatus* species complex ». In : *Functional Ecology* 24.5, p. 1087-1094. ISSN : 1365-2435. DOI : 10.1111/j.1365-2435.2010.01726.x.
- SCHLEGEL, Peter A, Wolfgang BRIEGLEB et Boris BULOG (2006). « Revue et nouvelles données sur la sensibilité à la lumière et orientation non-visuelle chez *Proteus anguinus*, *Calotriton asper* et *Desmognathus ochrophaeus* (Amphibiens urodèles hypogés) ». fr. In : *Bulletin de la Societe Herpetologique de France* 118, p. 1-31.
- SCHULTE, Patricia M. (2015). « The effects of temperature on aerobic metabolism : towards a mechanistic understanding of the responses of ectotherms to a changing environment ». In : *Journal of Experimental Biology* 218.12, p. 1856-1866. ISSN : 0022-0949, 1477-9145. DOI : 10.1242/jeb.118851.

- SCRANTON, Katherine et Priyanga AMARASEKARE (2017). « Predicting phenological shifts in a changing climate ». In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114.50. Publisher : Proceedings of the National Academy of Sciences, p. 13212-13217. DOI : 10.1073/pnas.1711221114.
- SEARS, Michael W. (2005). « Resting metabolic expenditure as a potential source of variation in growth rates of the sagebrush lizard ». In : *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Molecular & Integrative Physiology* 140.2, p. 171-177. ISSN : 1095-6433. DOI : 10.1016/j.cbpb.2004.12.003.
- SECONDI, Jean et al. (2016). « Detection of a global aquatic invasive amphibian, *Xenopus laevis*, using environmental DNA ». In : *Amphibia-Reptilia* 37.1, p. 131-136. ISSN : 1568-5381, 0173-5373. DOI : 10.1163/15685381-00003036.
- SEEBACHER, Frank, Craig R. WHITE et Craig E. FRANKLIN (2015). « Physiological plasticity increases resilience of ectothermic animals to climate change ». In : *Nature Climate Change* 5.1, p. 61-66. ISSN : 1758-6798. DOI : 10.1038/nclimate2457.
- SERRA-COBO, J., F. UIBLEIN et J. P. MARTINEZ-RICA (2000). « Variation in sexual dimorphism between two populations of the Pyrenean salamander *Euproctus asper* from ecologically different mountain sites ». In : *BELGIAN JOURNAL OF ZOOLOGY* 130, p. 39-45.
- SILVESTRE, Marc (2011). « L'élevage des urodèles : étude de cinq espèces menacées : *euproctus platycephalus*, *calotriton asper*, *triturus cristatus*, *salamandra salamandra*, *speleomantes strinatii* ». fr. Thèse de doct.
- SINCLAIR, Brent J. et al. (2016). « Can we predict ectotherm responses to climate change using thermal performance curves and body temperatures ? » In : *Ecology Letters* 19.11, p. 1372-1385. ISSN : 1461-0248. DOI : 10.1111/ele.12686.
- SNELL-ROOD, Emilie C. (2013). « An overview of the evolutionary causes and consequences of behavioural plasticity ». In : *Animal Behaviour* 85.5, p. 1004-1011. ISSN : 0003-3472. DOI : 10.1016/j.anbehav.2012.12.031.
- STEARNS, Stephen C. (1989). « The Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity : Phenotypic sources of variation among organisms can be described by developmental switches and reaction norms ». In : *BioScience* 39.7, p. 436-445. ISSN : 0006-3568. DOI : 10.2307/1311135.
- STEFFEN, Will et al. (2011). « The Anthropocene : conceptual and historical perspectives ». In : *Philosophical Transactions of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 369.1938, p. 842-867. DOI : 10.1098/rsta.2010.0327.
- STEVENSON, Robert D., Charles R. PETERSON et Joyce S. TSUJI (1985). « The Thermal Dependence of Locomotion, Tongue Flicking, Digestion, and Oxygen Consumption in the

