

• Niche thermique de la Grenouille des Pyrénées (*Rana pyrenaica*)

Auteur : Frank D'Amico

Les amphibiens sont parmi les taxons, à l'échelle de la planète, les plus impactés par le changement climatique (ARAUJO *et al.*, 2006a ; RUIZ-ARAVENA *et al.*, 2014). Les raisons qui font de la Grenouille des Pyrénées une espèce sentinelle du climat sont exposées plus en détail dans ce rapport à la section §8.5. Alors que l'écophysiologie de la Grenouille des Pyrénées est totalement méconnue, un enjeu majeur est de pouvoir poser les bases de l'évaluation du risque d'extinction de cette espèce. Une question essentielle est : la petite taille de *Rana pyrenaica* et son cycle de vie dans en rivière confèrent-ils une vulnérabilité accrue de l'espèce au changement climatique ?

Préalable indispensable à la modélisation du risque d'extinction, et à la compréhension des facteurs qui y sont liés, une connaissance approfondie de l'écophysiologie de l'espèce est nécessaire. Cette connaissance fait cruellement défaut pour la Grenouille des Pyrénées, une espèce découverte tout récemment. Qui plus est, les réponses des grenouilles (et des amphibiens en général) sont plus complexes et plus subtiles que celles des lézards : le risque de disparition est élevé quand des températures élevées de l'air (T_{air}) restreignent l'activité pendant les périodes de reproduction, mais il dépend aussi des conditions thermiques (T_{sol}) et hydriques (Ψ_{sol}) du sol (les deux pouvant être liées aux impacts des sécheresses sur les plantes par exemple) et d'autres facteurs indépendants du changement climatique. Un autre défi lié à l'étude des amphibiens réside dans la réalisation d'un cycle vital qui intègre des stades aussi différents que le stade juvénile (têtards aquatiques) et que le stade adulte (en milieu terrestre) : à la différence des têtards, les adultes de cette espèce sont rares (effectifs faibles) et rarement observés du mois durant la journée. Qui plus est, leur inscription dans la liste rouge régionale au sein de la catégorie « en danger » confère à cette espèce un niveau particulier de soins apportés lors de toute étude, a fortiori si celle-ci implique une capture des individus. Pour ces raisons, les réponses des adultes sont étudiées de façon indirecte, non invasive et encore moins destructives au moyen de dispositifs expérimentaux transportables sur le terrain qui permettent, en répétant les observations sous différentes conditions climatiques de caractériser sous forme d'équations généralisables certains aspects de l'écophysiologie des individus et leur réponse face au réchauffement.

Sachant que la physiologie de cette espèce et la sensibilité relative au changement climatique des stades de vie (œufs vs têtards vs adultes) est inconnue, plusieurs hypothèses ont été formulées, dont les deux plus structurantes sont :

- (H1)- la phase larvaire est la plus dépendante au changement climatique du cycle de vie (seule la température T_{eau} intervient); la vulnérabilité de la phase adulte dépend des températures de l'air (T_{air}) et des conditions thermiques (T_{sol}) et hydriques (Ψ_{sol}) du sol, auxquels s'ajoutent d'autres facteurs (e.g. parasitoses) indépendants du changement climatique.
- (H2)- le risque d'extinction augmente avec l'élévation de T_{eau} (qui diminue la performance et la vigueur d'activité des têtards) et de T_{air} (qui restreint l'activité des adultes pendant la période critique de reproduction et qui augmente les risques de déshydratation).

En 2017, l'objectif était d'estimer pour la première fois quelques paramètres descripteurs spécifiques de la niche thermique des têtards (MALLARD, 2017b) en développant deux approches complémentaires, l'une basée sur les courbes de performance thermique (HUEY & KINGSOLVER, 1989 ; ANGILLETTA *et al.*, 2002 ; HUEY *et al.*, 2012 ; SINCLAIR *et al.*, 2016) ; et l'autre –innovante– construite sur les courbes de vigueur d'activité (GUNDERSON & LEAL, 2016). Plusieurs décennies de recherche ont démontré la pertinence de l'approche et les publications citées ci-dessus décrivent ce que sont les courbes de performance thermique et ce que l'on en peut en tirer leur intérêt. Rappelons qu'une « courbe de performance » ou de « fitness » thermique sert de descripteur pratique de la façon dont un changement de la température corporelle (T_b) influe sur la sensibilité physiologique et l'aptitude des ectothermes. Loin d'être une approche figée, il s'agit au contraire d'un champ en pleine dynamique avec de nouveaux développements proposés, comme celui basé sur la mesure de l'activité, comme alternative à la performance (GUNDERSON & LEAL, 2016). Sur la gamme de température testée sur le terrain, allant de 9 à 20°C, la construction de courbe sur une large gamme de température a apporté les estimations suivantes : 13,1°C à 13,3°C selon la performance envisagée sachant que trois types ont été mesurés. Les premiers résultats indiquent que les têtards de cette espèce pourraient être qualifiés de « généralistes » avec une largeur de performance très importante au vue de la gamme de température qu'offre le milieu aquatique. Ces résultats sont cohérents, puisque ces organismes semblent se rapprocher de la thermoconformité (peu de possibilité de thermorégulation comportementale) et que leur habitat thermique est très variable. Toutefois, la variabilité naturelle des cours d'eau, à la fois dans l'espace et au cours du cycle naturel, n'est pas connue.

