

Chapitre 8. *Rana pyrenaica* (Serra-Cobo, 1993) – Grenouille des Pyrénées

Auteurs : Frank D'Amico, Matthieu Berroneau, Valentin Lasserre

Résumé :

Au cours de son cycle biologique (œuf-têtard-adulte), *Rana pyrenaica* exploite différents milieux et affronte des changements importants liés de façon directe ou indirecte aux changements climatiques.

L'étude du stade "œuf", véritable défi au plan méthodologique et déontologique, difficile et délicat, est écartée. Pour les têtards, la compréhension des effets directs et indirects relève d'observations comportementales et de comptages directs sur le terrain. Les populations locales sont suivies depuis 2002 sur 5 torrents du pays basque et de la vallée d'Aspe situés entre 400 et 1000 m d'altitude. Les estimations d'effectifs, réalisées à partir d'une modélisation des données de comptage par modèle à N-mélange, en tenant compte de l'imperfection de la détection, mettent en évidence de fortes variations dans la réussite de reproduction annuelle: au pays basque, les effectifs sont en forte baisse récente tandis qu'en vallée d'Aspe, ceux-ci sont en hausse sur les trois sites suivis. Les analyses réalisées suggèrent un impact des crues sur la survie et la dispersion des têtards vers l'aval d'une part et une influence possible des événements extrêmes chauds précoces (printemps et hivers plus chauds) : les résultats exploratoires font apparaître que l'abondance estimée sur les sites de la forêt d'Iraty apparaît corrélée positivement aux froids hivernaux et printaniers tandis que sur les stations de la vallée d'Aspe elle semble principalement corrélée négativement aux crues printanières. Les variations de température des cours d'eau sur les sites de présence de *Rana pyrenaica* au cours d'un cycle annuel conforme à celui attendu sous climat atlantique, avec des températures minimales pendant l'hiver inférieures à 2°C (1.94 °C sur le site d'Aspe ouest ; 1.51 °C sur le site d'Estérençuby) et des températures maximales au cours de l'été toujours très inférieures à 20 °C (18.13 °C sur le site d'Aspe ouest ; 13.64 °C sur le site d'Estérençuby). De façon étonnante et non encore comprise, sur la période de développement 2019 des œufs et des têtards, les caractéristiques thermiques de la rivière correspondant au site de reproduction le plus haut (Tmin = 1.69°C et Tmax = 12.41°C) s'avèrent être en deçà de la température optimale estimée pour les têtards de l'espèce (Topt = 13.1°C à 14.2°C).

Pour les adultes, face au changement climatique, la thermorégulation comportementale est une stratégie qui devrait conduire tout individu à fuir les habitats très exposés à la chaleur extrême et limiter leur activité en passant plus de temps dans un micro-habitat refuge. Pour modéliser sur le terrain l'intérêt d'une telle stratégie, le choix a été fait pour des raisons méthodologiques et déontologiques, de s'appuyer sur le comportement d'avatars, autrement dit de modèles biophysiques imitant les propriétés thermo- et hydro-régulatrices des amphibiens adultes. Pour la première fois, des expérimentations in situ permettent d'illustrer de façon indirecte les taux de déshydratation, et donc la vulnérabilité, de grenouilles adultes lors d'épisodes chauds qui surviennent de façon précoce en fin d'hiver. L'année 2019, avec ses trois vagues de chaleur exceptionnelles, a été mise à profit pour mettre en place un dispositif expérimental complémentaire pour comprendre l'effet de vagues de chaleur précoces : si les épisodes extrêmes chauds type "canicule hivernale" semblent, de façon absolue, avoir des effets sur les taux de perte hydrique moins marqués que pendant ceux de type "canicule estivale", de façon relative, ils ne doivent pas être sous-estimés car ils ont des effets plus forts que les journées "normales" d'été. Par ailleurs, les épisodes caniculaires, qu'elle que soit la saison,

augmenteraient la déshydratation de façon proportionnellement plus importante chez des individus inactifs, cachés sous un abri sommaire tel que l'est une branche. En hiver comme en été, pour les avatars imitant des grenouilles actives, les pertes hydriques sont plus importantes pour les petits modèles que pour les modèles de grande taille, confirmant une plus grande vulnérabilité théorique des petites espèces, comme c'est le cas de *Rana pyrenaica*.

Ces conclusions restent préliminaires et partielles: les suivis par comptages directs de têtards et par modélisation indirecte au moyen de modèles bio-mimétiques doivent être poursuivis afin de gagner en robustesse et généralité. En effet, pour les deux aspects de cette recherche, les écart-types sont parfois du même ordre de grandeur que la moyenne du phénomène mesuré et témoignent de l'importance de la variabilité des résultats, tout en incitant à une certaine prudence sur l'interprétation de certains résultats. Comme perspective nouvelle, il est prévu d'explorer l'existence chez les têtards d'une stratégie de sélection de micro-habitats marginaux et peu profonds de bord de vasque comme stratégie de thermorégulation active permettant d'exploiter des températures plus proches de l'optimalité.

Mots-clés : avatar, canicule, crue, estimation d'abondance, hydro-régulation, modèle à N-mélange, perte hydrique, refuge, thermorégulation.

8.1 Introduction

Endémique de l'ouest des Pyrénées, la Grenouille des Pyrénées *Rana pyrenaica* Serra-Cobo 1993 est la seule grenouille strictement torrenticole de France métropolitaine. Durant leur période de croissance, les têtards se réfugient dans les vasques des ruisseaux où ils tentent de résister à la force du courant (BERRONEAU *et al.*, 2015). C'est aussi l'un des amphibiens les plus rares de France. Dans l'état actuel des connaissances, l'espèce ne se reproduit que dans cinq torrents frais et oxygénés du département des Pyrénées-Atlantiques (DUCHATEAU *et al.*, 2012 ; BERRONEAU, 2014a ; BERRONEAU, 2014b).

De par sa biologie et son écologie, la Grenouille des Pyrénées est, comme de nombreux amphibiens (CAREY&ALEXANDER, 2003 ; CORN, 2005), naturellement exposée au changement climatique. C'est d'autant plus vrai chez cette espèce qui présente une répartition réduite et fragmentée et une écologie spécialisée.

Au vu des faibles capacités de déplacement de l'espèce et du faible nombre de torrents colonisés, les différentes populations sont probablement déconnectées et isolées les unes des autres. Un effet durable du changement climatique risque d'entraîner à moyen terme la disparition d'une ou plusieurs populations de Grenouille des Pyrénées.

Les impacts directs ou indirects du changement climatique touchant directement l'espèce sont potentiellement les suivants :

- modification des températures de l'eau et altération du développement larvaire,
- augmentation des fréquences de variations hydriques dites « exceptionnelles » (crues printanières) ayant un impact sur la réussite de la reproduction (BERRONEAU, 2014a ; BERRONEAU *et al.*, 2015),
- baisse des hauteurs de neige et des niveaux d'eau dans les torrents (et donc détérioration des habitats de reproduction),
- facilitation de l'émergence des maladies infectieuses (POUNDS&CRUMP, 1994 ; LAMPO *et al.*, 2006 ; MARTIN *et al.*, 2010),
- modification de la phénologie et des conditions physiologiques des individus (BEEBEE, 2002 ; CORN & MUTHS, 2002 ; READING, 2007 ; YANG & RUDOLF, 2010 ; LOWE, 2012 ; LI *et al.*, 2013).

Depuis 2012, l'association Cistude Nature effectue un suivi de la réussite de la reproduction annuelle de l'espèce, sur l'ensemble des sites français (BERRONEAU, 2014a ; BERRONEAU *et al.*, 2015). Ce suivi permet de répondre à certaines questions liées au changement climatique, plus précisément à la réussite de reproduction de l'espèce vis-à-vis de ces changements, et il se poursuit logiquement dans le cadre du programme les sentinelles du climat. Ces estimations sur la taille des populations sont couplées aux études de modélisation, sur la base des connaissances établies en parallèle sur la niche thermique de l'espèce, le but étant de comprendre quels procédés biologiques et physiologiques influent sur les résultats des comptages et d'améliorer, au final, la qualité des modélisations. Les données de comptage et les estimations qui en découlent sont utilisées comme proxy permettant de calculer le taux d'activité des têtards (Hugon *et al.*, en préparation) qui sert à modéliser, en particulier, les heures de restriction d'activité utiles à la modélisation. Par ailleurs, les informations géo-référencées issues du suivi de la réussite de la reproduction annuelle seront utilisées pour la modélisation de l'occupation de l'habitat par l'espèce aux différents stades de vie.

Les amphibiens (comme tous les ectothermes) sont dépendants de leur environnement vis-à-vis de la température et de l'hygrométrie ; ils sélectionnent donc vraisemblablement des habitats qui

fournissent les valeurs les plus appropriées de celles-ci. Étant donné que les températures corporelles (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).

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.

Comme indiqué dans le rapport 2018 du programme les Sentinelles du climat (MALLARD, 2018a), le travail est réalisé dans ce cadre conceptuel structurant où 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 – sachant que les adultes peuvent être *actifs* au-dessus du sol (par exemple lorsqu'ils se déplacent pour rechercher des proies ou un partenaire pour la reproduction) ou être *inactifs*, dans le sol ou sous un abri (souche, branche d'arbre tombée au sol, pierre etc...). Une hypothèse forte est qu'une hausse de la température de l'air (T_{air}) augmente les risques de déshydratation, qui peuvent être mesurés de façon directe ou indirecte. Cette hypothèse avait été déclinée en trois sous-hypothèses [notées H2a, H2b et H2c page 42 dans le rapport 2018 (MALLARD, 2018a)], testées au moyen du dispositif expérimental utilisant les modèles biomimétiques (avatars) 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 mémoire, les premiers résultats obtenus en 2018 dans ce cadre de recherche étaient présentés sous forme de trois leçons exploratoires:

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 (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, sauf si l'individu dispose de refuges faciles à utiliser ou modifie son comportement comme expliqué en discussion.

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.

Parmi les perspectives et recommandations formulées dans le précédent rapport du programme (MALLARD, 2018a), il était indiqué : 1/ 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 et 2/ 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 nyctéméral (en l'occurrence l'après-midi), de façon à rendre les expérimentations moins sujettes aux aléas météorologiques (orages, précipitations, changement dans le régime de vent) et moins contraignantes de par le temps nécessaire à leur déploiement sur le terrain sur un cycle de 24 heures.

8.2 Matériel et méthodes

8.2.1 Suivi de la reproduction de *Rana pyrenaica*

- *Sélection des sites*

La Grenouille des Pyrénées présente une répartition extrêmement réduite en Pyrénées-Atlantiques. Le suivi englobe l'ensemble des sites de présence connus de l'espèce (BERRONEAU, 2014a ; BERRONEAU *et al.*, 2015).

La zone d'étude correspond à 5 torrents situés entre 400 et 1000 m d'altitude : trois au Pays basque, respectivement sur les communes d'Esterençuby, de Lecumberry et de Larrau, et deux en vallée d'Aspe (Fig. 137). Pour des questions de vulnérabilité des populations, les localités ne sont pas davantage détaillées. Pour rappel, ces secteurs sont suivis depuis 2012 dans le cadre d'un programme de conservation de la Grenouille des Pyrénées. L'analyse des premiers résultats avait d'ailleurs fait l'objet d'une publication (BERRONEAU *et al.*, 2015). Certains secteurs, ont été légèrement étendus, dans le but de confirmer d'éventuelles extensions d'aire de présence (MALLARD, 2017b). 7 sites (5 jusqu'à 2006) sont suivis au total.

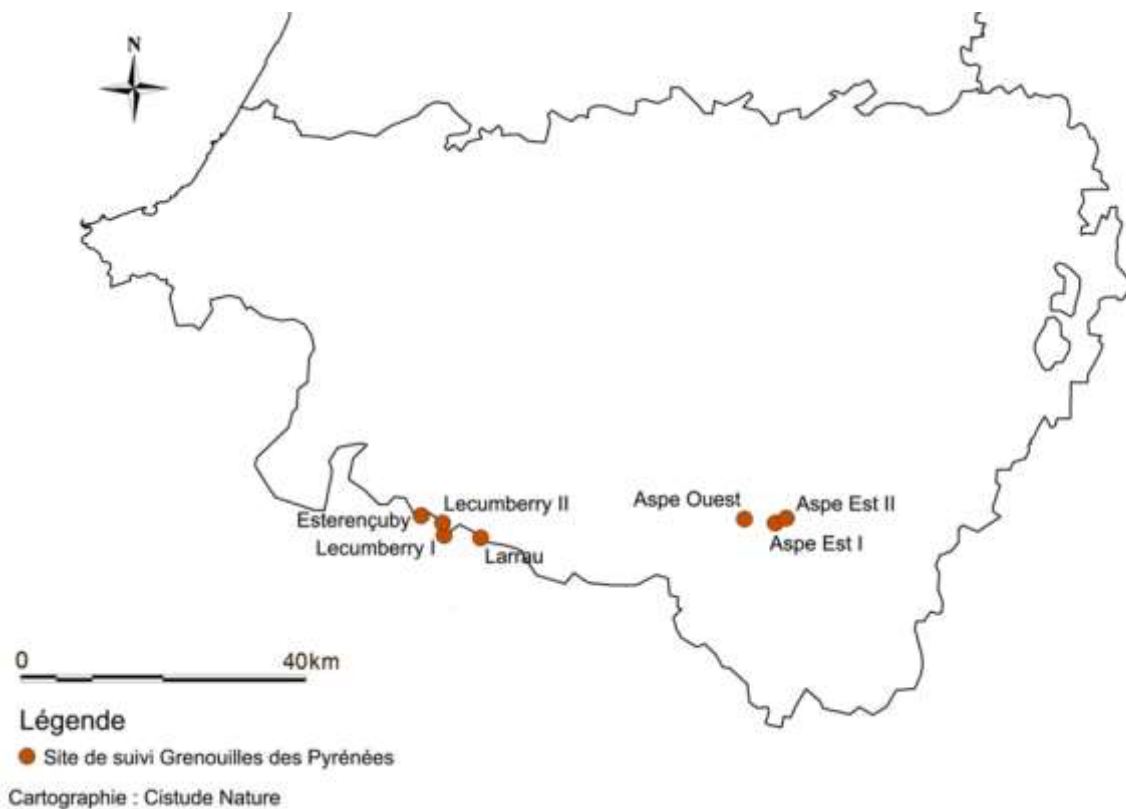


Fig. 137. Situation géographique des sites d'études validés dans le cadre du suivi de la Grenouille des Pyrénées.

- *Définition et positionnement des points d'échantillonnage*

Le protocole de suivi est basé sur un comptage répété des têtards de Grenouille des Pyrénées au sein des différents sites, c'est-à-dire sur des tronçons des différents torrents utilisés pour la reproduction de l'espèce. Sur chaque site, des placettes de 5 x 5 m sont réparties aléatoirement (MALLARD, 2018b). Le nombre de placettes dépend de la longueur du tronçon de torrent concerné par le suivi (Tab. LXIII, Fig. 138). Les différentes placettes sont géoréférencées et photographiées, afin de les délimiter facilement à chaque session de comptage (MALLARD, 2017b ; MALLARD, 2018b ; MALLARD, 2016b).

Tab. LXIII. Caractéristiques des transects étudiés dans le cadre du suivi Grenouille des Pyrénées

Dénomination du site	Longueur (en m)	Altitude (en m)	Nbre placettes
Esterençuby	700	838-922	20
Lecumberry I	250	835-853	11
Lecumberry II	1200	830-843	9
Larrau	130	1017-1038	4
Aspe Ouest	700	388-440	28
Aspe Est I	180	538-613	16
Aspe Est II	500	580-610	9



Fig. 138. Emplacements des placettes du site "A0" en vallée d'Aspe.

- **Méthode de relevés et détermination des espèces**

La méthode s'appuie sur le protocole développé dans le programme de conservation de la Grenouille des Pyrénées (BERRONEAU, 2015). Ce programme de trois ans (2012–2014) avait pour objectif de proposer des mesures efficaces pour la conservation de l'espèce. Ce protocole a pour but de caractériser de manière fiable et reproductible les populations de Grenouille des Pyrénées.

Les objectifs du protocole sont les suivants :

- Obtenir des données fiables d'abondance sur les différents sites identifiés,
- Mettre en relation les données d'abondance avec les caractéristiques du site d'accueil,
- Proposer une méthode reproductible dans le temps afin de mettre en place une veille écologique des sites de présence de l'espèce.

Ce protocole propose une méthode de prospection rigoureuse et systématique de sites de présence de la Grenouille des Pyrénées.

La recherche de la Grenouille des Pyrénées est basée sur le contact visuel des têtards. Ces derniers sont très caractéristiques de l'espèce, et sont aisément visibles dans les eaux claires des vasques des torrents (Fig. 139). C'est la méthode la plus aisée et la plus efficace pour conclure sur la présence de l'espèce sur un site.



Fig. 139. Têtards de Grenouille de Pyrénées.

Les torrents sont les uniques milieux de reproduction de la Grenouille des Pyrénées.