- Wandering Garter Snake ». In : *Physiological Zoology* 58.1, p. 46-57. ISSN : 0031-935X. DOI : 10.1086/physzool.58.1.30161219.
- STUART, Simon N. et al. (2004). « Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide ». In : *Science (New York, N.Y.)* 306.5702, p. 1783-1786. ISSN : 1095-9203. DOI : 10.1126/science.1103538.
- STYNOSKI, Jennifer L. et Virginia R. NOBLE (2012). « To beg or to freeze : multimodal sensory integration directs behavior in a tadpole ». In : *Behavioral Ecology and Sociobiology* 66.2, p. 191-199. ISSN : 1432-0762. DOI : 10.1007/s00265-011-1266-3.
- TAYLOR, Emily N. et al. (2020). « The thermal ecology and physiology of reptiles and amphibians : A user's guide ». In : *Journal of Experimental Zoology Part A : Ecological and Integrative Physiology* 1.32. ISSN : 2471-5646. DOI : 10.1002/jez.2396.
- TEAM, R Core (2019). *R : A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria. URL : <https://www.R-project.org/>.
- TERBLANCHE, John S. et al. (2009). « Directional Evolution of the Slope of the Metabolic Rate-Temperature Relationship Is Correlated with Climate ». In : *Physiological and Biochemical Zoology* 82.5, p. 495-503. ISSN : 1522-2152. DOI : 10.1086/605361.
- THOMPSON, M. M. et al. (2018). « Major global changes interact to cause male-biased sex ratios in a reptile with temperature-dependent sex determination ». en. In : *Biological Conservation* 222, p. 64-74. ISSN : 0006-3207. DOI : 10.1016/j.biocon.2018.03.006.
- TIBERTI, Rocco, Giuseppe BOGLIANI et al. (2018). « Recovery of high mountain Alpine lakes after the eradication of introduced brook trout *Salvelinus fontinalis* using non-chemical methods ». In : *Biological Invasions*. ISSN : 1573-1464. DOI : 10.1007/s10530-018-1867-0.
- TIBERTI, Rocco, Stefano BRIGHENTI et al. (2016). « The diet of introduced brook trout (*Salvelinus fontinalis* ; Mitchill, 1814) in an alpine area and a literature review on its feeding ecology ». In : *Journal of Limnology* 75.3. ISSN : 1723-8633. DOI : 10.4081/jlimnol.2016.1366.
- TIBERTI, Rocco et Achaz von HARDENBERG (2012). « Impact of introduced fish on Common frog (*Rana temporaria*) close to its altitudinal limit in alpine lakes ». en. In : *Amphibia-Reptilia* 33.2, p. 303-307. ISSN : 0173-5373, 1568-5381. DOI : 10.1163/156853812X634044.
- TIBERTI, Rocco, Achaz von HARDENBERG et Giuseppe BOGLIANI (2014). « Ecological impact of introduced fish in high altitude lakes : a case of study from the European Alps ». In : *Hydrobiologia* 724.1, p. 1-19. ISSN : 1573-5117. DOI : 10.1007/s10750-013-1696-1.
- TROCHET, Audrey, Marine DELUEN et al. (2019). « Body Size Increases with Elevation in Pyrenean Newts (*Calotriton asper*) ». In : *Herpetologica* 75.1, p. 30. ISSN : 0018-0831. DOI : 10.1655/0018-0831-75.1.30.