En 2018, l'UPPA s'attache à caractériser cette variabilité spatio-temporelle du milieu de développement des têtards et démarre l'étude des réponses des individus adultes de Grenouille des Pyrénées : les premières expériences sur l'effet possible des variations de température sur les adultes, dans leur habitat naturel, ont été conduites en privilégiant une approche basée sur l'emploi de modèles biomimétiques en agarose.

– Matériel et méthodes

Le premier volet méthodologique porte sur la caractérisation de la variabilité spatio-temporelle du milieu de développement des têtards ; ce volet était manquant lors du démarrage de l'étude de terrain conduite en 2017 sur les performances thermiques des têtards et n'a pu être amorcé que tardivement, durant l'été 2017, après réception du matériel de mesures (sondes HOBO Onset) qui n'a été effective qu'au 23 juin 2017. Le deuxième volet est totalement nouveau, même s'il s'agit d'une question dont l'intérêt remonte à longtemps déjà (cf. par exemple (THORSON & SVIHLA, 1943), à une période où les moyens de recherche étaient très différents : il concerne la modélisation indirecte des réponses des individus adultes de Grenouille des Pyrénées au moyen de modèles biophysiques biomimétiques.

- Volet 1 : caractérisation du microclimat et de la variabilité spatio-temporelle du milieu des différents habitats utilisés lors du cycle vital

Cette caractérisation se fait dans une logique dynamique, à la fois sur les sites fréquentés par les populations locales existantes mais aussi sur des sites où l'espèce est absente mais qui correspondent aux conditions qui seront vraisemblablement prévalentes dans le futur. A cet effet, outre l'instrumentation des quatre sites de présence actuelle connue, deux autres sites ont été équipés de sondes enregistreuses et correspondent d'une part à un ruisseau en milieu ouvert et, d'autre part, à un ruisseau en milieu fermé, les deux étant exposés à des températures plus élevées que sur les sites de

présence connue et susceptibles de connaître un étiage estival prononcé voire un assèchement saisonnier.

En rivière, deux types de sondes de marque Onset™ ont été utilisés ; il s'agit des modèles étanches HOBO Water Temp Pro v2 (U22-001) et Tidbit v2 (UTBI-001). L'installation de ces sondes sur les sites de présence de *Rana pyrenaica* est illustrée aux Fig. 18–Fig. 20. En milieu terrestre, il s'agit du modèle HOBO Pro v2 6' Ext T/RH (U23-002) dont plusieurs exemplaires ont été déployés dès le début du programme par Cistude Nature et dont les résultats seront utilisés pour modéliser d'une part les variations interannuelles d'abondance de têtards (voir § 8.5 du présent rapport) et d'autre part la répartition actuelle et future de l'espèce sous différents scénarii (voir § discussion).

