

## Chapitre 8. *Rana pyrenaica* (Serra-Cobo, 1993) – Grenouille des Pyrénées : une espèce fragile sous menaces multiples

**Auteurs :** Frank D'amico, Matthieu Berroneau, Floren Hugon, **Contributeurs :** Théo Constant, Maxime Quetin, Dylan Fournier, Valentin Lasserre, Anthony Prevost, Claire Caldier, Loreyna Gregoire

---

### Résumé

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

Températures locales et densités des têtards sont suivies sur 5 torrents de la vallée d'Aspe (400 m) et du Pays basque (1000 m d'altitude). Collectées depuis 2002, les données de comptage de têtards sont traitées par modèle hiérarchique à N-mélange. Les contraintes sanitaires de l'année 2020 ont contrarié la mise en œuvre de plusieurs suivis.

Les résultats confirment année après année les variations fortes et contrastées dans la réussite de reproduction : au Pays basque, les densités sont en forte baisse tandis qu'en vallée d'Aspe, celles-ci sont stables voire en hausse sur les trois sites suivis. Les hypothèses se construisent autour d'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. Entre 2018 et 2020, les températures moyennes de l'eau ( $8,7 < T_{\text{moy}} < 10,8$  °C) restent inférieures à la température optimale estimée pour les têtards ( $13,1 < T_{\text{opt}} < 14,2$  °C).

La modélisation corrélative d'ensemble indique un bilan de répartition gain-perte négatif quel que soit le scénario climatique. Les projections obtenues, qui supposent une dispersion possible sur plusieurs kilomètres, suggèrent la quasi extinction des populations de Nouvelle-Aquitaine d'ici 2100 sous le scénario climatique futur le plus pessimiste (RCP 8.5). Tandis que le scénario RCP 2.6 correspond à celui entraînant la perte potentielle d'habitat la mieux maîtrisée, l'interprétation est plus délicate pour les horizons moyens et lointains des scénarios RCP 4.5 et RCP 8.5.

**Mots-clés :** estimation d'abondance, hydro-régulation, modèle à N-mélange, modèle corrélatif, perte hydrique, refuge, thermorégulation, série chronologique.



## 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, 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, 2014b ; 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, 2014b ; 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 qui sert à modéliser, en particulier, les heures de restriction d'activité utiles à la modélisation. Par ailleurs, les informations géoréférencées 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.

## 8.2 Matériel et méthodes

### 8.2.1 Suivi de la reproduction

- *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, 2014b ; BERRONEAU *et al.*, 2015).

- *Description des sites choisis*

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. 146, Tab. XLVII). 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).

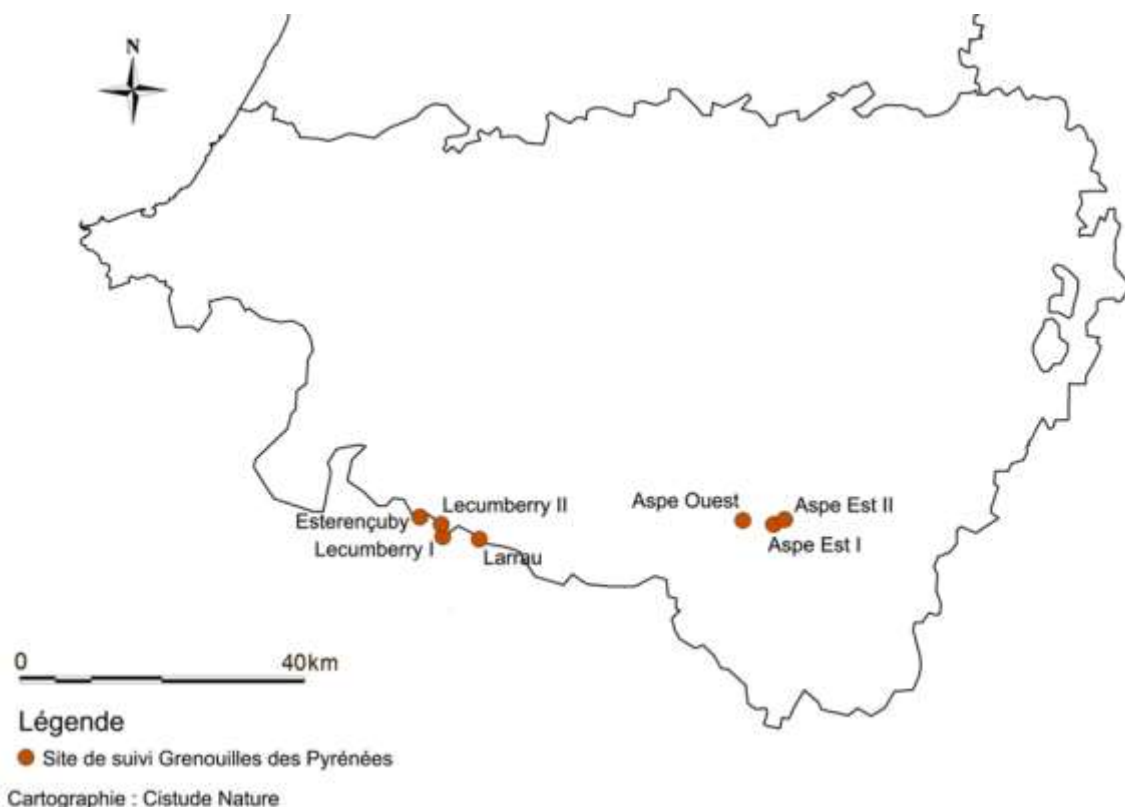


Fig. 146. Situation géographique des sites d'études validés dans le cadre du suivi de la Grenouille des Pyrénées.