- TROCHET, Audrey, Andreaz DUPOUE et al. (2018). « Variation of preferred body temperatures along an altitudinal gradient : A multi-species study ». In : *Journal of Thermal Biology* 77, p. 38-44. ISSN : 0306-4565. DOI : 10.1016/j.jtherbio.2018.08.002.
- UUSI-HEIKKILA, Silva et al. (2015). « The evolutionary legacy of size-selective harvesting extends from genes to populations ». In : *Evolutionary Applications* 8.6, p. 597-620. ISSN : 1752-4571. DOI : <https://doi.org/10.1111/eva.12268>.
- VALERY, Loic et al. (2009). « Invasive species can also be native... » In : *Trends in Ecology & Evolution* 24.11, p. 585. ISSN : 0169-5347. DOI : 10.1016/j.tree.2009.07.003.
- WAKE, David B. (1991). « Declining Amphibian Populations ». In : *Science* 253.5022, p. 860-860. DOI : 10.1126/science.253.5022.860.
- WALTERS, Benjamin T. et al. (2017). « Too important to tamper with : predation risk affects body mass and escape behaviour but not escape ability ». In : *Functional Ecology* 31.7, p. 1405-1417. ISSN : 1365-2435. DOI : 10.1111/1365-2435.12851.
- WEERATHUNGA, W. A. Manasee T. et Gayani RAJAPAKSA (2020). « The impact of elevated temperature and CO2 on growth, physiological and immune responses of *Polypedates cruciger* (common hourglass tree frog) ». In : *Frontiers in Zoology* 17.1, p. 3. ISSN : 1742-9994. DOI : 10.1186/s12983-019-0348-3.
- WEHRLY, Kevin E., Lizhu WANG et Matthew MITRO (2007). « Field-Based Estimates of Thermal Tolerance Limits for Trout : Incorporating Exposure Time and Temperature Fluctuation ». In : *Transactions of the American Fisheries Society* 136.2, p. 365-374. ISSN : 0002-8487. DOI : 10.1577/T06-163.1.
- WEST-EBERHARD, Mary Jane (2003). *Developmental Plasticity and Evolution*. Oxford University Press. ISBN : 978-0-19-802856-7.
- WHITFIELD, Steven M. et al. (2007). « Amphibian and reptile declines over 35 years at La Selva, Costa Rica ». In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104.20, p. 8352-8356. ISSN : 0027-8424, 1091-6490. DOI : 10.1073/pnas.0611256104.
- WHITFORD, Walter G. (1973). « The Effects of Temperature on Respiration in the Amphibia ». In : *Integrative and Comparative Biology* 13.2, p. 505-512. ISSN : 1540-7063. DOI : 10.1093/icb/13.2.505.
- WILLIAMS, John W. et Stephen T. JACKSON (2007). « Novel climates, no-analog communities, and ecological surprises ». In : *Frontiers in Ecology and the Environment* 5.9, p. 475-482. ISSN : 1540-9309. DOI : 10.1890/070037.
- YUAN, Felix Landry et al. (2021). « Predator presence and recent climatic warming raise body temperatures of island lizards ». In : *Ecology Letters* 24.3, p. 533-542. ISSN : 1461-0248. DOI : <https://doi.org/10.1111/ele.13671>.
- ZAGAR, Anamarija et al. (2015). « The role of metabolism in understanding the altitudinal segregation pattern of two potentially interacting lizards ». In : *Comparative Biochemistry*

and Physiology Part A : Molecular & Integrative Physiology 179, p. 1-6. ISSN : 1095-6433.
DOI : 10.1016/j.cbpa.2014.08.018.

RÉSUMÉ

Les changements globaux de l'Anthropocène exposent les organismes à des stress biotiques et abiotiques croissants. Si le réchauffement climatique constitue une menace pour la biodiversité, l'introduction d'espèces peut aussi modifier le fonctionnement des écosystèmes. Ces deux composantes du changement global constituent des enjeux majeurs au sein des territoires montagnards et peuvent entraîner des modifications sur la répartition et la pérennité des espèces locales. Urodèle endémique vulnérable, le Calotriton des Pyrénées (*Calotriton asper*; Dugès, 1852) est présent sur tout le massif montagneux sur un gradient altitudinal large. Comme tout amphibien, cette espèce est menacée par les changements globaux et constitue un bioindicateur de la santé des écosystèmes aquatiques montagnards. L'étude de son écologie est cruciale pour une gestion adaptée à l'espèce et au territoire. Bien que ses traits d'histoire de vie soient documentés, peu d'études se sont concentrées sur l'impact des changements globaux sur son écophysiologie, pourtant déterminant pour la compréhension des mécanismes de survie des populations. Cette thèse s'inscrit donc dans cet objectif en étudiant l'impact des températures et de la présence de Salmonidés introduits sur *C. asper* à partir d'expérimentations en laboratoire et de suivi *in situ*.

J'ai d'abord mesuré l'impact de la température sur la physiologie de *C. asper* le long d'un gradient altitudinal. La mesure du taux métabolique standard par respirométrie sur un gradient thermique large a montré une réaction physiologique aux températures élevées plus importante chez les Calotritons de haute altitude que ceux de basse altitude. Ces résultats suggèrent une sensibilité plus grande à l'élévation des températures chez les populations en marge haute de l'aire de répartition et questionnent leur pérennité face au réchauffement climatique. Ensuite, j'ai démontré l'intérêt des outils moléculaires pour la gestion de *C. asper*. La présence de l'espèce a pu être confirmée ou infirmée via l'analyse d'ADN environnemental sur des sites favorables difficiles à prospecter. Ensuite, l'analyse de l'ADN fécal a permis d'es-