Dans un milieu aussi variable et aussi contraignant qu'est un torrent de montagne, l'installation de sondes dans l'eau est particulièrement délicate ; même un petit ruisseau de moins d'un mètre de largeur peut devenir un véritable torrent fait de plusieurs bras qui s'écoulent sur une dizaine de mètres de largeur. En période de crues, les débits peuvent être très importants et les vitesses d'écoulement très fortes ; le déplacement des matériaux solides du lit de la rivière est important, y compris de matériaux volumineux comme des pierres et des galets, voire des blocs. A cela s'ajoute une érosion du lit des berges, qui est survenue au moins une fois pendant le printemps 2018. Dans ces conditions, il est important d'assurer une fixation à la fois flexible et solide des sondes, avec la contrainte de ne pas avoir à modifier le milieu naturel (pas d'emploi de ciment ou autre moyen de fixation). Les sondes ont été fixées à un ancrage solide naturel (racine d'arbre en général) sur les berges au moyen d'un câble métallique de quelques dizaines de centimètres permettant l'immersion de la sonde. Après installation, la sonde est recouverte de galets et blocs de façon à masquer l'installation aux yeux d'éventuels promeneurs et pêcheurs et à assurer une mesure réelle de la température de l'eau (et non de l'air lors d'une éventuelle exondation). Remplir tous ces critères est délicat, et malgré cela, même en assurant le meilleur compromis, plusieurs sondes ont été emportées lors de crues survenues lors de cette année hydrologique marquée par des crues fortes et fréquentes ou bien ont été enfouies sous plusieurs dizaines de centimètres de matériaux déplacés (pierres et galets).



Fig. 18. Installation sur le terrain d'une sonde Onset HOBO Water Temp Pro v2 étanche (modèle U22-001).



Fig. 19. Sonde Onset HOB0 Water Temp Pro v2 étanche (modèle U22-001) une fois installée sur le site de Lecumberry I, au centre de la photo (cercle rouge).



Fig. 20. Ancrage sur le terrain d'une sonde Onset Tidbit v2 (UTBI-001).

- Volet 2 : Etude écophysiological de *Rana pyrenaica* et caractérisation de sa niche thermique au cours de son cycle vital

Les amphibiens (comme tous les ectothermes) sont dépendants de leur environnement vis-à-vis de la chaleur et de l'humidité ; ils sélectionnent donc vraisemblablement des habitats qui fournissent les valeurs les plus appropriées de celles-ci. Étant donné que les températures corporelles (souvent notées T_b) sélectionnées affectent leur développement, leur physiologie et leur comportement, il est essentiel de suivre les variations de cette température corporelle pour comprendre leur écologie (ROZNIK & ALFORD, 2014).

Comme pour les lézards, des modèles physiques biomimétiques ont également été utilisés pour étudier la biologie thermique des amphibiens. Toutefois, tant la conception que l'utilisation de tels modèles biophysiques pour les amphibiens sont compliquées par l'effet de refroidissement que procure l'évaporation à la surface du corps, avec pour conséquence une baisse de la température corporelle (T_b); pour cette raison, les modèles biophysiques d'amphibiens doivent rester humides. Divers objets ont été utilisés pour imiter les propriétés thermiques des amphibiens, notamment des amphibiens morts (SEEBACHER & ALFORD, 2002), des avatars en agarose (NAVAS & ARAUJO, 2000 ; ROZNIK & ALFORD, 2014), et en plâtre (TRACY *et al.*, 2007), des éponges (HASEGAWA *et al.*, 2005) et aussi des moulages ou des tubes en cuivre recouverts de coton ou de tissu humide (BARTELT & PETERSON, 2005).

Avec plus ou moins d'efficacité selon les cas, de tels modèles biophysiques simulent les propriétés thermiques d'un animal à l'état d'équilibre (SHINE & KEARNEY, 2001). En intégrant un certain nombre de variables environnementales et d'attributs physiques de l'animal, ils produisent une mesure significative appelée température ambiante opérante (T_e), qui est –comme pour les lézards cf. § Niche thermique des lézards. – une approximation de la température corporelle de l'animal. De façon plus précise, la température opérante (T_e) est définie comme étant la température du corps d'un animal s'il était en équilibre thermique avec le milieu, en l'absence d'élévation de température métabolique ou de refroidissement par évaporation (ANGILLETTA *et al.*, 2002 ; DZIALOWSKI, 2005). Elle est mesurée avec des modèles physiques disposés dans l'environnement ou avec des équations mathématiques décrivant le transfert de chaleur en condition d'équilibre, entre l'animal et l'environnement (DZIALOWSKI, 2005). Dans le cadre de cette étude, des modèles biophysiques (appelés aussi biomimétiques) sont choisis. Parce que les mesures de T_e caractérisent les températures d'équilibre disponibles pour un animal dans son environnement, les modèles biophysiques sont réellement utiles pour en apprendre davantage sur la thermorégulation, sur les conséquences de la sélection d'un microhabitat fonctionnel par exemple (HUEY, 1991), comme l'est un gîte (gîte nocturne ou diurne pour échapper à une insolation trop forte).