D'aval en amont, les têtards sont précisément dénombrés pour chaque placette, ainsi que différents relevés complémentaires (profondeur, débit, présence d'autres espèces, etc.).

Le protocole est une émanation du protocole PopAmphibien (BARRIOZ & MIAUD, 2016), proposé par la Société Herpétologique de France. Il a été adapté aux caractéristiques écologiques et biologiques de l'espèce (adultes rares et peu détectables, têtards peu discrets et aisément identifiables). Une clé de détermination est proposée dans le protocole (BERRONEAU, 2015).

Les têtards de Grenouille des Pyrénées doivent être recherchés en arpentant les berges des ruisseaux favorables. Les adultes et les pontes ne doivent pas être recherchés spécifiquement, mais

seront notés en cas d'observation. Dans la mesure du possible, il est préférable de limiter le piétinement au sein même du ruisseau, et de prospecter en remontant d'aval en amont.

Chaque placette doit être parcourue trois fois au cours de la période définie comme favorable. A chaque passage, la placette est prospectée avec attention afin d'y dénombrer précisément les têtards. Les observations sont notées et quantifiées pour chaque placette et chaque passage. Diverses variables associées (température de l'eau, profondeur des vasques, turbidité, etc.) potentiellement en lien avec la détection (variables « d'échantillonnage ») et la probabilité de présence (variables « de site ») sont également relevées (MALLARD, 2017b).

Détermination du têtard de *Rana pyrenaica* :

Très caractéristiques, les têtards de Grenouille des Pyrénées sont noirs pailletés de points blancs ou dorés. La nageoire caudale est largement développée et terminée en pointe (Fig. 140). Ils atteignent jusqu'à 30 mm.

Les risques de confusion sont faibles : les têtards de Crapaud commun sont gris sombre ou noirs (parfois légèrement tachetés de blanc pâle), mais de dimensions réduites (< 25 mm), et avec une nageoire caudale peu développée et arrondie.

Les têtards d'Alyte accoucheur sont gris ou beige, généralement clairs, avec des taches foncées sur la nageoire caudale, et une face ventrale très claire. Ils atteignent parfois des dimensions importantes (> 70 mm).

Dans l'aire de répartition de la Grenouille des Pyrénées, les autres espèces d'Anoures n'utilisent pas les torrents comme sites de reproduction.



Fig. 140. Un têtard de Grenouille de Pyrénées.

- *Conditions météorologiques requises*

Le comptage des têtards ne nécessite pas de conditions météorologiques particulières. Il faut toutefois éviter les jours de pluie qui brouillent la surface de l'eau et compliquent le comptage, et les jours suivants les épisodes pluvieux importants qui peuvent entraîner une mise en suspension de particules trop importantes, là aussi défavorable à un comptage optimal.

- *Nombre de campagne de relevés*

Chaque année, les placettes sont prospectées trois fois durant la saison de reproduction de l'espèce (Tab. LXIV). L'optimum de détection des têtards court depuis avril pour les secteurs de basse altitude jusqu'à juillet pour les secteurs les plus hauts. L'idéal est donc de réaliser le 1^{er} comptage fin avril / début mai, le 2^{ème} entre mi-mai et début juin, le 3^{ème} entre mi-juin et début juillet.

Les comptages des têtards se sont étalés entre fin avril et fin juin sur l'ensemble des sites. Pour rappel, trois passages sont nécessaires pour l'ensemble des sites.

Tab. LXIV. Dates de comptage sur l'ensemble des sites « Grenouille des Pyrénées » en 2019 (MB : Matthieu Berroneau, VL : Valentin Lasserre).

	Passage 1	Passage 2	Passage 3
Esterencuby	17/06/2019 VL + MB	17/07/2019 VL	03/08/2019 VL
Lecumberry I	17/06/2019 VL + MB	18/07/2019 VL	03/08/2019 VL
Lecumberry II	17/06/2019 VL + MB	18/07/2019 VL	04/08/2019 VL
Larrau	18/06/2019 VL + MB	18/07/2019 VL	04/08/2019 VL
Aspe Ouest	02/05/2019 VL + MB	03/06/2019 VL	01/07/2019 VL
Aspe Est I	29/04/2019 VL + MB	04/06/2018 VL	05/07/2018 VL
Aspe Est II	01/05/2019 VL + MB	04/06/2019 VL	05/07/2018 VL

- *Analyses et statistiques*

Les données seront analysées par modèle N-mélange, à l'aide du logiciel R et du package unmarked. Cette méthode, sur la base d'un échantillonnage répété dans le temps (nombre de passages) et dans l'espace (nombre de placettes), propose une estimation du nombre de têtards par site, en fournissant une abondance estimée et une probabilité de détection. Le détail des analyses est rapporté dans Berroneau et al. (2015).

8.2.2 Etude écophysiological de *Rana pyrenaica* et caractérisation de sa niche thermique au cours de son cycle vital

- *Complément au matériel et méthodes 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. Pour rappel (revoir les figure 18 à 20 pages 39–41 du rapport 2018 les sentinelles du climat, (MALLARD, 2018a), deux types de sondes de marque OnsetTM ont été utilisés ; il s'agit des modèles étanches HOBO Water Temp Pro v2 (U22–001) et Tidbit v2 (UTBI–001) dont l'installation a été illustrée aux Fig. 18 à 20 (pages 39 & 40) du rapport 2018 (MALLARD, 2018a). L'enregistrement à haute fréquence fournit des séries temporelles avec un pas de temps de 15 minutes.

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

- *Température dans l'eau sur les sites fréquentés par les populations locales existantes :*

Sur les quatre sites équipés en 2017, seules les sondes étanches installées sur les sites d'Estérençuby et d'Aspe ouest ont livré des résultats, avec des imperfections. En effet, 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 ont été perdues, emportées par les crues importantes de l'année hydrologique 2018 ou enfouies sous plusieurs m³ de sédiments mobilisés par ces crues.

Les relevés effectués en 2017 et 2018 étaient émaillés de nombreux artefacts de mesure (matérialisées par les variations importantes (pointillés rouges notamment sur la courbe des températures de la Figure 22.2. page 44 du rapport 2018 (MALLARD, 2018a)) en raison d'exondations passagères de la sonde thermique. Compte tenu des leçons du passé, une meilleure sécurisation et une amélioration de l'installation des sondes dans le lit mineur ont permis d'éviter tout phénomène parasite d'exondation passagère des sondes et donc d'obtenir des séries chronologiques dénuées d'erreurs. Les résultats sont présentés à la Fig. 141).

- Estérençuby (en bordure nord-ouest du massif forestier d'Iraty au pays basque): au moment de la rédaction du rapport, la série chronologique couvre la période du 23/8/2017 au 18/6/2019 (avec comme indiqué plus haut, des artefacts de mesure jusqu'au 26/9/2018). Sur la période du 26/9/2018 au 18/6/2019 ($n = 12746$ mesures), les statistiques des températures sont les suivantes : $T_{max} = 13.64$ °C, $T_{min} = 1.51$ °C et $T_{moy} = 7.23$ °C.
- Aspe ouest: pour cette rivière béarnaise, la série chronologique couvre la période du 16/8/2017 au 22/3/2019 (avec comme indiqué plus haut, des artefacts de mesure jusqu'au 26/8/2018). Sur la période du 17/4/2018 au 22/3/2019 ($n = 16167$ mesures), les statistiques des températures sont les suivantes : $T_{max} = 18.13$ °C, $T_{min} = 1.94$ °C et $T_{moy} = 10.54$ °C.

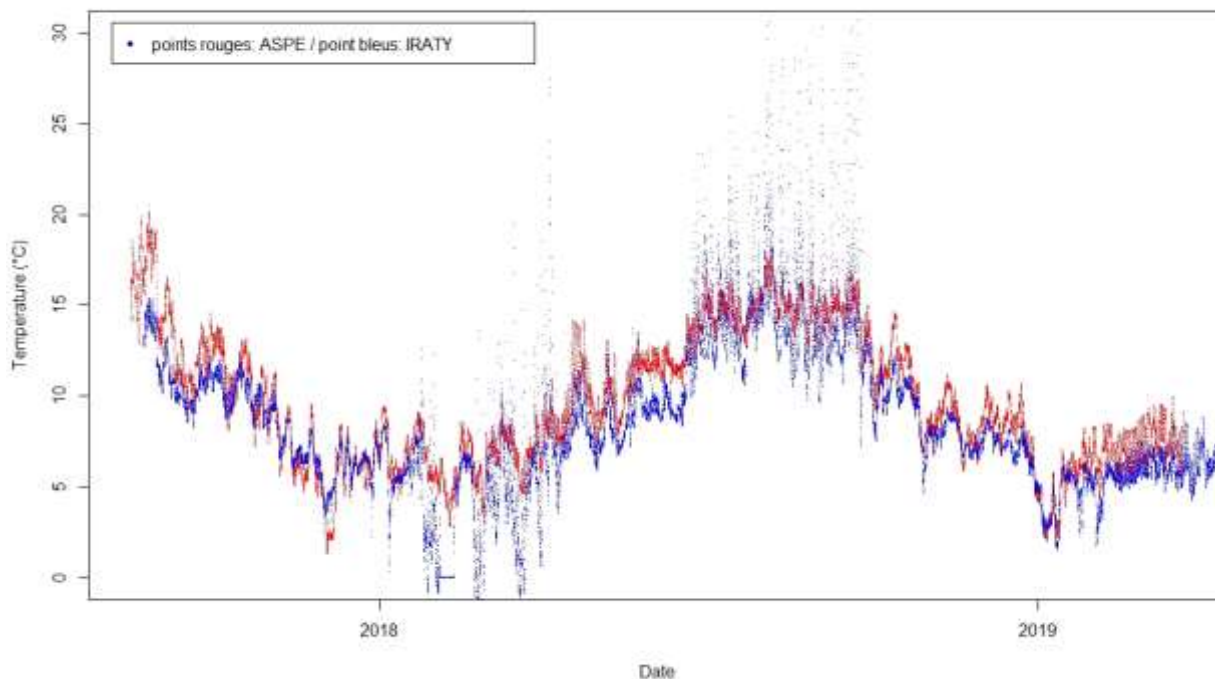


Fig. 141. Séries chronologiques de température enregistrée dans le lit mineur de deux sites de présence connue de *Rana pyrenaica* : en rouge site Aspe ouest pour la période du 16/8/2017 au 22/3/2019; en bleu site d'Estérençuby (massif d'Iraty au pays basque) pour la période du 23/8/2017 au 18/6/2019. Les artefacts de mesure jusqu'au 26/9/2018 sont particulièrement visibles.

Comme pour le cycle hydrologique précédent (2017–2018), dont la métrologie était entachée de valeurs artefactuelles liées à des exondations, le suivi réalisé sur le cycle 2018–2019 confirme que la température moyenne de l'eau est plus élevée sur le site de la vallée d'Aspe en Béarn ($T_{moy} = 10.54\text{ °C}$) par rapport au site d'Estérençuby au pays basque ($T_{moy} = 7.23\text{ °C}$), ce qui est un résultat attendu compte tenu de l'altitude différente de ces sites (Aspe : 750 m versus Pays basque = 900 mètres).

Comparativement au suivi du cycle précédent, la température moyenne sur le site d'Aspe en Béarn est comparable d'une année sur l'autre ($T_{moy} = 10.54\text{ °C}$ vs $T_{moy} = 10,1\text{ °C}$) et plus variable sur le site d'Estérençuby au pays basque ($T_{moy} = 7.23\text{ °C}$ vs $T_{moy} = 9.1\text{ °C}$) mais ses différences sont à relier aussi à des périodes d'analyse différentes et doivent être tempérées par l'existence d'artefacts sur le cycle précédent.

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. 141, avec des températures minimales pendant l'hiver inférieures à 2°C (1.94 °C sur le site d'Aspe ouest ; 1.51 °C sur le site d'Estérençuby) et des températures maximales au cours de l'été toujours très inférieures à 20 °C (18.13 °C sur le site d'Aspe ouest ; 13.64 °C sur le site d'Estérençuby).

Présentée sous forme de boîte à moustache (Fig. 142, l'analyse descriptive mensuelle limitée à la saison hivernale au sens météorologique (c'est-à-dire Décembre/Janvier/Février) permet de saisir les conditions thermiques qui prévalent dans le lit mineur à trois moment-clés du cycle de vie des individus adultes. En décembre 2018, période d'hivernage pour les adultes, l'amplitude (mini-maxi) est

de 4.64–8.74 pour la population basque et 4.14–10.66 pour la population béarnaise). En janvier 2019, période de pré-reproduction pour les adultes, l'amplitude (mini-maxi) est de 1.54–6.38 pour la population basque et 1.94–8.32 pour la population béarnaise). En février 2019, période de reproduction pour les adultes, l'amplitude (mini-maxi) est de 1.69–5.87 pour la population basque et 4.14–7.47 pour la population béarnaise).

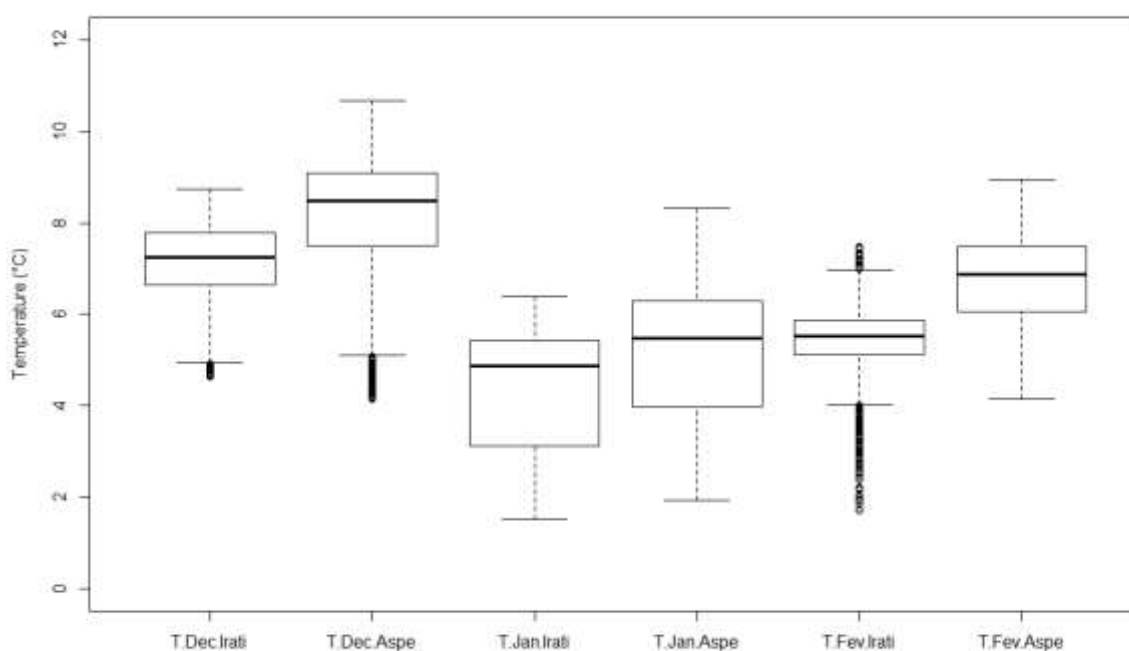


Fig. 142. Boîtes à moustaches des températures enregistrées dans le lit mineur de deux sites de présence connue de *Rana pyrenaica*. Abréviations : T.Dec. pour la série de températures en décembre 2018; T.Jan. pour la série de températures en janvier 2019; T.Fev. pour la série de températures en février 2019; Aspe et Irati indiquent le nom des sites de présence de *Rana pyrenaica*.

- Température dans l'eau sur des sites où l'espèce est absente mais qui correspondent aux conditions qui seront vraisemblablement prévalentes dans le futur :

Pour mémoire, ces ruisseaux situés en vallée d'Ossau, juste à l'Est de la distribution connue sur le versant français et au Nord de l'Aragon, ont été choisis de manière empirique pour être susceptibles de connaître un étiage estival prononcé et un assèchement saisonnier.

- Ruisseau en milieu ouvert : Ossau 1

Ce ruisseau en milieu ouvert, à 1100 m d'altitude est caractérisé par une profondeur très faible (< 10 cm) en milieu prairial. Il est soumis à des températures plus élevées en été que sur les sites de présence connue de *Rana pyrenaica*, tandis qu'en hiver elles sont plus basses, avec des périodes de gel (Fig. 143). Les statistiques des températures dans le lit mineur sur le cycle hydrologique 2018–2019 sont: $T_{max} = 25.02$ °C, $T_{min} = -0.87$ °C et $T_{moy} = 7.31$ °C. L'amplitude circadienne en été est très importante. La période durant laquelle la température se maintient à 0 °C correspond à la période d'enneigement.