timer la prédation du Calotriton par une espèce de Salmonidé : la truite fario (*Salmo trutta* L. 1758). Ces résultats démontrent la pertinence des outils moléculaires pour le suivi d'une espèce discrète et suggèrent une pression de prédation qui pourrait nuire aux petites populations de Calotritons. Enfin, j'ai étudié simultanément ces deux composantes du changement global afin d'estimer leurs effets combinés sur la physiologie de *C. asper*. Le taux métabolique standard a été mesuré par respirométrie en présence et en absence de *S. trutta*, à différentes températures. Bien que la présence de truites n'a induit aucun effet direct, elle a entraîné une diminution de l'activité métabolique en condition chaude, montrant une perturbation de la réponse physiologique normale à la température. De plus, les populations de Calotriton en sympatrie avec *S. trutta* ont présenté un taux métabolique plus important que les populations allopatriques. Ces résultats suggèrent un impact physiologique délétère sur le long terme pour les populations sympatriques.

Ce travail met à disposition des gestionnaires une méthode génétique non invasive de suivi *in situ*, et montre que les salmonidés introduits agissent directement par prédation sur la dynamique du Calotriton, et indirectement avec le réchauffement climatique en perturbant la physiologie de l'espèce. Ces composantes du changement global semblent avoir des impacts différents suivant l'écosystème des populations. Cela confirme les différences biologiques historiquement observées au sein de l'espèce et traduit probablement la variabilité de l'héritage évolutif de *C. asper*. La mise en place de mesures de gestion adaptées localement intégrant les activités de pêche et ses acteurs est indispensable pour tenir compte des spécificités propres à chaque population.

ABSTRACT

Global change of Anthropocene exposes organisms to increasing biotic and abiotic stresses. While global warming is a threat to biodiversity, the introduction of species can also modify the functioning of ecosystems. These two components of global change are major issues in mountain areas and can lead to changes in the distribution and sustainability of local species. A vulnerable endemic urodele, the Pyrenean brook newt (*Calotriton asper*; Dugès, 1852) is present throughout the mountainous massif over a wide altitudinal gradient. Like all amphibians, this species is threatened by global change and is a bioindicator of the health of mountain aquatic ecosystems. The study of its ecology is crucial for management adapted to the species and the territory. Although its life-history traits have been documented, few studies have focused on the impact of global change on its ecophysiology, which is a determining factor in understanding the mechanisms of population survival. This thesis is in line with this objective by studying the impact of temperature and the presence of introduced Salmonidae on *C. asper* from laboratory experiments and *in situ* monitoring.

I first measured the impact of temperature on the physiology of *C. asper* along an altitudinal gradient. Measurement of standard metabolic rate by respirometry across a broad thermal gradient showed a greater physiological response to elevated temperatures in high altitude individuals than in low altitude ones. These results suggest greater sensitivity to rising temperatures in populations at the high range margin and question their sustainability in the face of global warming. Second, I demonstrated the value of molecular tools for the management of *C. asper*. The presence of the species could be confirmed or denied via environmental DNA analysis on favorable sites that are difficult to survey. Then, the analysis of fecal DNA made it possible to estimate the predation of *C. asper* by a Salmonid species: the brown trout (*Salmo trutta* L. 1758). These results demonstrate the relevance of molecular tools for monitoring a discrete species and suggest predation pressure that may be affecting small *C.*

asper populations. Finally, I studied these two components of global change simultaneously to estimate their combined effects on *C. asper* physiology. Standard metabolic rate was measured by respirometry in the presence and absence of *S. trutta* at different temperatures. Although the presence of trout induced no direct effect, it did result in a decrease in metabolic activity under warm conditions, showing disruption of the normal physiological response to temperature. In addition, *C. asper* populations in sympatry with *S. trutta* showed a higher metabolic rate than allopatric populations. These results suggest a long-term deleterious physiological impact on sympatric populations.

This work provides managers a non-invasive genetic method of monitoring *in situ* and shows that introduced salmonids act directly by predation on the dynamics of *C. asper*, and indirectly with global warming by disrupting the physiology of the species. These components of global change seem to have different impacts depending on the ecosystem of the populations. This confirms the biological differences historically observed within the species and likely reflects the variability of the evolutionary legacy of *C. asper*. The implementation of locally adapted management measures integrating the fishing activities and their actors is essential to take into account the specificities of each population.