Pour la grenouille des Pyrénées, comme pour l'étude des lézards, les températures opérantes* (T_e) sont mesurées en utilisant des thermocouples (sondes HOB0 Onset) placés dans des modèles biomimétiques qui imitent les propriétés thermiques et hydriques des amphibiens adultes. L'approche expérimentale simule les changements écophysiologicals (taux de perte d'eau et variation de température corporelle) survenant en fonction de l'humidité relative et de la température. Le protocole retenu suit le design expérimental de B. Sinervo, O. Jimenez & V. Luja (communication personnelle avec F. D'Amico) à 2x2 facteurs sur un cycle de 24 h, avec des conditions climatiques contrastées. Pour cette étude, après discussion avec Barry Sinervo (Université de Californie à Santa Cruz – USA) et Donald Miles (Université de l'Ohio – USA), et dans un souci d'harmonisation des protocoles d'autres études réalisées à l'échelle mondiale, les modèles biomimétiques choisis dans le

cadre du programme les sentinelles du climat sont des avatars en agarose (NAVAS & ARAUJO, 2000). Le protocole pour la construction de ceux-ci est conforme aux descriptions originales (NAVAS & ARAUJO, 2000) : les avatars en agarose (agar Sigma-Aldrich ref A1296-5000) sont coulés dans des moules en latex fournis à F. D'Amico par B. Sinervo comme l'illustre la Fig. 21. Leur pesée s'effectue au moyen d'une balance de précision (modèle Kern EMB-202, précision 0.01 g). Leur déploiement sur le terrain a été adapté aux questionnements du programme les sentinelles du climat par F. D'Amico. Après chaque visite de terrain, le matériel (notamment les bottes) est désinfecté au moyen d'un viricide (Virkon ®).

Comme rappelé dans la formulation des hypothèses de travail (H1 et H2), la vulnérabilité des individus au stade adulte dépend des températures de l'air (T_{air}) et des conditions thermiques (T_{sol}) et hydriques (Ψ_{sol}) du sol, auxquels s'ajoutent d'autres facteurs (e.g. parasitoses) indépendants du changement climatique. Une hypothèse forte est qu'une hausse de la température de l'air (T_{air}) augmente les risques de déshydratation. Cette hypothèse est déclinée de façon plus détaillée en trois sous-hypothèses (H2a, H2b et H2c), testées au moyen du dispositif expérimental utilisant les modèles biomimétiques en agarose :

(H2a) – la hausse de température de l'air a des effets plus marqués en journée que pendant la période nocturne d'activité des adultes,

(H2b) – le risque de déshydratation, et donc la vulnérabilité au changement climatique, des adultes dépend de l'habitat utilisé : il est plus fort en habitat « ouvert » qu'en habitat « fermé »,

(H2c) – le risque de déshydratation, et donc la vulnérabilité au changement climatique, est accru pour les espèces de petite taille.

Pour un test bilatéral, la traduction des hypothèses H2a, H2b et H2c en hypothèse statistique nulle (H_0 sensu stricto) serait la suivante:

(H2a) – la déshydratation des modèles en agarose pendant la journée est égale à la déshydratation des modèles pendant la nuit,

(H2b) – la déshydratation des modèles en agarose dans un habitat « ouvert » (milieu herbacé, éloigné du couvert forestier) est égale à la déshydratation des modèles en habitat « fermé » (sous couvert forestier),

(H2c) – la déshydratation des modèles en agarose de petite taille (i.e. celle de la Grenouille des Pyrénées) est égale à la déshydratation des modèles de grande taille (par exemple la Grenouille rousse, espèce compétitrice potentielle).

Au plan pratique, une expérience de terrain selon un design 2x2 a été mis en place avec deux facteurs contrôlés au cours du cycle nyctéméral (alternance jour/nuit) : d'une part le facteur « habitat » (deux modalités : « ouvert » vs « fermé ») et d'autre part le facteur taille (deux modalités : « petite » vs « grande »).



Fig. 21. Moules en latex et modèles biomimétiques en agarose utilisés pour les expérimentations de déshydratation. Les modèles sont couplés sur le terrain à une sonde Onset HOB0 prov2 TT et pesés au moyen de la balance de précision portable Kern EMB-202 (précision 0,01 g).