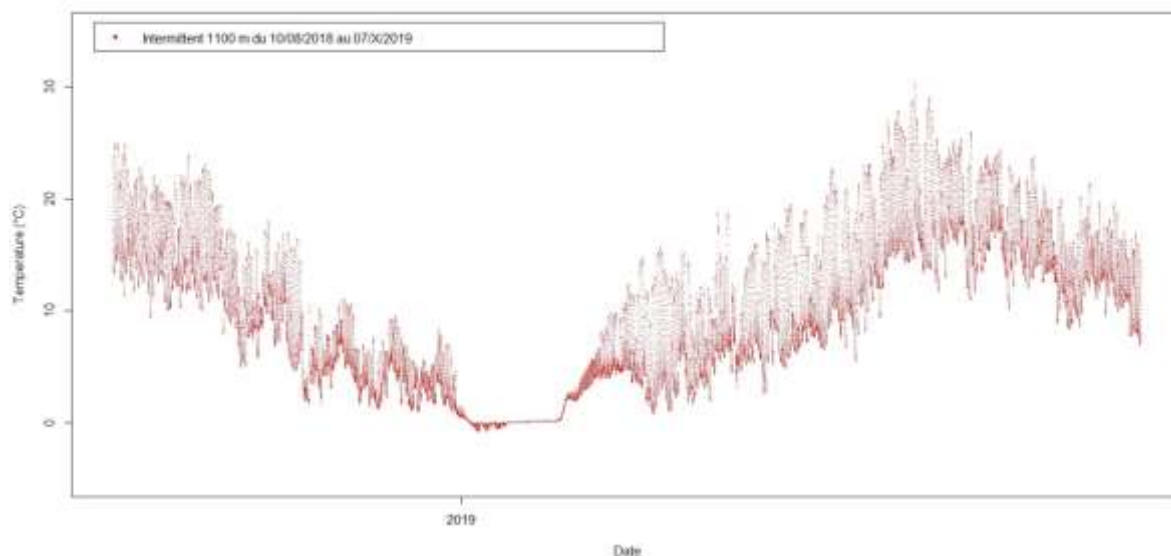


Fig. 143. Séries chronologiques de température enregistrée dans le lit mineur d'un cours d'eau intermittent en milieu ouvert, à 1100 m d'altitude, en vallée d'Ossau.

- Ruisseau en milieu fermé : Ossau 2 (Fig. 144)

Situé en milieu forestier à 700 m, il correspond à un ruisseau (en terminologie locale : 'arrec') majoritairement asséché. Alimenté en eau lors des épisodes pluvieux et de fonte des neiges, les statistiques des températures dans le lit mineur sur le cycle hydrologique 2018–2019 sont: $T_{max} = 18.72$ °C, $T_{min} = 1.75$ °C et $T_{moy} = 9.73$ °C.

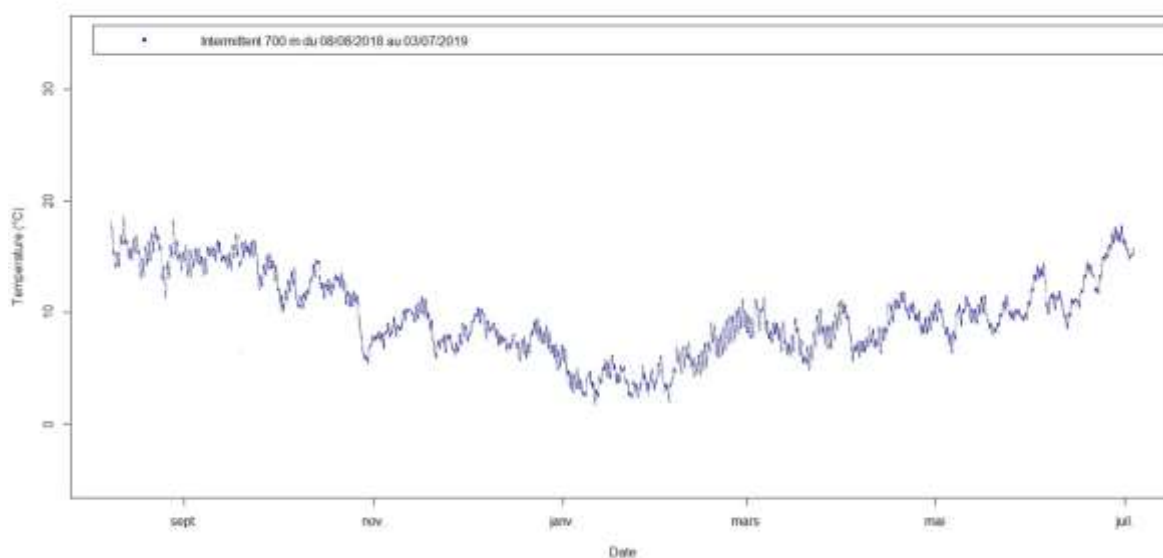


Fig. 144. Séries chronologiques de température enregistrée dans le lit mineur d'un cours d'eau intermittent en milieu fermé, sous couvert forestier, à 700 m d'altitude, en vallée d'Ossau.

La superposition des graphes de variation de température pour les 4 ruisseaux rehausse le patron très différent (représenté en gris – Fig. 145) du ruisseau en milieu ouvert, à 1100 m d'altitude est exposé à des températures plus élevées en été que sur les sites de présence connue, tandis qu'en hiver elles sont plus basses, avec des périodes de gel. L'amplitude circadienne en été y est très importante.

Bien qu'intermittent car alimenté en eau lors des épisodes pluvieux et de fonte des neiges uniquement, le ruisseau en milieu forestier à 700 présente des statistiques de températures dans le lit mineur sur le cycle hydrologique 2018–2019 comparables, bien que plus légèrement plus hautes en valeur absolue, à celles des ruisseaux où se développent les grenouilles des Pyrénées. Sans élément d'analyse complémentaire à ce stade de l'étude, l'intérêt de ces suivis pourrait suggérer l'**importance du couvert forestier** dans les cours d'eau dans le maintien d'une gamme de température compatible avec le développement.

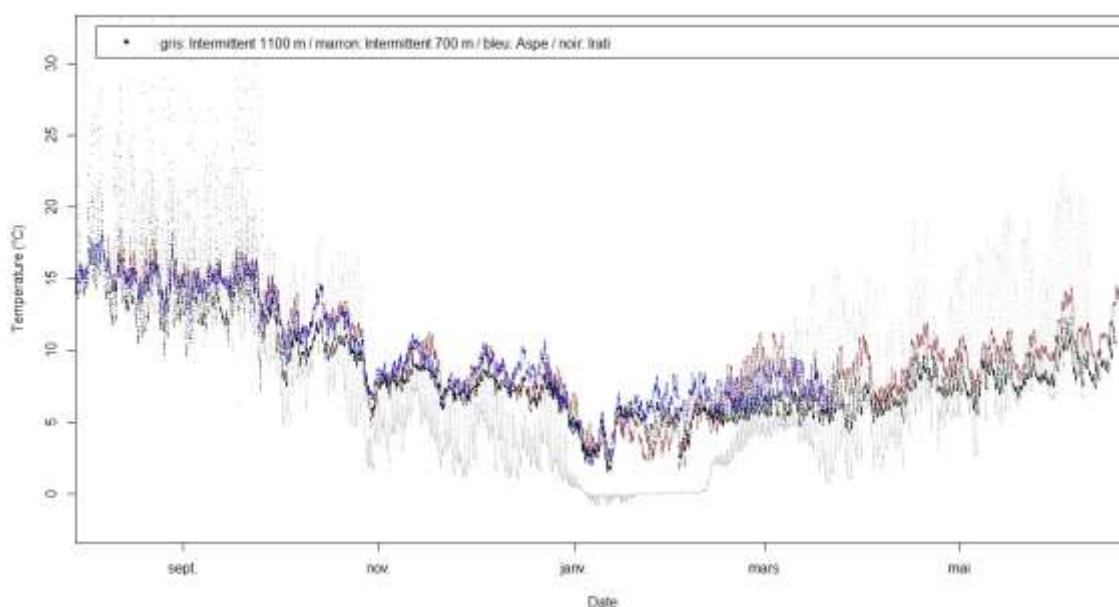


Fig. 145. Superposition des séries chronologiques pour la période du 23/8/2017 au 18/6/2019 des températures enregistrées dans le lit mineur de deux sites de présence connue de *Rana pyrenaica* et des deux sites supplémentaires correspondant à des ruisseaux intermittents dont les conditions pourraient préfigurer les conditions futures, à l'horizon 2100, où les étiages et les assecs seraient plus fréquents et plus intenses).

Légende: trait marron = cours d'eau intermittent en milieu fermé, sous couvert forestier, à 700 m d'altitude, en vallée d'Ossau; trait gris = cours d'eau intermittent en milieu ouvert, à 1100 m d'altitude, en vallée d'Ossau; trait bleu = cours d'eau permanent Aspe ouest; trait noir = cours d'eau permanent d'Estérençuby (massif d'Iraty au pays basque).

- ***L'année 2019 : un contexte météorologique exceptionnel pour modéliser l'effet des vagues de chaleur sur la réponse des amphibiens***

L'année météorologique 2019 a été marquée par des épisodes de chaleur exceptionnels, non seulement en été (avec deux canicules) mais aussi, et c'est une première dans les registres de mesure de Météo France, en hiver avec une fin février la plus chaude de l'histoire (METEO FRANCE, 2019b). La première vague de chaleur estivale, remarquablement précoce, s'est mise en place du 25 au 30 juin 2019 tandis que la deuxième est survenue du 21 au 26 juillet 2019. La première vague de chaleur fin juin a été d'une telle intensité qu'elle a conduit au déclenchement d'une vigilance rouge canicule, utilisée pour la première fois depuis sa création en 2004 (METEO FRANCE, 2019b). Ces deux canicules estivales se caractérisent par leur durée relativement courte (6 jours) et une intensité exceptionnelle : le 25/07/2019 a été ainsi la journée la plus chaude que la France ait jamais connue, avec un indicateur thermique national de 29,4 °C (METEO FRANCE, 2019b).

Selon Aurélien Ribes, le changement climatique a exacerbé l'intensité des épisodes extrêmes hivernaux de + 1°C et estivaux de + 2°C. En 2040, un événement extrême chaud hivernal sera deux fois plus probable que celui de fin février 2019 et aura une intensité augmentée de 0,6°C. En 2040, un événement extrême chaud estival sera cinq fois plus probable que celui de fin février 2019 et aura une intensité augmentée de 1,2°C (METEO FRANCE, 2019b).

- ***Rappel sur la construction des modèles biomimétiques (avatars) d'amphibiens en agarose***

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 – 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). La fabrication des grenouilles en agarose peut se réaliser de différentes façons. Au micro-ondes,

préparer dans une bouteille en pyrex adaptée une solution moules en latex préformés sur grenouilles réelles. Pour notre 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 Sentinelles du climat sont des avatars en agarose. Le protocole pour la construction de ceux-ci est conforme aux descriptions originales (NAVAS & ARAUJO, 2000) : les avatars en agarose (agar Sigma-Aldrich réf A1296-5000) sont coulés dans des moules en latex fournis à F. D'Amico par B. Sinervo comme illustré à la figure 21 (page 43) du rapport 2018 les sentinelles du climat (MALLARD, 2018a). Leur pesée s'effectue au moyen d'une balance de précision (modèle Kern EMB-202, précision 0.01 g).

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 (SCHWARZKOPF & ALFORD, 1996 ; SEEBACHER & ALFORD, 2002 ; ROZNIK & ALFORD, 2014) et ii/ le taux de déshydratation (autrement dit le taux de perte hydrique) est corrélé à la perte de masse est directement lié au réchauffement climatique (la perte de masse est accrue avec une élévation des températures).

- *Dispositif expérimental déployé en 2019 sur le terrain pour comprendre l'effet des vagues de chaleur*

Comme expliquée en introduction, l'hypothèse générale de travail est qu'un changement de comportement, en rapport avec un usage d'habitat privilégié, est plus souvent choisi comme réponse aux épisodes de chaleur extrêmes. Cette réponse liée à la thermorégulation comportementale devrait conduire tout individu, ici des adultes de *Rana pyrenaica*, à fuir les habitats très exposés à la chaleur extrême et utiliser des habitats plus favorables dans leur dimension thermique (dans le sens où ils permettent d'éviter une exposition à des températures $> T_e$). Prosaïquement, l'individu choisirait d'utiliser un habitat plus frais et plus humide (par exemple sous couvert forestier fermé plutôt qu'en prairie ouverte). Toutefois, la sélection orientée d'habitat n'est pas la seule dimension de la réponse comportementale et il importe de prendre en compte le type d'activité. En effet, même au sein de ce type d'habitat plus favorable en matière de thermoregulation et d'hydrorégulation, il est probable que les températures extrêmes (telles que celles rencontrées pendant les trois épisodes caniculaires exceptionnels de 2019) conduisent les amphibiens à limiter leur activité et les contraignent à passer plus de temps dans un micro-habitat refuge. Toutefois, comme mis en exergue plus haut, l'intérêt d'une telle stratégie peut être contrecarré par le fait qu'elle entraîne une réduction du temps d'activité et confine les individus dans des habitats sub-optimaux avec pour corollaire un déclin dans la taille de population ou une extinction. Rappelons qu'un tel déclin est observé pour les populations du secteur de la forêt d'Iraty (où la reproduction est en forte baisse sur les sites historiques de Larrau et de Leccumberry) et de celle du site d'Esterençuby qui manifeste une baisse d'effectifs assez importante, même si les densités restent élevées comparativement aux autres sites. La situation paraît moins préoccupante pour les populations de *Rana pyrenaica* de la vallée d'Aspe (où les effectifs estimés sont en progression récente sur les trois sites suivis) mais il faut rester prudent sur ces estimations en raison d'une hétérogénéité environnementale et d'une dérive d'individus biaisant les estimations, auxquels s'ajoute le fait que la modélisation des données de comptage indique de fortes variations interannuelles dans la réussite de reproduction annuelle.

De façon générale, pour ces expériences conçues sur un design pluri-factoriel 2x2x2 et déployées sur le terrain, des modèles (avatars) (Fig. 146) en agarose de deux tailles (petite vs grande) sont exposés à deux conditions environnementales (plus fraîche et humide versus moins fraîche et moins humide;

un habitat fermé, forestier et un habitat ouvert, prairial), et à deux conditions d'exposition traduisant le niveau d'activité (individu actif en surface vs inactive en refuge) de façon à estimer *in fine* des restrictions environnementales liées aux variations de températures et d'humidité relative. Ces restrictions peuvent être vues comme des proxys des conséquences écophysiological des stratégies comportementales de thermorégulation et d'hydrorégulation.

De façon plus détaillée:

- le facteur "taille" (petit avatar versus grand avatar) permet de modéliser la réponse de *Rana pyrenaica* par rapport à des espèces plus grosses comme *Rana temporaria* ou *Bufo spinosus*. Comme exprimé dans le rapport précédent (revoir par exemple la figure 23 page 45) du rapport 2018 les sentinelles du climat (MALLARD, 2018a)), les expériences de terrain et la bibliographie indiquent que les espèces de petite taille sont plus vulnérables au changement climatique que les espèces de grande taille.

- le facteur "condition environnementale" (plus frais et humide versus plus chaud et plus sec) est considéré avec un habitat fermé, forestier et un habitat ouvert, prairial. Sa prise en compte dans les modèles permet d'envisager la réponse comportementale et de comprendre l'intérêt de sélectionner un type d'habitat qui réduise l'exposition à des températures $> T_e$.

- le facteur "exposition" (individu actif en surface vs individu inactif en refuge) permet de capturer dans les modèles l'effet supposé contre-adaptatif généré par une réduction forcée de l'activité en surface (correspondant par exemple à celle d'un individu adulte se déplaçant à la recherche de proies) et une augmentation du temps passé inactif dans un micro-habitat refuge qui limite les risques de déshydratation (EWL_{crit}). Pour reconstruire expérimentalement les conditions créées par un micro-habitat refuge, un gros morceau de bois mort est choisi dans l'environnement immédiat de l'expérience. Etant superficiel, il représente non pas les conditions d'un refuge utilisé de façon saisonnière mais plutôt les conditions d'un refuge provisoire utilisé au cours d'un cycle nyctéméral, tel que l'est un microhabitat fonctionnel par exemple (HUEY & KINGSOLVER, 2017), typiquement un gîte nocturne ou diurne pour échapper à une insolation trop forte.