– Résultats exploratoires

1. Caractérisation du microclimat et de la variabilité spatio-temporelle du milieu des différents habitats utilisés lors du cycle vital

Seules les sondes étanches installées sur les sites d'Estérençuby et d'Aspe ouest ont livré des résultats, avec des imperfections (cf infra). Les autres sondes installées, que ce soient des Hobo Water Temp Pro v2 Logger (OnsetTM), sur les sites de Lecumberry I et de Aspe Est I et Aspe Est II sont perdues, emportées par les crues importantes de l'année hydrologique écoulée ou enfouies sous plusieurs m³ de sédiments mobilisés par ces crues. Les variations de température des cours d'eau sur les sites de présence de *Rana pyrenaica* au cours d'un cycle annuel suivent la variation saisonnière attendue sous ce type de climat atlantique, comme l'illustre la Fig. 22, avec des températures minimales* pendant l'hiver de l'ordre de 4 ° C et des températures maximales* au cours de l'été de l'ordre de 17 ° C (inférieures à 20 ° C). La température moyenne annuelle mesurée entre août 2017 et août 2018 est de l'ordre de 10 ° C comme l'exprime le Tab. III. Dans ses variations, et dans sa valeur moyenne, la température de l'eau est plus élevée sur le site de la vallée d'Aspe (T_{moy} = 10,1 ° C) par rapport au site du pays basque (T_{moy} = 9,1 ° C), ce qui est un résultat attendu compte tenu de l'altitude différente de ces sites (Aspe : 750 m versus Pays basque = 900 mètres).

Il est important de noter que certaines valeurs sont des artefacts de mesure les variations importantes (pointillés rouges notamment sur la courbe des températures) en raison d'exondations passagères de la sonde thermique. Malgré ces erreurs météorologiques ponctuelles, les données obtenues sont les premières jamais enregistrées pour caractériser l'environnement thermique de *Rana pyrenaica* au cours de son cycle annuel.

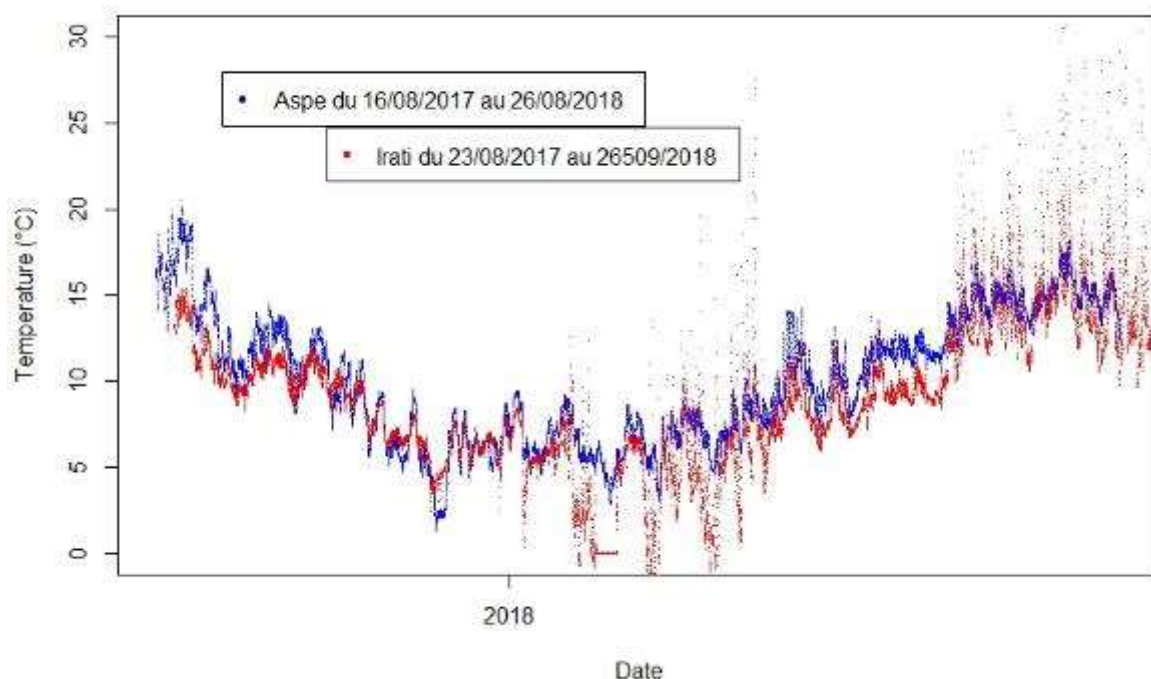


Fig. 22. Graphe de variation des températures de l'eau de ruisseaux représentatifs du milieu de vie de *Rana pyrenaica* en vallée d'Aspe (courbe en bleu: ruisseau du site d'Aspe Ouest, entre le 16/08/2017 et le 26/08/2018) et au pays basque (courbe en rouge: ruisseau du site d'Estérençuby, entre le 23/08/2017 et le 26/09/2018).

L'étiquette "2018" en abscisse représente le 1er janvier 2018. Nota: les variations importantes (pointillés rouges notamment) peuvent être ou sont effectivement des artefacts liés à des exondations passagères de la sonde thermique

Tab. III. Statistiques descriptives des variations annuelles (2017-2018) des températures de l'eau de ruisseaux représentatifs du milieu de vie de *Rana pyrenaica* en vallée d'Aspe (en bleu: ruisseau du site de Aspe ouest, entre le 16/08/2017 et le 26/08/2018) et en forêt d'Irati (en rouge: ruisseau du site d'Estérençuby, entre le 23/08/2017 et le 26/09/2018).

Abréviations utilisées: T_{min} = température minimale, Q1 = 1er quartile, T_{med} = température médiane, T_{moy} = température moyenne, Q3 = 3ème quartile et T_{max} = température maximale. Les unités (°C) sont des degrés Celsius.

	T_{min} (°C)	Q1 (°C)	T_{med} (°C)	T_{moy} (°C)	Q3 (°C)	T_{max} (°C)
Aspe	1.29*	6.86	9.83	10.08	13.09	20.46*
Irati	-8.26**	6.38*	8.99*	9.14*	11.81*	33.65**

Nota: en raison des exondations passagères de la sonde enregistreuse, les valeurs indiquées avec un astérisque (*) comportent des erreurs; les valeurs indiquées avec deux astérisques (**) sont des valeurs "aberrantes" qui décrivent les températures minimales et maximales de l'air au-dessus du ruisseau, et non dans l'eau, lors d'étiages ponctuels ou prolongés.

Au moment du rendu du rapport (novembre 2018), les données de température du proche bassin versant et des différents habitats utilisés lors du cycle vital sur des sites aux caractéristiques extrêmes (susceptibles d'imiter les conditions futures dans la logique du réchauffement) ne sont pas analysées. Leur traitement se fera prochainement, en conjonction avec l'analyse des données des stations météorologiques acquises par ailleurs dans le cadre du programme les sentinelles du climat sur les différents sites de présence actuelle.

2. Modélisation *in situ* de la réponse au changement climatique chez *Rana pyrenaica*: premiers tests d'un suivi expérimental de la déshydratation

Les premiers essais ont été réalisés en 2018 sous différentes conditions de température. Un premier résultat est fourni à la Fig. 23: l'axe horizontal découpe le cycle nyctéméral en quatre périodes (nuit, matin, après-midi et soir) tandis que l'axe vertical, orienté vers le bas, traduit en pourcentage les pertes de masse des modèles en agarose (imitant les pertes de masse corporelle). A gauche, apparaissent les résultats de l'expérience menée en habitat ouvert (prairial) et à droite, ceux de l'expérience menée en habitat fermé (sous couvert forestier). Les rectangles de couleur bleue décrivent les pertes de masse chez les avatars de petite taille (ici la taille d'une grenouille des Pyrénées) tandis que les rectangles de couleur rouge représentent les pertes de masse chez les avatars de grande taille (ici par exemple celle d'une grenouille rousse).