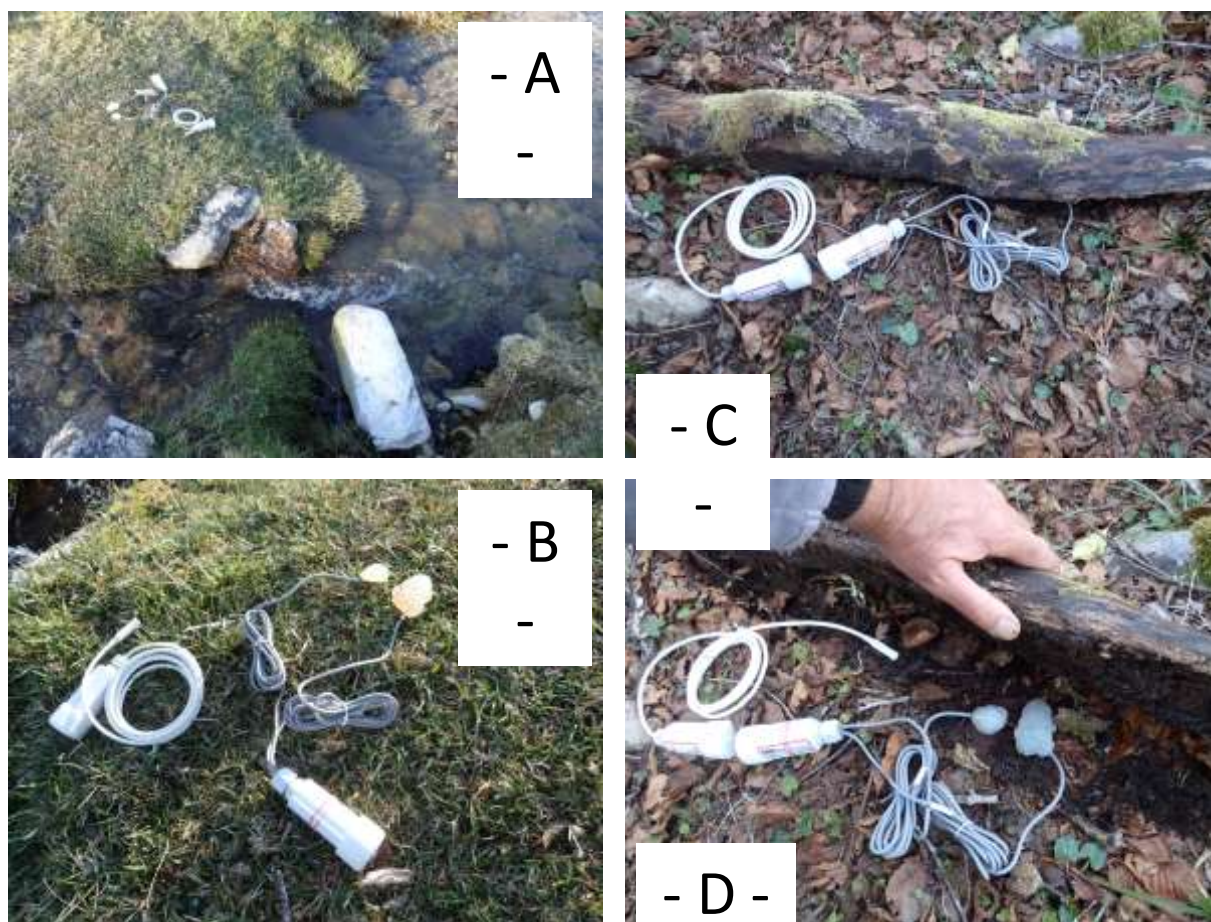


Fig. 146. Illustration des modèles (avatars) en agarose de deux tailles (petite vs grande) exposés sur le terrain à deux conditions environnementales étudiées: à gauche (A et B) avatars exposés imitant des grenouilles actives, en habitat ouvert, prairial et à droite (C et D) avatars cachés sous du bois mort imitant des grenouilles inactives dans leur refuge, en habitat fermé, forestier.

Ces modèles biomimétiques en agarose utilisés pour les expérimentations de déshydratation sont couplés sur le terrain à une sonde Onset HOBO prov2 TT. L'humidité relative (%) au sol est mesurée au moyen d'une sonde HOBO Pro v2 Ext T/RH (U23-002) avec un pas de temps de 1 minute.

Ces données obtenues *in situ* sont intégrées dans des modèles statistiques de façon à identifier, dans le cadre du paradigme de modélisation inférentiel en vigueur, les prédicteurs environnementaux les plus pertinents de température des organismes (température opérante T_e) et de taux de déshydratation (EWL_{crit}).

Les expériences ont été réalisées lors de chacun des épisodes de chaleur extrêmes et aussi lors de journées conformes aux normes saisonnières de la fin de l'hiver/début du printemps (période d'activité reproductrice des adultes) et de l'été.

Pour supprimer, ou limiter très fortement, les risques de propagation d'une éventuelle virose, des précautions élémentaires sont appliquées comme le nettoyage et la désinfection au moyen d'un viricide (Virkon ®) du matériel (bottes, etc) conformément aux préconisations usuelles, et explicitement mentionnées dans l'autorisation de capture de *Rana pyrenaica* 2016.

Les facteurs microclimatiques enregistrés pendant la durée des expériences sont l'humidité relative (%) de l'air à 1 m de hauteur (datalogger HOBO Pro v2 Ext T/RH (U23-002) mesurée avec un pas de temps de 1 minute et l'humidité relative (%) au sol (datalogger HOBO Pro v2 Ext T/RH (U23-002) mesurée avec un pas de temps de 1 minute. En même temps, la température opérante (T_e) est mesurée comme approximation de la température corporelle (T_b) des individus, pour les différents facteurs (fermé vs ouvert, actif vs inactive) et pour les deux tailles d'avatars (petite vs grande); des datalogger HOBO Pro v2 Ext T/T (U23-001) sont installés à cet effet dans les modèles.

Dans ce rapport, priorité est donnée à l'étude des changements de masse des avatars, qui doivent être corrélés (c'est une condition forte d'application de la méthode) au taux de déshydratation, appelé aussi taux de perte hydrique. Exprimé comme un taux relatif de perte hydrique ramené à une unité de temps horaire, il est noté *EWL* (pour *evaporative water loss*). La pesée des avatars s'effectue au moyen d'une balance de précision (modèle Kern EMB-202, précision 0.01 g). *EWL* est simplement la différence de masse pendant un pas de temps donné, divisée par la masse initiale, et ramenée à l'unité de temps horaire (1 heure).

Pour modéliser de façon plus détaillée le processus de déshydratation, les expériences ont été conduites aux heures les plus chaudes de la journée (entre 14h et 17h) avec un pas de temps horaire. Il s'agit d'expériences réalisées de façon répliquée, dans l'espace (en doublant le nombre d'avatars en agarose) et dans le temps (en répétant les mesures 3 fois). Une première session d'expériences a été réalisée à la fin de l'hiver et au début du printemps pour capturer les processus liés aux effets d'un épisode de chaleur extrême hivernal, organisée selon l'échéancier organisé selon l'échéancier du tableau VI. Une deuxième session d'expériences a été réalisée à la fin du printemps et durant l'été pour capturer les processus liés aux effets d'un épisode de chaleur extrême estival, organisée selon l'échéancier du Tab. LXV et Tab. LXVI.

Tab. LXV. dates de la première session d'expériences réalisée pour capturer les processus liés aux effets d'un épisode de chaleur extrême hivernal.

Date	Site	Conditions météorologiques particulières
16/2/2019	Aspe	
26/2/2019	Aspe	chaleur extrême hivernale
28/2/2019	Aspe	
16/3/2019	Aspe	

Tab. LXVI. dates de la deuxième session d'expériences réalisée pour capturer les processus liés aux effets d'un épisode de chaleur extrême estival.

Date	Site	Conditions météorologiques particulières
18/6/2019	Irati	chaleur précoce estivale (hors canicule)
26/6/2019	Irati	chaleur extrême estivale (1er épisode caniculaire été 2019)
22/7/2019	Aspe	chaleur extrême estivale (2ème épisode caniculaire été 2019)
13/8/2019	Aspe	
14/8/2019	Aspe	
24/8/2019	Aspe	

8.3 Résultats

8.3.1 Suivi de la reproduction de *Rana pyrenaica* : Variation d'abondance des têtards

Depuis 2012, un indice d'abondance des têtards et son écart-type associé sont calculés pour chaque saison de reproduction. Celui-ci est alors comparable d'année en année pour chaque site. La Fig. 147 restitue ces estimations, par année et par site.

Les effectifs estimés (nombre de têtards au m²) varient fortement d'un site à l'autre et d'une année à l'autre. Les sites d'Esterençuby à l'ouest, et d'Aspe Est à l'est, sont les sites où les ruisseaux sont les plus densément peuplés par les têtards de l'espèce (de 2 à 12 têtards au m²). A l'inverse, le nombre de têtards est faible à nul sur Lecumberry et Larrau notamment. D'une année sur l'autre, les densités estimées peuvent varier d'un simple au triple (exemple d'Esterençuby, années 2015 et 2016).

A noter : les sites « Lecumberry II » et le site « Aspe Est II » ne sont suivis que depuis 2017. Comme en 2017 et en 2018, aucune reproduction n'a été observée sur le site Lecumberry II.

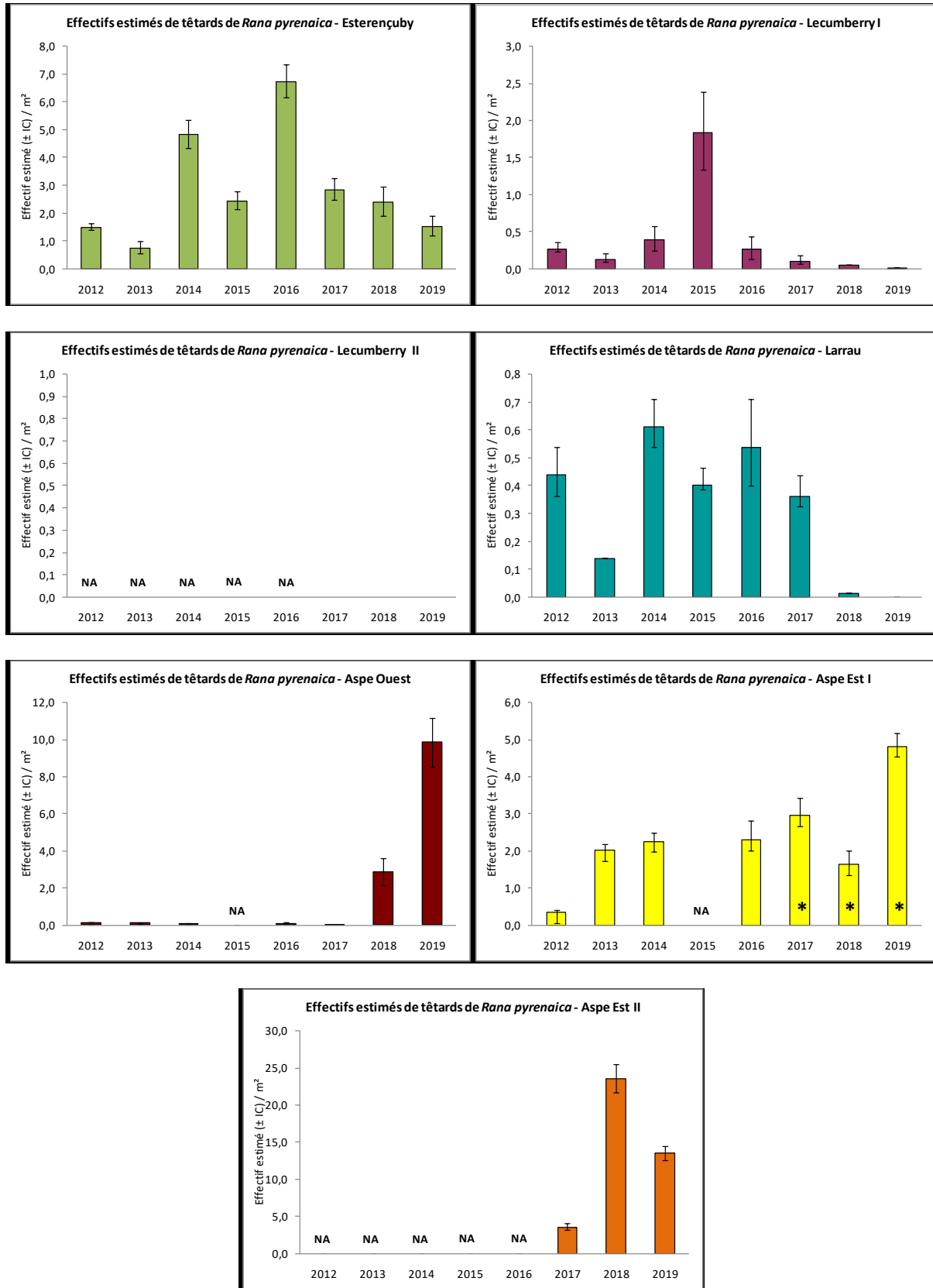


Fig. 147. Evolution des estimations de l'abondance des têtards sur les sept sites suivis, années 2012 à 2019.

• **Influence des phénomènes des paramètres climatiques sur la reproduction**

Les données de reproduction ont été mises en lien avec les variables climatiques. Voici les variables retenues, sur la base desquelles une série d'analyse type Analyse par Composantes Principales (ACP) ont été réalisées (Tab. LXVII, Fig. 148).

Tab. LXVII. Tableau récapitulatif des valeurs météorologiques annuelles.

Année		2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Densités de têtards au m ²	Esterencuby	26	7	47	32	68	27	15	10
	Lecumberry I	4	1	3	4	2	1	1	0
	Larrau	7	3	10	8	6	6	0	0
	Aspe Ouest	1	0	0	NA	1	0	2	5
	Aspe Est I	5	24	34	NA	16	18	13	50
	Aspe Est II	NA	NA	NA	NA	NA	38	88	159
Crues printanières (Précipitation Max entre Avril et Juin à Pau - mm)		28	49	36	45	23	32	91	23
Chute de neige (total précipitation entre nov. Et février - mm)		345	625	671	556	448	289	531	349
Douceur printanière (moyenne des T° max entre mars et juillet)		21	20	21	22	20	22	21	21
Ensoleillement printanier (durée d'ensoleillement entre mars et juillet - h)		970	886	948	935	837	1022	837	1036
Froid hivernal (moyenne des T° mini entre novembre et février)		3	3	4	4	5	3	3	4
Froid au printemps (moyenne des T° mini entre mars et juillet)		10	10	11	11	11	11	11	10
Température minimale au printemps (T° mini enregistrée entre mars et juillet)		-1	-2	1	-1	0	1	-3	0

Les différents sites colonisés semblent réagir de façon différente aux variations climatiques annuelles. Les sites de la forêt d'Iraty semblent ainsi fortement corrélés **positivement aux froids hivernaux et printaniers** (hauteur de neige hivernale, etc...). A l'inverse, les stations de la vallée d'Aspe semblent principalement corrélées **négativement par les crues printanières**.

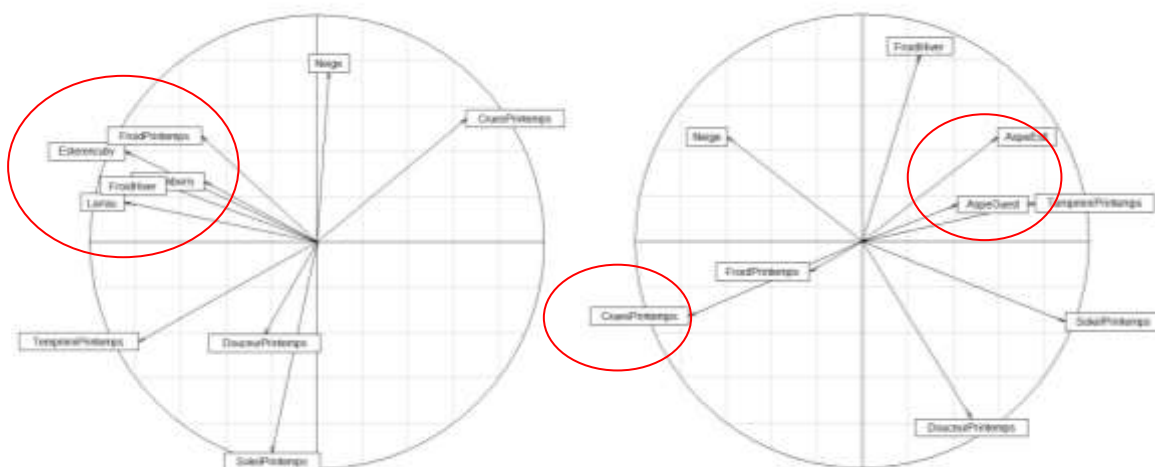


Fig. 148. Analyse par Composantes Principales pour les sites de la forêt d'Iraty (à gauche) et la vallée d'Aspe (à droite) sur la base des résultats des années 2012 à 2019.

8.3.2 Position de la température optimale de *Rana pyrenaica* dans la distribution des températures des cours d'eau étudiés

Les séries chronologiques de température des cours d'eau n'étant pas exploitables jusqu'en 2018 (en raison de données manquantes et/ou entachées d'erreurs liées aux exondations), l'analyse est faite à partir des séries de 2019, en limitant la saison de développement des têtards à la période du 1er février 2019 au 18 juin 2019.

La série temporelle de données pour le site d'Aspe ouest (population béarnaise) n'étant pas disponible au moment de la rédaction du rapport, la série obtenue sur le site d'Estérençuby sert de cadre structurant pour la population basque. La distribution des températures est présentée sous forme : i/ d'un résumé des statistiques majeures (Tab. LXVIII), ii/ d'histogrammes des fréquences et iii/ de courbe de densité (Fig. 149 et Fig. 150).

Tab. LXVIII. Statistiques descriptives des séries temporelles de températures des cours d'eau étudiés pour la saison de développement des têtards (période du 1er février 2019 au 18 juin 2019; $n = 6599$ mesures).

Cours d'eau (altitude en mètres)	T_{min} - Température minimale (°C)	T_{25} - Q1 (°C) des températures	T_{med} - Température médiane (°C)	T_{moy} - Température moyenne (°C)	T_{75} - Q3 (°C) des températures	T_{max} - Température maximale (°C)
Estérençuby (900 m)	1.69	5.77	6.94	7.06	8.19	12.41
Ossau 1 (1100 m/ milieu ouvert)	0.08	3.98	6.58	7.22	9.96	22.99
Ossau 2 (700 m/ milieu ouvert)	1.85	7.32	8.89	8.73	10.19	14.41

Contre toute attente, avec une température moyenne (T_{moy}) de 7.06 °C, une T_{min} de 1.69°C et une T_{max} de 12.41°C (amplitude $T_{max} - T_{min} = 10.72$ °C), **la température du chenal dans le cours d'eau permanent d'Estérençuby abritant une population de *Rana pyrenaica* n'atteint jamais la température optimale estimée pour les têtards de l'espèce ($T_{opt} = 13.1$ °C ou 14.2°C selon la méthode d'investigation, à savoir TPC vs EAVC, la première étant moins restrictive des deux) des têtards (Fig. 149 et Fig. 150). En outre, seulement 21% des températures sont situées dans la fenêtre thermique d'activité estimée, au-dessus de la limite inférieure (LAT = 8.4 °C). L'écart entre la température optimale et la température moyenne du cours d'eau et ($T_{opt} - T_{moy}$) est compris entre 6.04°C et 7.14°C selon la méthode d'estimation de T_{opt} , i.e. TPC vs EAVC). Il convient de rappeler ici que la fenêtre thermique d'activité construite à partir des courbes de vigueur d'activité (EAVCs) est plus étroite que la gamme de tolérance thermique établie au moyen des courbes de performance thermique (TPCs), seule la première approche correspondant à une mesure de l'activité volontaire, donc en principe plus révélatrice de la réalité biologique *in situ*.**

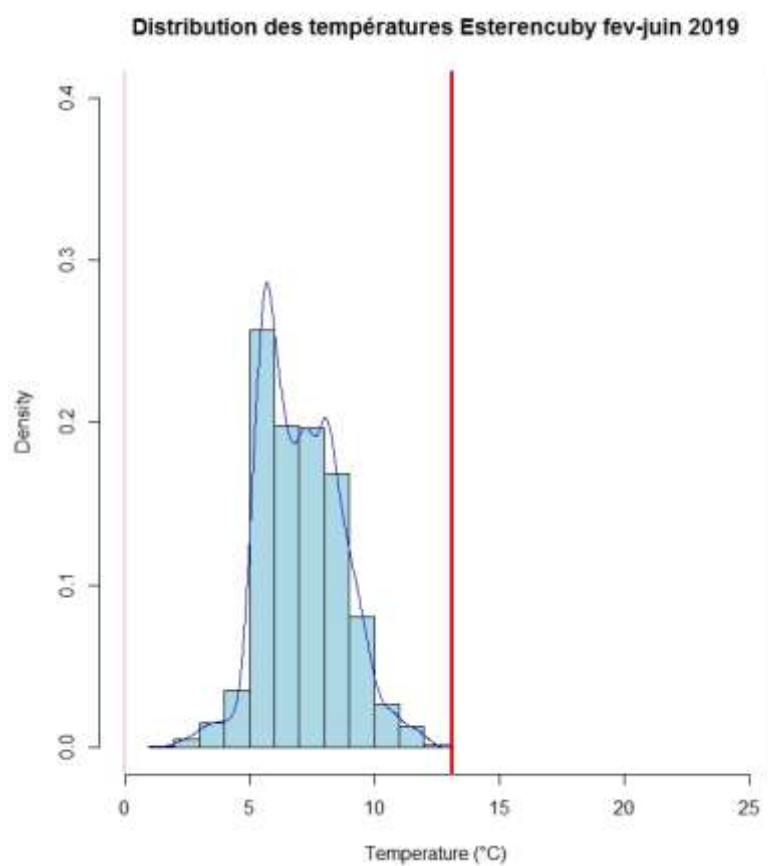


Fig. 149. Superposition de la température optimale obtenue par l'approche TPC ($T_{opt} = 13.1\text{ °C}$, trait rouge épais) et de la gamme de tolérance ($CT_{min} = -0.1\text{ °C}$ à $CT_{max} = 26.3\text{ °C}$, entre les deux traits rouges fins) de *Rana pyrenaica* sur la courbe de densité (trait continu bleu) et l'histogramme des températures du cours d'eau d'Esterencuby pour la saison de développement des têtards (période du 1^{er} février 2019 au 18 juin 2019).

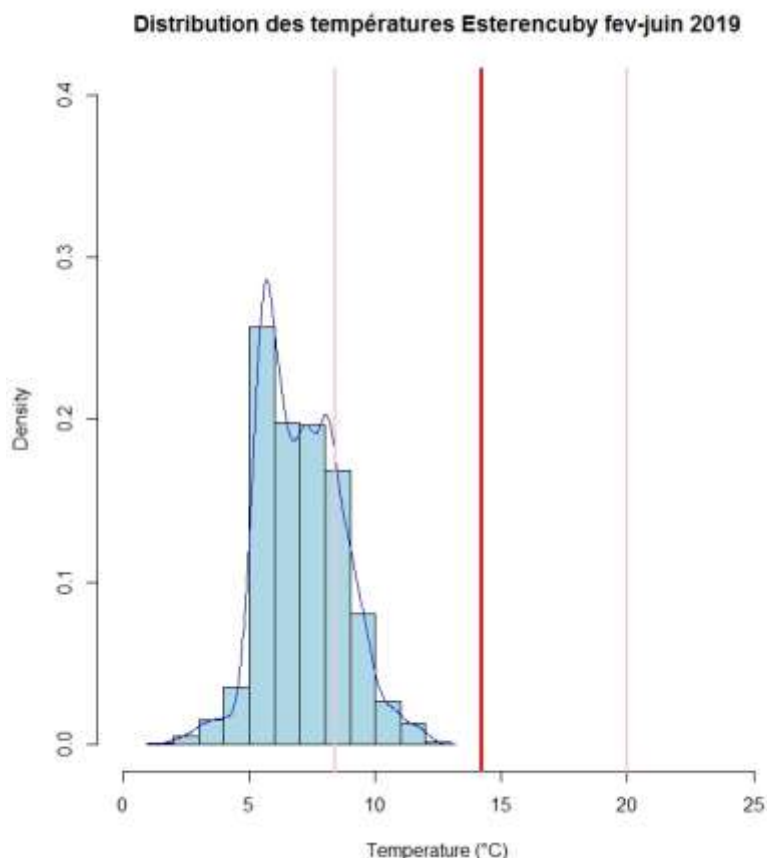


Fig. 150. Superposition de la température optimale obtenue par l'approche EAVC ($T_{opt} = 14.2\text{ °C}$, trait rouge épais) et de la fenêtre thermique d'activité de $11,6\text{ °C}$ (LAT = 8.4 °C à UAT = 20.0 °C , entre les deux traits rouges fins) de *Rana pyrenaica* sur la courbe de densité (trait continu bleu) et l'histogramme des températures du cours d'eau d'Estérençuby pour la saison de développement des têtards (période du 1^{er} février 2019 au 18 juin 2019).

Les cours d'eau à fonctionnement intermittent, en milieu prairial (Ossau 1) et milieu forestier (Ossau 2), qui n'hébergent pourtant aucune population de *Rana pyrenaica* sont caractérisés par des écarts entre la température optimale et la température moyenne du cours d'eau et ($T_{opt} - T_{moy}$) plus faibles, compris pour Ossau 1 entre 5.88 °C et 6.98 °C selon la méthode d'estimation de T_{opt} , i.e. TPC vs EAVC) et pour Ossau 2 entre 4.37 °C et 5.47 °C selon la méthode d'estimation de T_{opt} , i.e. TPC et EAVC respectivement). Pour ces deux cours d'eau, 35% et 59% respectivement des températures sont situées dans la fenêtre thermique d'activité, au-dessus de la limite inférieure (LAT = 8.4 °C). Pour Ossau 1, les températures optimales estimées $T_{opt-TPC} = 13.1\text{ °C}$ et $T_{opt-EAVC} = 14.2\text{ °C}$ sont atteintes dans 12% et 9% des cas respectivement. Pour Ossau 2, les températures optimales estimées $T_{opt-TPC} = 13.1\text{ °C}$ et $T_{opt-EAVC} = 14.2\text{ °C}$ sont atteintes dans 2% et 0.1% des cas respectivement (Fig. 151).

Sans tenir compte de l'hétérogénéité des micro-habitats d'un cours d'eau, les informations statistiques sommaires indiquent, qu'en théorie, des petits ruisseaux aux régimes hydrologiques naturels différents et plus chauds possèdent des caractéristiques thermiques en apparence plus favorables, car plus proches de la température optimale estimée pour les têtards de *Rana pyrenaica*.

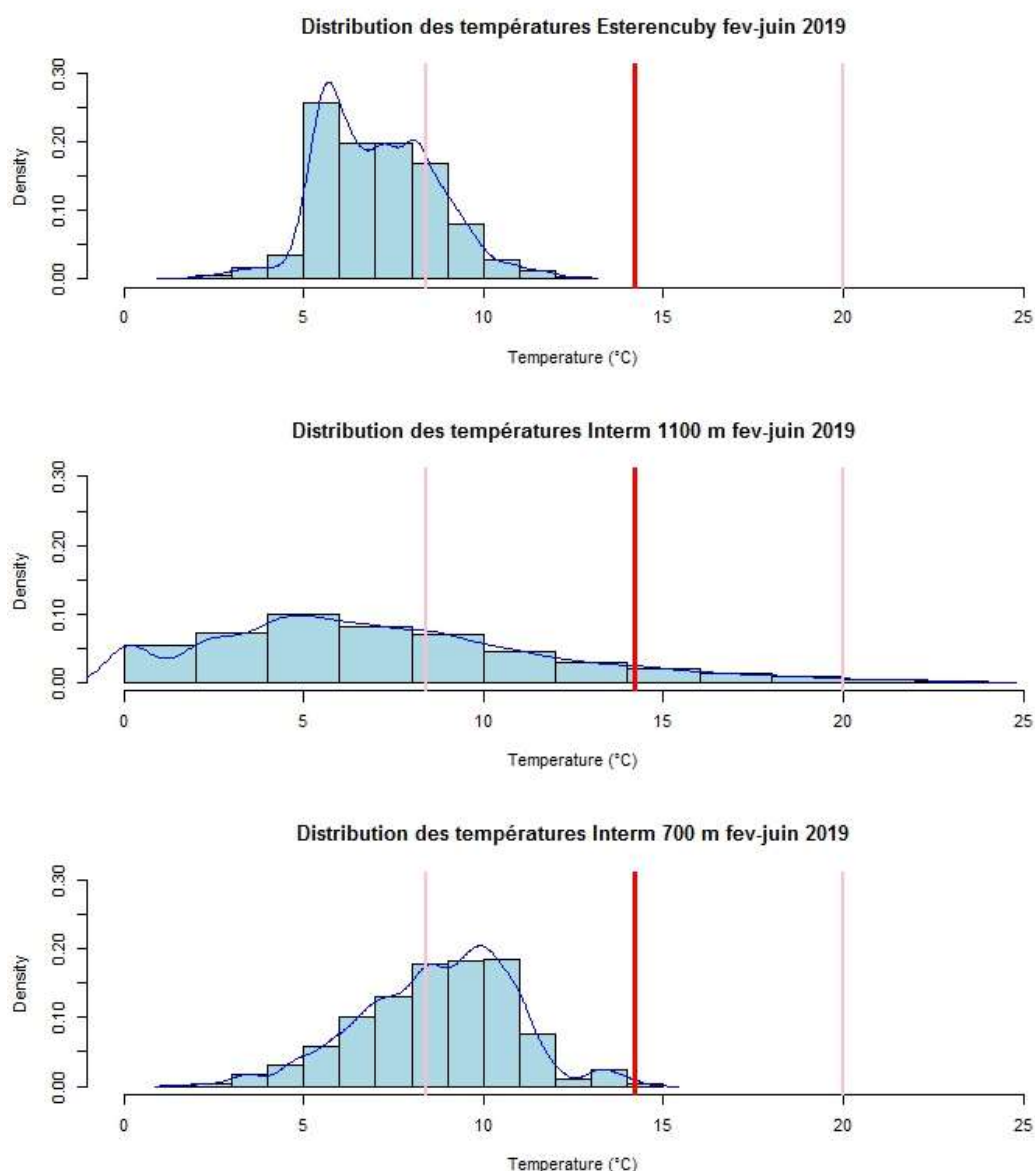


Fig. 151. Superposition de la température optimale obtenue par l'approche EAVC ($T_{opt} = 14.2\text{ °C}$, trait rouge épais) et de la fenêtre thermique d'activité de $11,6\text{ °C}$ (LAT = 8.4 °C à UAT = 20.0 °C , entre les deux traits rouges fins) de *Rana pyrenaica* sur la courbe de densité (trait continu bleu) et l'histogramme des températures pour 3 cours d'eau pendant la saison de développement des têtards (période du 1er février 2019 au 18 juin 2019): (en haut) ruisseau permanent d'Esterencuby, (au milieu) ruisseau temporaire en milieu ouvert Ossau 1 et (en bas) ruisseau temporaire en milieu fermé Ossau 2.

Au final, il transparaît que le développement des têtards de *Rana pyrenaica* s'effectue dans des eaux bien plus froides que les analyses écophysiologiques et comportementales l'indiqueraient *a priori*. Dans ce cas, comment expliquer que des têtards se développent dans une eau qui n'atteint jamais la température optimale d'activité mesurée sur le terrain, par deux approches complémentaires différentes ? Comme l'indiquent les suivis naturalistes faits (suivis de réussite annuelle de la reproduction cf § 8.3.1), les têtards exploitent des vasques isolées ou des micro-habitats marginaux plus chauds que le chenal, et la réponse est donc à chercher en fait dans l'hétérogénéité des micro-habitats d'un cours d'eau et les stratégies d'utilisation de l'habitat par l'espèce au cours de son cycle vital (HUEY, 1991).

8.3.3 Etude expérimentale *in situ* de la déshydratation et de l'influence possible du comportement au moyen des avatars en agarose

- *Résultats des expériences hivernales et caractérisation des effets de l'événement extrême chaud du 27/02/2019*

Les taux horaires d'évaporation (EWL) obtenus lors des 5 expériences hivernales de terrain (3/1/2019; 2/27/2019; 2/17/2019; 2/22/2019; 3/16/2019) sont présentés et comparés facteur par facteur: taille (petit modèle en agarose versus grand modèle) et comportement imité (modèle en agarose exposé à l'air, avatar d'un individu adulte actif versus modèle en agarose caché sous du bois, avatar d'un individu adulte inactif). A l'exception de la dernière (3/16/2019), ces expériences réalisées en hiver ne bénéficiaient pas de réplification spatiale. Compte tenu du nombre limité d'expériences, les analyses statistiques par GLM seront envisagées à l'issue du programme.

Les statistiques simples pour les deux modalités des deux facteurs sont exprimées par les valeurs moyennes et l'écart-type (Tab. LXIX) comparées deux-à-deux en terme d'écart ($\Delta EWL = EWL_{act} - EWL_{inactif}$) et de ratio ($EWL_{act}/EWL_{inactif}$). Les écart-types parfois du même ordre de grandeur que la moyenne (notamment pour le ratio $EWL_{act}/EWL_{inactif}$ et pour les $EWL_{inactif}$) témoignent de l'importance de la variabilité des résultats et incitent d'une part à une certaine prudence sur l'interprétation de certains résultats et d'autre part à la poursuite de ces expériences jusqu'à la fin du programme.

Pour la première fois, des expérimentations *in situ* permettent d'illustrer de façon indirecte les taux de déshydratation, et donc la vulnérabilité, de grenouilles adultes lors d'épisodes chauds qui surviennent de façon précoce en fin d'hiver. Celles-ci indiquent que comparé à un avatar en situation de refuge (individu sensé être inactif), le taux de déshydratation est en moyenne 13.50 fois plus élevé chez un avatar exposé (individu supposé actif); ce ratio est deux fois plus élevé ($EWL_{act}/EWL_{inactif} = 26.022$) chez des avatars en agarose de grande taille.

Pour les avatars imitant des grenouilles actives, les pertes hydriques sont en moyenne 1.30 fois plus importantes pour les petits modèles (mimant *Rana pyrenaica*) que pour les modèles de grande taille, traduisant une plus grande vulnérabilité des petites espèces. Ce constat prévaut aussi pour les avatars protégés par du bois (imitant des grenouilles supposées inactives, en refuge), de façon exacerbée (le ratio s'élève à 1.90).