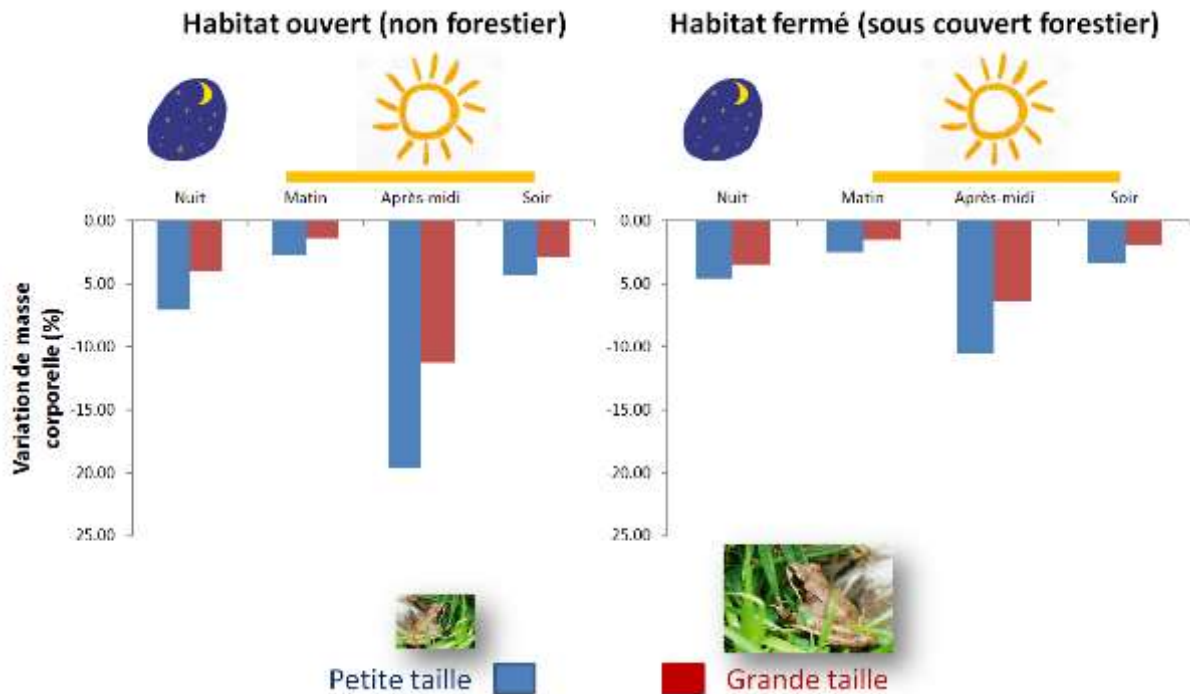


Fig. 23. Premiers résultats issus des expériences de déshydratation expérimentale.

Bien qu'il faille répéter ces expériences plusieurs fois, et conduire les tests statistiques appropriés (ANOVA ou GLM), trois premières « leçons » peuvent être tirées de ce premier essai à titre exploratoire:

« Leçon » 1/ le taux de déshydratation observé serait plus fort chez les modèles en agarose de petite taille,

« Leçon » 2/ au cours du cycle nyctéméral, le taux de déshydratation observé différerait en étant plus prononcé l'après-midi, et le moins prononcé le matin,

« Leçon » 3/ le taux de déshydratation observé serait plus fort en habitat ouvert.

– Discussion

Les expériences avec les modèles biomimétiques en agarose sont conçues pour comprendre la vulnérabilité de la grenouille des Pyrénées au réchauffement climatique, en utilisant des substituts (les avatars en agarose) qui permettent de conduire des expériences sur le terrain (SINCLAIR *et al.*, 2016) sans impliquer la capture d'individus adultes de l'espèce étudiée, considérée comme trop rare (l'espèce est inscrite dans la catégorie EN DANGER de la liste rouge régionale) et dont l'occurrence sur le terrain est faible. Les deux hypothèses sous-jacentes à ces expériences sont les suivantes: i/ le comportement face à la déshydratation des modèles en agarose est comparable à celui des vraies grenouilles (vérifié par plusieurs auteurs (SCHWARZKOPF & ALFORD, 1996 ; SEEBACHER & ALFORD, 2002 ; ROZNIK & ALFORD, 2014), et ii/ le taux de déshydratation est directement lié au réchauffement climatique (la perte de masse est accrue avec une élévation des températures).

Si les premiers résultats des essais avec les modèles en agarose (qui devront être obtenus en répétant l'expérience sous différentes conditions plusieurs dizaines de fois) sont confirmés – et de façon statistiquement significative –, l'interprétation des trois leçons exploratoires formulées dans la section « résultats » plus haut, serait la suivante:

1/ *si* le taux de déshydratation observé est toujours plus fort chez les modèles en agarose de petite taille, cela traduirait une plus grande vulnérabilité des grenouilles de petite taille (par rapport à une grenouille d'une espèce de grande taille cf. (RIQUELME *et al.*, 2016). Ramené à notre contexte, cela pourrait signifier que la Grenouille des Pyrénées, compte tenu de sa petite taille, serait plus sensible à la déshydratation (dont le risque est accru avec une élévation des températures) qu'un amphibien de plus grande taille comme le sont la grenouille rousse et le crapaud commun (dont les têtards se trouvent également dans les cours d'eau utilisés par la grenouille des Pyrénées);