A: taux relatifs horaires de perte hydrique pour les petits avatars inactifs ($sEWL_{inactif}$) versus pour les petits avatars actifs ($sEWL_{actif}$); A: taux relatifs horaires de perte hydrique pour les grands avatars inactifs ($IEWL_{inactif}$) versus pour les grands avatars actifs ($IEWL_{actif}$); C: taux relatifs horaires de perte hydrique pour les petits avatars inactifs ($sEWL_{inactif}$) versus pour les grands avatars inactifs ($IEWL_{inactif}$); D: taux relatifs horaires de perte hydrique pour les petits avatars actifs ($sEWL_{actif}$) versus pour les grands avatars actifs ($IEWL_{actif}$) (Tab. LXIX).

Tab. LXIX. Statistiques simples (valeur moyenne \pm écart-type) décrivant les taux relatifs horaires de perte hydrique (EWL pour evaporative water loss) obtenus en hiver pour les deux modalités des deux facteurs et comparaison deux-à-deux en terme d'écart ($\Delta\text{EWL} = \text{EWL}_{\text{lactif}} - \text{EWL}_{\text{inactif}}$) et de ratio ($\text{EWL}_{\text{lactif}}/\text{EWL}_{\text{inactif}}$).

A				$\Delta\text{EWL} = \text{EWL}_{\text{lactif}} - \text{EWL}_{\text{inactif}}$ (Ecart)	$\text{EWL}_{\text{lactif}}/\text{EWL}_{\text{inactif}}$ (Ratio)
	sEWLinactif	sEWLactif			
Petit modèle	0.009 \pm 0.010	0.038 \pm 0.011	0.029 \pm 0.015	13.503 \pm 14.047	
B				$\Delta\text{EWL} = \text{EWL}_{\text{lactif}} - \text{EWL}_{\text{inactif}}$ (Ecart)	$\text{EWL}_{\text{lactif}}/\text{EWL}_{\text{inactif}}$ (Ratio)
	IEWLinactif	IEWLactif			
Grand modèle	0.005 \pm 0.007	0.031 \pm 0.014	0.026 \pm 0.015	26.028 \pm 28.107	
C				$\Delta\text{EWL} = \text{IEWLinactif} - \text{sEWLinactif}$ (Ecart)	$\text{sEWLinactif}/\text{IEWLinactif}$ (Ratio)
	sEWLinactif	IEWLinactif			
Modèle inactif (refuge)	0.009 \pm 0.010	0.005 \pm 0.007	-0.004 \pm 0.004	1.901 \pm 0.884	
D				$\Delta\text{EWL} = \text{IEWLactif} - \text{sEWLactif}$ (Ecart)	$\text{sEWLactif}/\text{IEWLactif}$ (Ratio)
	sEWLactif	IEWLactif			
Modèle actif (exposé)	0.038 \pm 0.011	0.031 \pm 0.014	-0.007 \pm 0.010	1.302 \pm 0.293	

L'analyse graphique (Fig. 152) permet de dégager quelques tendances, qui seront à confirmer statistiquement ultérieurement. Sur cette figure, tous les points (avatar petite taille, c'est-à-dire avatar type *Rana pyrenaica*) et les triangles (avatar grande taille) sont situés au-dessus de la ligne pointillée, qui représente la ligne d'égalité des EWL (au plan mathématique, il s'agit de la bissectrice définie par $\text{EWL}_{\text{actif}} = \text{EWL}_{\text{inactif}}$); dans la mesure où tous les points sont dans le plan supérieur, ceci indique que les taux horaires d'évaporation ($\text{EWL}_{\text{actif}}$) sont supérieurs dans les avatars exposés à l'air, sans dépasser des valeurs de 0.06. Pour autant, les taux horaires d'évaporation des avatars protégés ($\text{EWL}_{\text{inactif}}$), à l'abri dans un refuge sous du bois, ne sont pas forcément nuls et varient fortement sans dépasser des valeurs de 0.035.

L'épisode extrême chaud (type "canicule hivernale") du 27 février 2019 se démarque nettement : indiqué par un point rouge (avatar petite taille, c'est-à-dire avatar type *Rana pyrenaica*) et un triangle rouge (avatar grande taille) sur la Fig. 152 ne se traduit pas par une hausse des $\text{EWL}_{\text{actif}}$, mais par une augmentation des $\text{EWL}_{\text{inactif}}$. Comparée à la moyenne calculée pour les autres expériences hivernales en excluant la valeur du 27/2/2019, la valeur d' $\text{EWL}_{\text{inactif}}$ pour la journée exceptionnellement chaude du 27/02/2019 (0.005 \pm 0.006 pour les petits avatars vs 0.003 \pm 0.004 pour les grands avatars) est multipliée par 5.18 pour les modèles en agarose de petite taille et par 5.41 pour les modèles en agarose de petite taille. Par contraste, la valeur d' $\text{EWL}_{\text{actif}}$ pour cette journée exceptionnellement chaude n'est pas affectée et reste du même ordre de grandeur (x 1.1 pour les modèles en agarose de petite taille et x 0.76 pour les modèles en agarose de petite taille).

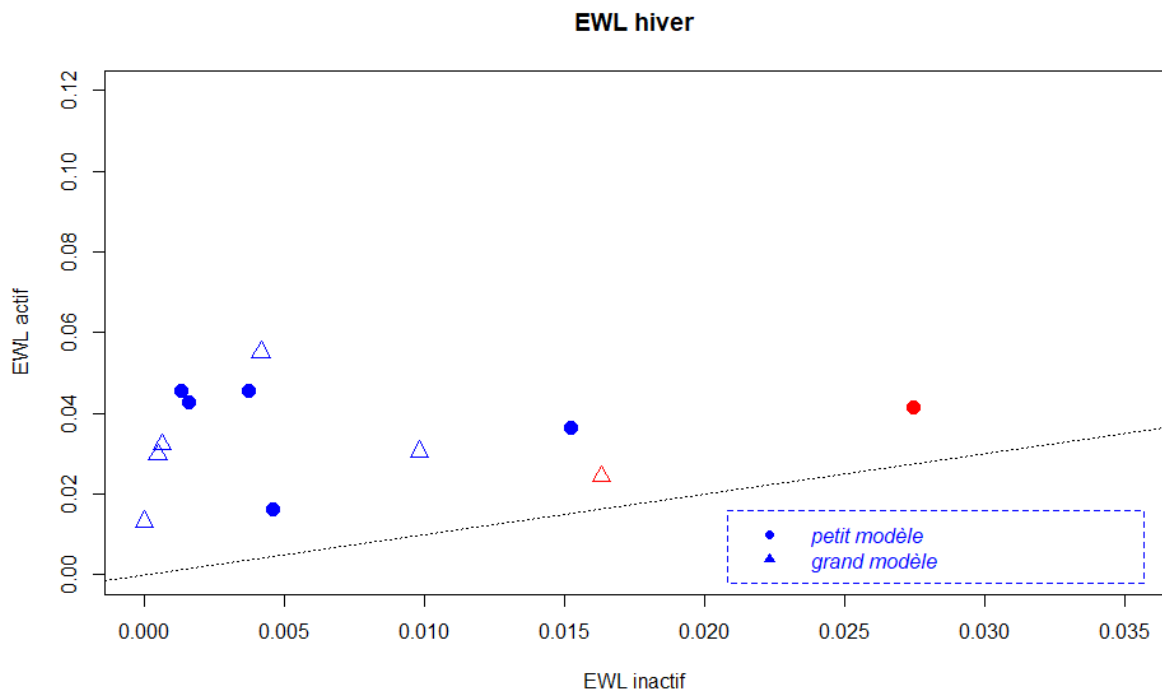


Fig. 152. Caractérisation des taux horaires d'évaporation (*EWL*) obtenus lors des 5 expériences de terrain hivernales (3/1/2019; 2/27/2019; 2/17/2019; 2/22/2019; 3/16/2019).

Les points représentent les valeurs d'*EWL* pour les petits modèles en agarose et les triangles représentent les valeurs d'*EWL* pour les grands modèles en agarose. En ordonnée, les valeurs d'*EWL* des modèles en agarose exposés à l'air (avatar d'un individu adulte actif) et en abscisse les valeurs d'*EWL* des avatars inactifs, typiquement cachés sous du bois. L'épisode extrême chaud du 27 février 2019 est indiqué par un point rouge (avatar petite taille, c'est-à-dire de type *Rana pyrenaica*) et un triangle rouge (avatar grande taille).

- Résultats des expériences estivales et caractérisation des effets des deux canicules (fin juin et fin juillet 2019)

Comme précédemment, les taux horaires d'évaporation (*EWL*) obtenus lors des 4 expériences de terrain (6/18/2019 ; 7/22/2019 ; 8/14/2019; 8/24/2019) sont présentés et comparés facteur par facteur: taille (petit modèle en agarose versus grand modèle) et comportement imité (modèle en agarose exposé à l'air, avatar d'un individu adulte actif versus modèle en agarose caché sous du bois, avatar d'un individu adulte inactif). Contrairement aux expériences réalisées en hiver, cette série estivale bénéficiait d'une réplification spatiale (2 modèles de chaque taille) et temporelle (3 mesures pendant l'après-midi); il en résulte un plus grand nombre de mesures, sans pour autant atteindre l'effectif critique permettant des analyses statistiques robustes par GLM, qui seront envisagées à l'issue du programme.

Les statistiques simples pour les deux modalités des deux facteurs sont exprimées par les valeurs moyennes et l'écart-type (tableaux xx) comparées deux-à-deux en termes d'écart ($\Delta EWL = EWL_{act} - EWL_{inactif}$) et de ratio ($EWL_{act}/EWL_{inactif}$). Les écart-types parfois du même ordre de grandeur que la moyenne (notamment pour le ratio $EWL_{act}/EWL_{inactif}$ et pour les $EWL_{inactif}$) témoignent de l'importance de la variabilité des résultats et incitent d'une part à une certaine prudence sur l'interprétation de certains résultats et d'autre part à la poursuite de ces expériences jusqu'à la fin du programme.

L'analyse graphique (Fig. 153) permet de dégager quelques tendances, qui seront à confirmer statistiquement ultérieurement. Sur cette figure, tous les points (avatar petite taille, c'est-à-dire avatar type *Rana pyrenaica*) et les triangles (avatar grande taille) sont situés au-dessus de la ligne pointillée, qui représente la ligne d'égalité des EWL (au plan mathématique, il s'agit de la bissectrice définie par $EWL_{actif} = EWL_{inactif}$); dans la mesure où tous les points sont dans le plan supérieur, ceci indique que les taux horaires d'évaporation (EWL_{actif}) sont supérieurs dans les avatars exposés à l'air, sans dépasser des valeurs de 0.12. Pour autant, les taux horaires d'évaporation des avatars protégés ($EWL_{inactif}$), à l'abri dans un refuge sous du bois, ne sont pas forcément nuls et varient fortement sans dépasser des valeurs de 0.035.

Les mesures de déshydratation effectuées lors des deux épisodes extrêmes chauds caniculaires des 6/18/2019 puis 7/22/2019 forment le nuage de point le plus à droite; comparativement aux mesures effectuées lors de journées estivales sans excès de chaleur, elles se manifestent non pas par une hausse des EWL_{actif} , mais par une augmentation des $EWL_{inactif}$.

Dans le rapport précédent (MALLARD, 2018a), il était avéré que les avatars en agarose indiquaient certainement une vulnérabilité plus forte des grenouilles de petite taille, compte tenu de taux de déshydratation supérieurs, notamment durant les heures chaudes de la journée. Les expérimentations réalisées en 2019 affinent cette conclusion, en indiquant en plus que comparé à un avatar en situation de refuge (individu sensé être inactif), ce taux est en moyenne 15.77 fois plus élevé chez un avatar exposé (individu supposé actif); ce ratio est deux fois moindre ($EWL_{actif}/EWL_{inactif} = 8.66$) chez des avatars en agarose de grande taille.

Pour les avatars imitant des grenouilles actives, les pertes hydriques sont en moyenne 1.39 fois plus importantes pour les petits modèles (mimant *Rana pyrenaica*) que pour les modèles de grande taille, confirmant une plus grande vulnérabilité théorique des petites espèces. Ce constat prévaut aussi pour les avatars protégés par du bois, quoique dans une moindre mesure (le ratio n'est que de 1.12).

A: taux relatifs horaires de perte hydrique pour les petits avatars inactifs ($sEWL_{inactif}$) versus pour les petits avatars actifs ($sEWL_{actif}$); A: taux relatifs horaires de perte hydrique pour les grands avatars inactifs ($IEWL_{inactif}$) versus pour les grands avatars actifs ($IEWL_{actif}$); C: taux relatifs horaires de perte hydrique pour les petits avatars inactifs ($sEWL_{inactif}$) versus pour les grands avatars inactifs ($IEWL_{inactif}$); D: taux relatifs horaires de perte hydrique pour les petits avatars actifs ($sEWL_{actif}$) versus pour les grands avatars actifs ($IEWL_{actif}$) (Tab. LXX).

Tab. LXX. Statistiques simples (valeur moyenne \pm écart-type) décrivant les taux relatifs horaires de perte hydrique (EWL pour evaporative water loss) obtenus en été pour les deux modalités des deux facteurs et comparaison deux-à-deux en terme d'écart (Δ EWL = EWLactif-EWLinactif) et de ratio (EWLactif/EWLinactif).

A		Δ EWL = EWLactif-EWLinactif (Ecart)	EWLactif/EWLinactif (Ratio)	
	sEWLinactif	sEWLactif		
Petit modèle	0.010 \pm 0.010	0.067 \pm 0.026	0.058 \pm 0.020	15.775 \pm 12.712

B		Δ EWL = EWLactif-EWLinactif (Ecart)	EWLactif/EWLinactif (Ratio)	
	IEWLinactif	IEWLactif		
Grand modèle	0.008 \pm 0.007	0.050 \pm 0.019	0.042 \pm 0.014	8.662 \pm 3.722

C		Δ EWL = IEWLinactif-sEWLinactif (Ecart)	sEWLinactif/IEWLinactif (Ratio)	
	sEWLinactif	IEWLinactif		
Avatar inactif (refuge)	0.010 \pm 0.010	0.008 \pm 0.006	-0.002 \pm 0.006	1.120 \pm 0.908

D		Δ EWL = IEWLactif-sEWLactif (Ecart)	sEWLactif/IEWLactif (Ratio)	
	sEWLactif	IEWLactif		
Avatar actif (exposé)	0.067 \pm 0.026	0.050 \pm 0.019	-0.017 \pm 0.018	1.396 \pm 0.456

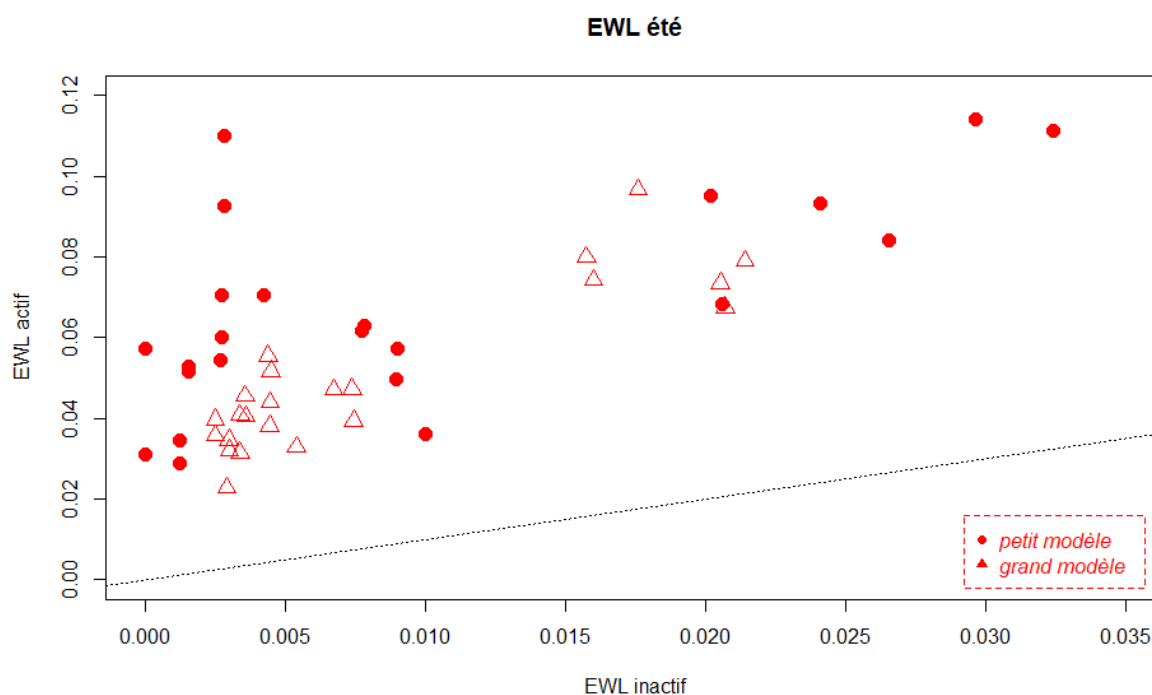


Fig. 153. Caractérisation des taux horaires d'évaporation (EWL) obtenus lors des 4 expériences répliquées de terrain estivales (6/18/2019 ; 7/22/2019 ; 8/14/2019 ; 8/24/2019).

Les points représentent les valeurs d'EWL pour les petits modèles en agarose et les triangles représentent les valeurs d'EWL pour les grands modèles en agarose. En ordonnée, les valeurs d'EWL des modèles en agarose exposés à l'air (avatar d'un individu adulte actif) et en abscisse les valeurs d'EWL des avatars inactifs, typiquement cachés sous du bois.

- Les évènements extrêmes chauds hivernaux ont-ils des effets différents de ceux survenant lors des canicules estivales ?

En hiver comme en été, le taux de déshydratation chez un avatar exposé (individu supposé actif) est en moyenne plus élevé comparé à un avatar en situation de refuge (individu sensé être inactif). En été comme en hiver, ce taux est du même ordre de grandeur chez les avatars de petite taille ($\times 13.50$ en hiver vs $\times 15.77$ en été); chez les modèles de grande taille, ce ratio est quatre fois plus élevé en hiver ($EWL_{actif}/EWL_{inactif} = 26.02$) qu'en été ($EWL_{actif}/EWL_{inactif} = 8.66$) ce qui pourrait indiquer une vulnérabilité plus marquée des grenouilles de grosse taille si des individus étaient contraints de sortir de leur refuge ou d'être actives pendant la journée lors d'épisodes hivernaux de forte chaleur.

En hiver comme en été, pour les avatars imitant des grenouilles actives, les pertes hydriques sont plus importantes pour les petits modèles (mimant *Rana pyrenaica*) que pour les modèles de grande taille, confirmant une plus grande vulnérabilité théorique des petites espèces (en hiver, ce rapport est en moyenne de 1.30 et en été de 1.39). Pour les avatars protégés par du bois (imitant des grenouilles inactives, en situation de refuge), les pertes hydriques sont également plus importantes pour les petits modèles, l'intensité variant du simple au double selon la saison (en hiver le ratio est de 1.90 alors qu'il n'est que de 1.12 en été).

En été comme en hiver, il ressort (Fig. 154) que les épisodes extrêmes chauds (type "canicule hivernale" ou "canicule estivale") se caractérisent nettement non pas par une hausse des EWL_{actif} mais par une augmentation des $EWL_{inactif}$: autrement dit, les épisodes caniculaires, qu'elle que soit la saison, augmenteraient la déshydratation de façon proportionnellement plus importante chez des individus inactifs, cachés sous un abri sommaire tel que l'est une branche. Ce phénomène semble encore plus prégnant chez les avatars de petite taille.

Enfin, autre leçon importante : les épisodes extrêmes chauds type "canicule hivernale" semblent, de façon absolue, avoir des effets sur les taux de perte hydrique moins marqués que pendant ceux de type "canicule estivale". De façon relative, les épisodes extrêmes chauds type "canicule hivernale" peuvent toutefois avoir des effets plus forts que les journées "normales" d'été.

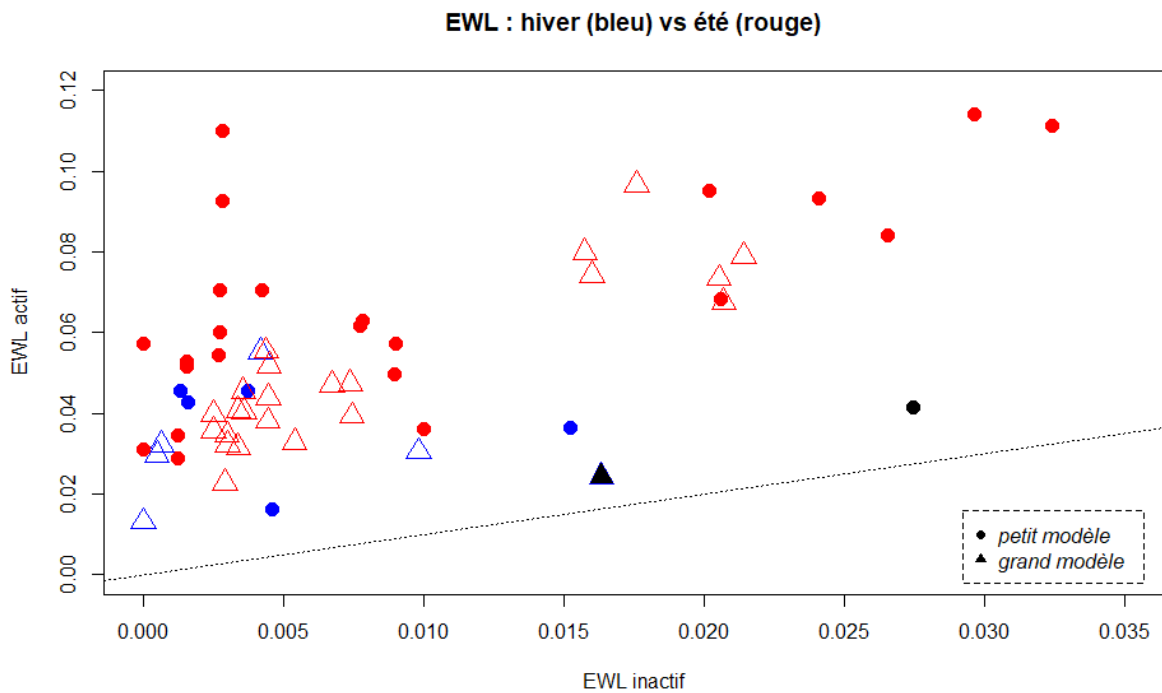


Fig. 154. Caractérisation combinée des taux horaires d'évaporation (*EWL*) obtenus lors des 5 expériences de terrain hivernales (couleur bleue) et 4 estivales (couleur rouge).

Les points représentent les valeurs d'*EWL* pour les petits modèles en agarose et les triangles représentent les valeurs d'*EWL* pour les grands modèles en agarose. En ordonnée, les valeurs d'*EWL* des modèles en agarose exposés à l'air (avatar d'un individu adulte actif) et en abscisse les valeurs d'*EWL* des avatars inactifs, typiquement cachés sous du bois. L'épisode extrême chaud du 27 février 2019 est indiqué par un point noir (avatar petite taille, c'est-à-dire de type *Rana pyrenaica*) et un triangle noir (avatar grande taille).

8.4 Discussion

8.4.1 Changement climatique et réussite de la reproduction chez *Rana pyrenaica*

Les résultats sont corrélés en fonction des sites à diverses variables climatiques. Les sites de la forêt d'Iraty semblent donc fortement corrélés **positivement aux froids hivernaux et printaniers** (hauteur de neige hivernale, etc.). Quand les stations de la vallée d'Aspe semblent principalement corrélées **négalement par les crues printanières**.

Les résultats de comptage mettent en évidence de fortes variations dans la réussite de reproduction annuelle. Le constat est assez inquiétant dans le secteur de la forêt d'Iraty : la reproduction est en forte baisse sur les sites historiques de Larrau et de Leccumberry. De même, le site d'Esterençuby montre une baisse d'effectifs assez important, même si les densités restent élevées comparativement aux autres sites. Il conviendra donc de surveiller les résultats des années à venir.

En vallée d'Aspe, le constat semble meilleur, avec des effectifs en hausse sur les trois sites suivis. Attention toutefois à l'analyse aux résultats obtenus sur « Aspe Ouest », probablement biaisé. Les phénomènes de crues impactent en effet de façon différente les comptages en fonction des sites, ce qui s'explique aisément par leurs dispositions respectives :

- Aspe Ouest correspond en effet à un transect situé en marge d'une population plus importante **en amont**. Des phénomènes de crues printaniers entraînent donc des phénomènes de lessivage et de dévalaison probablement défavorable à l'échelle de la population. Mais à l'échelle du site et d'un point strictement comptable, ce phénomène entraîne une corrélation positive entre crues et nombres de têtards, puisque le transect « reçoit » alors des individus venant de l'amont, qui, s'ils survivent, finissent leur croissance plus en aval (Fig. 155).
- C'est exactement l'inverse qui se produit en Aspe Est, où les sites suivis sont situés en tête de bassin. Les phénomènes de lessivage font donc baisser mécaniquement le nombre de têtards sur le site suivi, sans recrutement possible en aval.

Ce phénomène a par exemple été observé cette année sur le site de Aspe Ouest : 92 têtards ont été comptabilisés lors du premier passage sur une seule placette (probablement issus d'une même ponte), 61 têtards répartis sur 19 des 30 placettes lors du deuxième passage (soit 20 jours après un épisode pluvieux de grande importance, avec notamment 21 mm de précipitation le 16 mai), puis 129 têtards répartis sur 19 nouvelles placettes lors du troisième passage. De toute évidence, ces têtards proviennent de l'amont (Fig. 155).

Sur Aspe Ouest, 59 % des têtards ont disparu entre le passage 1 (01/05/2019) et le passage 2 (04/06/2019). Cette disparition est probablement imputable aux phénomènes de crues. La baisse est encore de 63 % entre le passage 2 et 3 (05/07/2019), mais ce deuxième chiffre doit être pondéré par le fait qu'une partie des têtards a pu, à cette date, se métamorphoser et quitter le milieu aquatique.

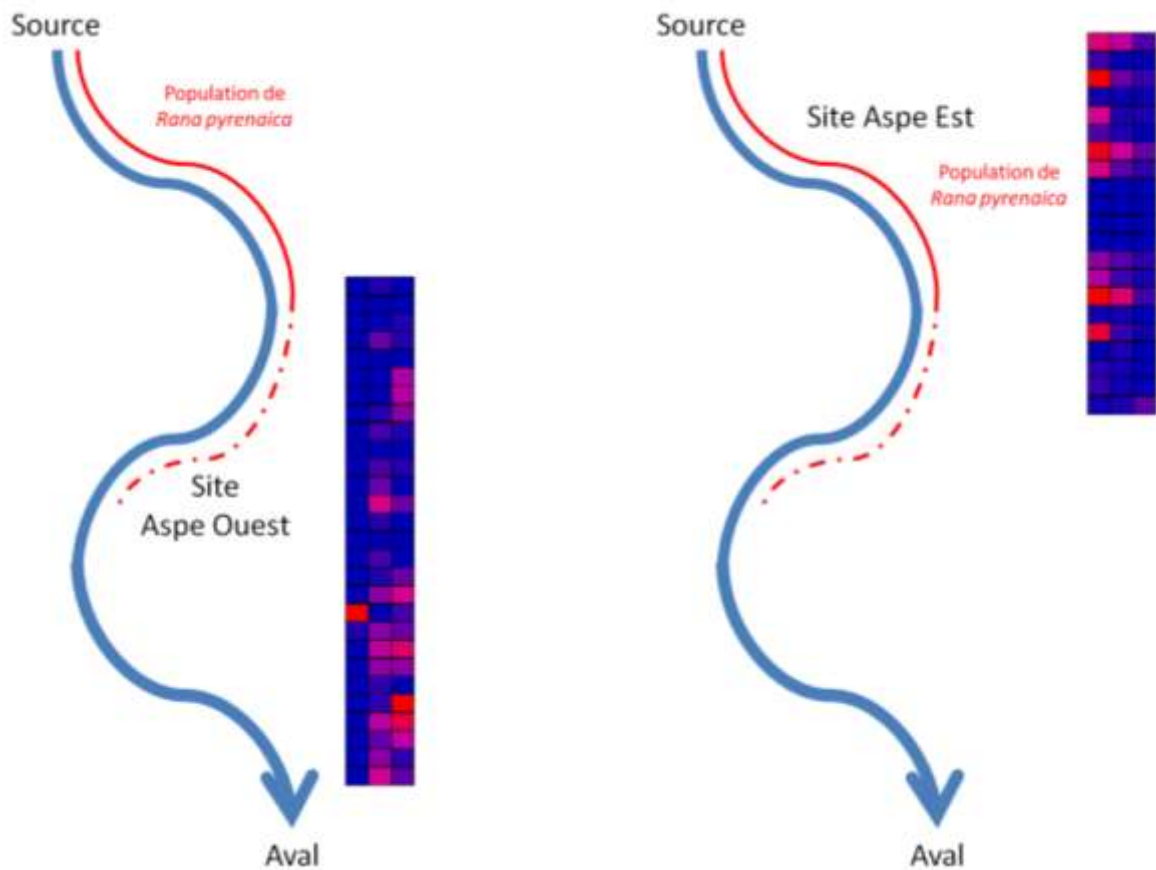


Fig. 155. Représentation schématique des placettes de suivi sur les sites Aspe Ouest et Aspe Est.

Les couleurs indiquent l'abondance des têtards (bleu = absence, rouge = présence) sur les différentes placettes de suivis et les trois colonnes indiquent les trois passages de l'année 2019. L'apport depuis l'amont de têtards est très visible aux passages 2 et 3 sur Aspe Ouest. La disparition progressive des têtards au cours des passages est visible sur Aspe Est.

Les conséquences de cette dérive vers l'aval peuvent être importantes sur les estimations d'abondance au moyen des modèles à N-mélanges, déjà assorties d'une incertitude non négligeable (traduite par un grand intervalle de confiance). Ces aspects ont été discutés en détail par Berroneau et al. (2015). Rappelons que ces modèles à N-mélanges (décrits initialement par ROYLE, 2004) requièrent un certain nombre de conditions d'application, qui, lorsqu'elles ne sont pas respectées, peuvent conduire à des biais importants (COUTURIER et al., 2013) évoquent des sous-estimations possibles d'un facteur x 2.19 comparées aux estimations par CMR pour une population de tortue d'Hermann). Cela ne remet pas en question l'intérêt des modèles à N-mélanges (BERRONEAU et al., 2015), qui restent incontournables pour l'étude d'espèces aussi menacées que *Rana pyrenaica* et ne peuvent être remplacées par des méthodes alternatives comme les méthodes de CMR (COUTURIER et al., 2013). Ces modèles fournissent des éléments solides sur la dynamique à moyen et long terme permettant une analyse de tendances; toutefois, l'existence de crues plus ou moins importantes selon les années, et selon les sites (vallée d'Aspe versus forêt d'Iraty), pourrait donc amener un biais dont l'ampleur reste à apprécier avant la fin du programme.

8.4.2 Etude écophysiological de *Rana pyrenaica* et caractérisation de sa niche thermique au cours de son cycle vital

- *Saisonnalité, utilisation de l'habitat par Rana pyrenaica et épisodes de chaleur extrême.*

Des deux réponses majeures face au changement climatique (adaptation génétique vs changement de comportement), la réponse génétique rapide est rarement adoptée. Un changement de comportement, en rapport avec un usage d'habitat privilégié, est plus souvent choisi; autrement dit, la thermorégulation comportementale qui conduit un individu à se déplacer vers un habitat favorable dans sa dimension thermique (dans le sens où il permet d'éviter une exposition à des températures $> T_e$). Prosaïquement, l'individu choisit d'utiliser un habitat plus frais. Toutefois, l'intérêt d'une telle stratégie peut être contrecarré par le fait qu'elle entraîne une réduction du temps d'activité et confine les individus dans des habitats sub-optimaux avec pour corollaire un déclin dans la taille de population ou une extinction. Chez les amphibiens, en fait, la déshydratation représente un risque, une contrainte physiologique, plus restrictive que la température (BARTELT *et al.*, 2010). Les amphibiens, sous l'effet combiné des conditions environnementales (ex rayonnement solaire, vent...), subissent continuellement des pertes hydriques (EWL) par la peau (SNYDER & HAMMERSON, 1993) et doivent se maintenir en-deçà d'un taux de déshydratation critique (EWL_{crit}). Les amphibiens peuvent retarder les effets adverses de la déshydratation par des voies physiologique (réponses anti-diurétiques par exemple) ou comportementales (postures ou déplacements dirigés); ils cherchent ainsi à trouver un équilibre entre température corporelle et taux de déshydratation optimaux. Le problème est qu'ils ne peuvent pas optimiser les deux (TRACY *et al.*, 2010 ; MITCHELL & BERGMANN, 2016). Ainsi, des individus déshydratés sont plus sensibles à des variations de température (performance et T_{opt} réduites) et des températures élevées diminuent la tolérance à la déshydratation (performance et EWL_{crit}) (ANDERSON & ANDRADE, 2017). Des suivis de terrain, corroborés par des expériences en laboratoire, indiquent que les amphibiens cherchent des environnements (habitats) qui leur permettent de maintenir une hydratation correcte au prix de subir des températures environnementales sous-optimales (i.e. $T_e < T_{opt}$).

De ce fait, toute investigation sérieuse sur les effets potentiels du changement climatique sur les populations d'amphibiens doit intégrer à la fois les forçages thermique et hydrique, sous peine de sévèrement sous-estimer les risques.