2/ *si* le taux de déshydratation observé varie au cours du cycle nyctéméral, en étant le plus prononcé l'après-midi, et le moins prononcé le matin, alors la vulnérabilité de la Grenouille des Pyrénées face à un environnement qui deviendrait en moyenne plus chaud (et donc plus contraignant en terme de risque de déshydratation, en gardant à l'esprit toutefois que l'évaporation engendre un effet refroidissant!) pourrait dépendre de son cycle d'activités au cours du nyctémère. Contre toute attente, mais cela reste à confirmer, une activité nocturne ne garantirait pas forcément la meilleure protection; par contre, et de façon logique, le choix d'une activité aux heures chaudes de la journée (après-midi) serait la stratégie la pire face au risque de déshydratation.

3/ *si*, à température ambiante comparable, le taux de déshydratation observé diffère selon l'habitat, (il pourrait être plus élevé en habitat ouvert), alors la vulnérabilité de la Grenouille des Pyrénées face au réchauffement climatique pourrait être exacerbé par une modification de l'habitat (déforestation par exemple). L'habitat de prédilection observé de la Grenouille des Pyrénées, à savoir des ruisseaux de montagne sous couvert forestier, conférerait dans ce cas les meilleures conditions de résilience de l'espèce face au changement climatique.

Ces trois interprétations restent à ce stade plutôt spéculatives car basées sur un nombre très limité d'expériences sur le terrain. Toutefois, à ce stade préliminaire de l'étude, il apparaît que le choix de suivis écophysiologicals au moyen de modèles biomimétiques (ici en agarose) est pertinent pour cette espèce fragile et en danger. Ce type d'expériences, conduites sur le terrain, peut servir réellement à formuler des hypothèses réalistes dont les résultats, s'ils sont confirmés (PETERMAN *et al.*, 2013 ; RIQUELME *et al.*, 2016), peuvent servir de base à des préconisations de gestion : toute modification de l'habitat forestier fréquenté par l'espèce conduirait à une augmentation de l'espèce face au réchauffement climatique en cours (HUEY, 1991).

Pour l'année 2019, il convient donc de poursuivre ces expériences en les réalisant dans différents types d'habitats ouverts et fermés, sous différentes conditions thermiques, en privilégiant les journées caniculaires qui imitent d'ores et déjà les conditions qui prévaudront, en moyenne, à l'horizon 2050. Avec ce type d'expériences, il est possible d'envisager également d'étudier l'effet d'autres facteurs qui seraient jugées pertinentes comme un éventuel effet de « protection » de la rivière en réalisant ce type d'expériences à des distances variables du cours d'eau, dans un même type d'habitat (fermé ou ouvert).

Comme ajustement nécessaire, il paraît important de programmer les essais au dernier moment de façon à éviter les épisodes orageux et de précipitations. En effet, lors des essais réalisés en 2018, la survenue d'orages ou de passages pluvieux a altéré le comportement des modèles en agarose. Tout épisode pluvieux modifie évidemment l'équilibre hydrique des avatars en agarose et affecte les mesures de changements de masse liés à la seule variable thermique (variable d'intérêt réel dans cette étude). Ces expérimentations étant contraignantes de par le temps nécessaire à leur déploiement sur le terrain sur un cycle de 24 heures, ce qui implique de nombreux déplacements et une disponibilité importante de l'observateur, il convient d'envisager des déploiements dans des habitats similaires mais plus proches que ceux de présence avérée de l'espèce et de procéder à des déploiements plus courts, sur les périodes critiques du cycle nycthéral.

L'emploi de ces modèles biophysiques (ou biomimétiques) est tout spécialement justifié dans le cas de l'étude des adultes de la Grenouille des Pyrénées, tant ceux-ci sont rares, élusifs et vulnérables. Toute manipulation des individus adultes fait en effet courir un risque très important pour les quelques populations locales connues sur le territoire français.

A terme, l'intégration des données de comptage dans la trame écophysologique en construction, et la prise en compte de la variabilité climatique du milieu de vie permettront la modélisation de l'extinction et de la répartition future sous différents scénarii climatiques de la Grenouille des Pyrénées en suivant des approches conceptuelles déjà publiées (voir par exemple KEARNEY *et al.* (2008) et BARTELT *et al.* (2010)). Cet exercice sera particulièrement difficile dans le cas de la Grenouille des Pyrénées qui rentre dans le cercle des espèces pour lesquelles les données sont limitées, conférant une complexité accrue à tout travail de modélisation (GALANTE *et al.*, 2017).