Localement, pour *Rana pyrenaica*, les résultats exploratoires font apparaître (cf § 8.3.3) que les différentes populations locales connues semblent réagir de façon différente aux variations climatiques annuelles. Ainsi, la réponse numérique (en l'occurrence l'abondance estimée) sur les sites de la forêt d'Iraty apparaît corrélée **positivement aux froids hivernaux et printaniers** (hauteur de neige hivernale, etc...) tandis que sur les stations de la vallée d'Aspe elle semble principalement corrélée **négativement aux crues printanières**. Comme expliqué au paragraphe 8.1.3, ces résultats appellent donc de nouvelles investigations pour : 1) comprendre pourquoi et comment des printemps et hivers plus chauds impactent le milieu et les populations et 2) mesurer plus précisément l'impact des crues sur la dispersion et la survie des têtards vers l'aval.

Les expériences effectuées cette année confirment les résultats obtenus l'année précédente notamment pour :

- le facteur "taille" (petit avatar versus grand avatar) qui permet de modéliser la réponse de *Rana pyrenaica* par rapport à des espèces plus grosses comme *Rana temporaria* ou *Bufo spinosus*. Comme exprimé dans le rapport précédent (MALLARD, 2018a), les expériences de terrain et la

bibliographie indiquent que les espèces de petite taille sont plus vulnérables au changement climatique que les espèces de grande taille.

- le facteur "exposition" (individu actif en surface vs individu inactif en refuge) qui permet de capturer dans les modèles l'effet supposé contre-adaptatif généré par une réduction forcée de l'activité en surface (correspondant par exemple à celle d'un individu adulte se déplaçant à la recherche de proies) et une augmentation du temps passé inactif dans un micro-habitat refuge qui limite les risques de déshydratation (EWL_{crit}). Pour reconstruire expérimentalement les conditions créées par un micro-habitat refuge, un gros morceau de bois mort est choisi dans l'environnement immédiat de l'expérience. Etant superficiel, il représente non pas les conditions d'un refuge utilisé de façon saisonnière mais plutôt les conditions d'un refuge provisoire utilisé au cours d'un cycle nyctéméral, tel que l'est un microhabitat fonctionnel par exemple (HUEY, 1991), typiquement un gîte nocturne ou diurne pour échapper à une insolation trop forte.

Le facteur "condition environnementale" (considéré avec un habitat fermé, forestier et un habitat ouvert, prairial) n'est pas traité dans ce rapport. Sa prise en compte dans les modèles statistiques permettra d'envisager la réponse comportementale et de comprendre l'intérêt de sélectionner un type d'habitat qui réduise l'exposition à des températures $> T_e$. Les écart-types parfois du même ordre de grandeur que la moyenne (notamment pour le ratio $EWL_{actif}/EWL_{inactif}$ et pour les $EWL_{inactif}$) témoignent de l'importance de la variabilité des résultats et incitent d'une part à une certaine prudence sur l'interprétation de certains résultats et d'autre part à la poursuite de ces expériences jusqu'à la fin du programme.

L'année 2019, avec ses trois vagues de chaleur exceptionnelles, a été mise à profit pour mettre en place un dispositif expérimental complémentaire pour comprendre le premier point relatif à l'effet de vagues de chaleur précoces (cf § 8.3.3) : si les épisodes extrêmes chauds type "canicule hivernale" semblent, de façon absolue, avoir des effets sur les taux de perte hydrique moins marqués que pendant ceux de type "canicule estivale", de façon relative, ils ne doivent pas être sous-estimés car ils ont des effets plus forts que les journées "normales" d'été. Par ailleurs, les épisodes caniculaires, qu'elle que soit la saison, augmenteraient la déshydratation de façon proportionnellement plus importante chez des individus inactifs, cachés sous un abri sommaire tel que l'est une branche. Ce phénomène semble encore plus prégnant chez les avatars de petite taille.

De façon très nette, en hiver comme en été, le taux de déshydratation chez un avatar exposé (individu supposé actif) est en moyenne 13 à 16 fois plus élevé ($\times 13.50$ en hiver vs $\times 15.77$ en été) comparé à un avatar en situation de refuge (individu sensé être inactif). En hiver comme en été, pour les avatars imitant des grenouilles actives, les pertes hydriques sont plus importantes pour les petits modèles (mimant *Rana pyrenaica*) que pour les modèles de grande taille, confirmant une plus grande vulnérabilité théorique des petites espèces (en hiver, ce rapport est en moyenne de 1.30 et en été de 1.39). Pour les avatars protégés par du bois (imitant des grenouilles inactives, en situation de refuge), les pertes hydriques sont également plus importantes pour les petits modèles, l'intensité variant du simple au double selon la saison (en hiver le ratio est de 1.90 alors qu'il n'est que de 1.12 en été).

- *Rana pyrenaica* une grenouille en eaux froides

Il est temps de mettre en regard l'information acquise sur les températures de l'eau (notamment la distribution des valeurs de celles-ci) et sur les préférences thermiques de cette espèce, autrement dit d'examiner s'il y a cohérence avec ce que l'on sait de la température optimale pour *Rana pyrenaica*. A ce jour, aucune information n'existe sur la niche thermique des adultes (voir le volet 2 de l'étude plus loin) mais on en sait un peu plus pour les larves. Les études écophysiologiques et comportementales

réalisées sur les têtards de l'espèce durant l'année 2017 (MALLARD, 2017b) étaient bâties autour de deux approches complémentaires : la première approche (Fig. 156) reposait sur la construction de courbes de performance thermique (abrégées en TPC) tandis que la deuxième (Fig. 157) se basait sur la mesure de l'activité et de la vigueur d'activité (abrégées en EAVC), comme alternative à la performance.

L'établissement des TPCs se fait à partir de la température corporelle (classiquement notée T_b) et non de la température du milieu ambiant, ici l'eau (température notée T_w). Il n'est cependant pas possible de mesurer la température corporelle des têtards qui se fait habituellement au niveau du cloaque chez les grands amphibiens. Compte tenu de la taille des têtards de *Rana pyrenaica*, et surtout de leur très grande vulnérabilité, nous avons utilisé T_w comme proxy de T_b des têtards ce qui est une approximation réaliste étant donné que les têtards n'ont que peu -ou pas- de capacité de thermorégulation physiologique.

La caractérisation des EAVCs (ce que l'on appelle une vigueur d'activité) repose sur une mesure de budget temporel d'activité, défini lui-même comme la durée passée en dehors d'un refuge pendant un laps de temps donné. Cependant, les têtards de Grenouille des Pyrénées ne font pas partie de cette catégorie puisqu'ils ne disposent a priori pas de refuge au sens strict du terme. Ainsi pour cette étude, nous avons défini le budget temporel alloué à l'activité comme la durée pendant laquelle l'individu s'implique dans un effort physique visible pendant un laps de temps donné. D'après nos observations, les têtards ont très peu de types d'activité différents ; ils se résument au déplacement et à l'alimentation, qui tiennent une place prépondérante dans la survie des têtards.

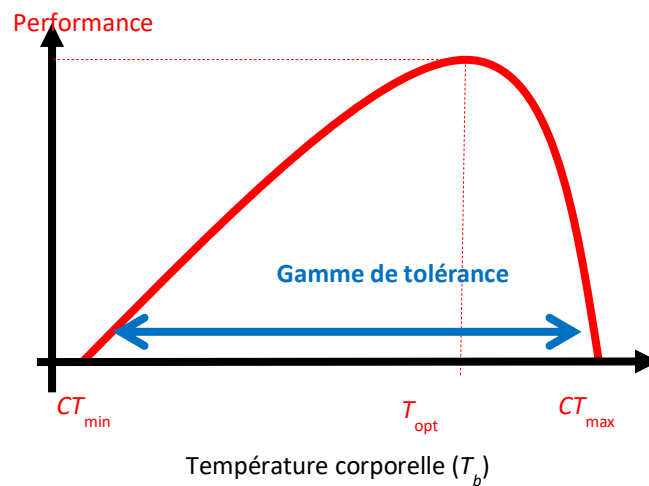


Fig. 156. Allure générale d'une courbe de performance thermique illustrant les paramètres d'intérêt : CT_{min} , CT_{max} et T_{opt} (d'après Huey et al. 2012).

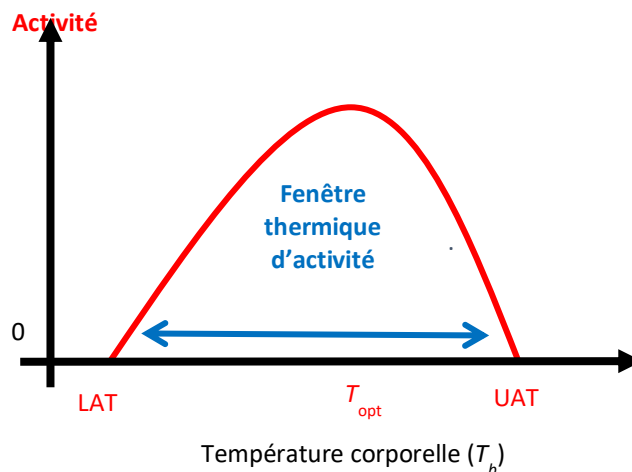


Fig. 157. Allure générale d'une courbe d'activité illustrant les paramètres d'intérêt : LAT , UAT , T_{opt} (d'après Gunderson & Leal 2016).

La première approche (basée sur les TPCs) conduisait à une T_{opt} estimée de 13,1 °C et une gamme de tolérance de 26,4 à 37,4 °C (selon la performance testée) tandis que la deuxième approche (construite autour des EAVCs) fournissait une T_{opt} estimée supérieure de 1,1 °C (à savoir 14,2 °C) et une fenêtre thermique d'activité de 11,6 °C. La plus petite fenêtre thermique obtenue à partir de l'EAVC contraste avec la plus grande gamme de tolérance thermique révélée par les TPCs. Les différences s'expliquent simplement par le fait que les organismes ne se livrent pas à des activités sur toute la gamme de température qu'ils peuvent tolérer (HUEY *et al.*, 2012) et que les deux approches ne mesurent pas exactement les mêmes phénomènes. De nos deux approches, seule la deuxième correspond à une mesure de l'activité volontaire, et elle devrait être plus révélatrice de la réalité biologique de terrain.

- *Rana pyrenaica* : une espèce généraliste d'un point de vue thermique?

Dans le paradigme actuel, une espèce spécialiste d'un point de vue thermique est sensée présenter de meilleures performances sur une largeur de performance faible par rapport à une espèce généraliste qui va montrer des performances moyennes dans une gamme de performance plus importante (ANGILLETTA *et al.*, 2002). **Les recherches menées en 2017 indiquaient que les têtards sont des généralistes avec une largeur de performance très importante au vue de la gamme de température du milieu.** 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. **Il leur est donc indispensable d'avoir un niveau de performance important sur une large gamme de température, la sélection pour une sensibilité thermique de type généraliste est donc probable.** Cette conclusion ne repose que sur l'analyse des TPCs, et n'est qu'une hypothèse à ce stade qui doit être étayée et confrontée avec les informations tirées des EAVCs, dans un corpus théorique encore manquant.

A moins que les températures d'activité optimale, de gamme de tolérance ou de fenêtre thermique d'activité soient surestimées (ce qui serait étonnant car elles ont été établies par deux approches congruentes), ces observations amènent de nouvelles questions importantes:

- en limite nord de répartition, *Rana pyrenaica* réalise-t-elle son cycle biologique dans des conditions très éloignées de l'optimalité?

- l'écart important avec l'optimalité correspond-il à une "marge de sécurité", comme le suggèrent certains travaux théoriques (MARTIN & HUEY, 2008) ?

- l'écart observé n'est-il qu'apparent, la sélection de microhabitats marginaux et peu profonds de bord de vasque (de thermorégulation active) permettant d'exploiter des températures plus proches de l'optimalité?

Une hypothèse pourrait être que les populations nord-pyrénéennes sont actuellement confinées pour des raisons particulières (fragmentation d'habitat par exemple) à des cours d'eau trop froids pour l'espèce, où leur développement serait apparemment éloigné de l'optimalité celle-ci étant en fait compensée par l'exploitation de micro-habitats plus chauds. Dans le cas contraire, il existerait une sorte de "marge de sécurité écophysiological" (en tout cas à l'état larvaire), dont l'existence reste à démontrer et qui en tout cas, invite à comprendre si elle pourrait conférer à l'espèce un avantage adaptatif vis-à-vis du changement climatique.

Une partie des réponses est certainement à chercher plus au sud, côté aragonais et navarrais, où se développent des populations de *Rana pyrenaica* peut-être plus proches des conditions écologiques optimales de l'espèce. Ce challenge passe indubitablement par la mise en place de collaborations internationales fortes.

8.5 Conclusion

Au cours de son cycle biologique, *Rana pyrenaica* exploite différents milieux et affronte des changements importants liés de façon directe ou indirecte aux changements climatiques. L'eau de la rivière est l'unique environnement pour les œufs et les têtards, mais cet environnement connaît d'importantes modifications dont on commence seulement à envisager l'importance: impact des crues sur la dispersion et la survie des têtards vers l'aval d'une part, et importance des événements extrêmes chauds précoces (printemps et hivers plus chauds) d'autre part semblent déterminants. Les informations sont lacunaires encore pour le premier élément, mais la connaissance progresse pour le second aspect. L'étude du stade "œuf", véritable défi au plan méthodologique et déontologique, difficile et délicate, est écartée. Pour les têtards, la compréhension des effets directs et indirects relève d'observations comportementales et de comptages directs sur le terrain tandis que pour les adultes, le choix a été fait pour des raisons méthodologiques et déontologiques surtout, d'envisager une approche indirecte basée sur le comportement d'avatars, autrement dit de modèles biophysiques imitant les propriétés thermo- et hydro-régulatrices des amphibiens adultes. La thermorégulation comportementale devrait conduire tout individu adulte, d'une part à fuir les habitats très exposés à la chaleur extrême et d'autre part, à limiter leur activité en passant plus de temps dans un micro-habitat refuge.

Dans la première partie de ce chapitre, il est avancé que les facteurs corrélés négativement à l'abondance des têtards (printemps et hivers chauds, crues printanières), semblent confirmer un impact négatif d'un changement du climat sur les populations de Grenouille des Pyrénées, illustré par la **baisse des effectifs observés sur certains sites**. Dans la deuxième partie, il est indiqué que **le développement des têtards de *Rana pyrenaica* s'effectue dans des eaux bien plus froides que les analyses écophysiologicals et comportementales l'indiqueraient a priori**, en soulevant une question cruciale: comment expliquer que des têtards se développent dans une eau qui n'atteint jamais la

température optimale d'activité mesurée sur le terrain? Dans la troisième partie, basée sur l'approche expérimentale indirecte il est confirmé un peu plus que *Rana pyrenaica* (comme toutes les espèces de petite taille) est plus vulnérable au changement climatique que les espèces de grande taille. De façon inédite, le design expérimental nouveau mis en place cette année permet de comprendre d'une part la réponse hydrique théorique d'individus adultes dans des habitats très exposés à la chaleur extrême et, d'autre part, de la comparer à celle d'individus privilégiant l'inactivité dans un micro-habitat refuge. Il est avéré **qu'en hiver comme en été, le taux de déshydratation chez un avatar exposé (individu supposé actif) est en moyenne 13 à 16 fois plus élevé** (x 13.50 en hiver vs x 15.77 en été) **comparé à un avatar en situation de refuge** (individu sensé être inactif). Enfin, l'année 2019, avec ses trois vagues de chaleur exceptionnelles, a été mise à profit pour mettre en place un dispositif expérimental complémentaire pour comprendre l'effet de vagues de chaleur précoces : si les épisodes extrêmes chauds type "canicule hivernale" semblent, de façon absolue, avoir des effets sur les taux de perte hydrique moins marqués que pendant ceux de type "canicule estivale", de façon relative, ils ne doivent pas être sous-estimés car ils ont des effets plus forts que les journées "normales" d'été. Par ailleurs, **les épisodes caniculaires, quelle que soit la saison, augmenteraient la déshydratation de façon proportionnellement plus importante chez des individus inactifs, réfugiés sous un abri sommaire.**

Ces conclusions ne sont pas définitives et les suivis (comptages directs de têtards) doivent être continués tout comme les expériences sur les modèles bio-mimétiques. Pour les deux aspects de la recherche, les écart-types parfois du même ordre de grandeur que la moyenne témoignent de l'importance de la variabilité des résultats et incitent d'une part à une certaine prudence sur l'interprétation de certains résultats et d'autre part à la poursuite de ces expériences jusqu'à la fin du programme.

Volet innovant de la recherche, il est prévu en 2020 d'explorer au moyen d'imagerie thermique *in situ*, **l'existence chez les têtards d'une stratégie de sélection de microhabitats marginaux et peu profonds de bord de vasque comme stratégie de thermorégulation active permettant d'exploiter des températures plus proches de l'optimalité.** Ceci permettra peut-être de comprendre pourquoi les têtards se développent dans une eau qui n'atteint jamais la température optimale d'activité mesurée sur le terrain.