Certains secteurs, à la demande du Conseil Scientifique, 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 et décrits dans le tableau suivant (Tab. XLVII).

Tab. XLVII. Caractéristiques des sites étudiés dans le cadre du suivi Grenouille des Pyrénées

Département Commune	Dénomination	Type d'habitat	Longueur du tronçon	Statut	Code statut	Propriétaire Gestionnaire	Structure de suivi et nom de l'observateur
Pyrénées- Atlantiques Esterençuby	Esterençuby	Torrent de moyenne montagne	700 m	N2000, ZNIEFF2		?	Cistude Nature - Matthieu Berroneau
Pyrénées- Atlantiques Lecumberry	Lecumberry I	Torrent de moyenne montagne	250 m	N2000, ZNIEFF2		ONF ?	Cistude Nature - Matthieu Berroneau
Pyrénées- Atlantiques Larrau	Lecumberry II	Torrent de moyenne montagne	1200 m	N2000, ZNIEFF1 & 2		ONF	Cistude Nature - Matthieu Berroneau
Pyrénées- Atlantiques Larrau	Larrau	Torrent de moyenne montagne	130 m	N2000, ZNIEFF1 & 2		ONF	Cistude Nature - Matthieu Berroneau
Pyrénées- Atlantiques Sarrance	Aspe Ouest	Torrent de moyenne montagne	700 m	N2000, PNP, ZNIEFF2		ONF ?	Cistude Nature - Matthieu Berroneau
Pyrénées- Atlantiques Sarrance	Aspe Est I	Torrent de moyenne montagne	180 m	N2000, PNP, ZNIEFF1 & 2		ONF ?	Cistude Nature - Matthieu Berroneau
Pyrénées- Atlantiques Sarrance	Aspe Est II	Torrent de moyenne montagne	500 m	N2000, PNP, ZNIEFF1 & 2		ONF ?	Cistude Nature - Matthieu Berroneau

• *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. Le nombre de placettes dépend de la longueur du tronçon de torrent concerné par le suivi (Tab. XLVIII, Fig. 147). Les différentes placettes sont géoréférencées et photographiées, afin de les délimiter facilement à chaque session de comptage. La Grenouille des Pyrénées étant une espèce dite sensible, les cartes de localisation des placettes sur les sites ne sont pas représentées dans ce rapport.

Tab. XLVIII. 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. 147. Emplacements des placettes du site "Aspe Ouest" en vallée d'Aspe.

#### • *Méthode de relevés et détermination des espèces*

La méthode s'appuie sur le protocole développé dans le cadre du programme de conservation de la Grenouille des Pyrénées. 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. 148). C'est la méthode la plus aisée et la plus efficace pour conclure sur la présence de l'espèce sur un site.





Fig. 148. 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. D'autres informations 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. 149). Ils atteignent jusqu'à 30 mm.

Les risques de confusion sont faibles : les têtards de Crapaud épineux 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 beiges, 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. 149. Un têtard de Grenouille de Pyrénées

Le matériel nécessaire pour la prospection est le suivant :

- GPS
- Thermomètre étanche
- Règle blanche graduée
- Appareil photographique
- Plan du site
- Fiches de relevé

• *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. 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<sup>er</sup> comptage fin avril / début mai, le 2<sup>ème</sup> entre mi-mai et début juin, le 3<sup>ème</sup> 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.

- ***Fiche de relevés***

Deux fiches de renseignements doivent être remplies au total (MALLARD, 2017b):

- La première fiche « Données de présence & Covariables d'échantillonnage » renseigne, pour chaque placette et chaque passage, les dénombrements concernant l'espèce ainsi que les variables qui diffèrent entre chaque passage (température, hauteur d'eau, etc.).

- La deuxième fiche « Description de la placette » permet un descriptif précis de chaque placette. Ces variables sont fixes durant les différents passages (ex. : altitude).

- ***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 Étude écophysiological et modélisation du risque

- ***L'environnement immédiat de la Grenouille des Pyrénées aux stades larvaires et adulte : micro- et méso-climat***

Préalable à toute étude dédiée aux effets du changement climatique sur le maintien d'une population locale, la caractérisation statistique du cortège de grandeurs physiques (en premier lieu la température !) est une évidence. Pourtant, à ce jour, l'information manquait en ce qui concerne les différentes populations (ou sous-populations) de Grenouille des Pyrénées dans les Pyrénées-Atlantiques, seul bastion actuel de la répartition de cette espèce en Nouvelle-Aquitaine (et en France). Personne n'a en effet pu établir jusqu'à présent de statistique fiable et robuste décrivant l'environnement dans lequel vivent aujourd'hui les Grenouilles des Pyrénées. Comme indiqué dans les différents rapports établis depuis le début du programme « Les sentinelles du climat », la répartition actuelle de la Grenouille des Pyrénées est très fragmentée. Il est encore difficile (voire impossible) de statuer en matière de terminologie à employer : populations (au pluriel), sous-populations ? L'absence de connaissances sur les flux géniques empêche de conclure en effet sur le niveau d'isolement et la possibilité de fonctionnement en métapopulations, ou pas.

Le cycle de vie de *Rana pyrenaica* amène les individus à utiliser les cours d'eau torrentiels froids (œufs, têtards, adultes) et le proche bassin versant, mosaïque d'habitats faite de prairies plus ou moins homogènes et de lambeaux forestiers plus ou moins continus, dans un relief plus ou moins escarpé.



Les déplacements des altitudes, rarement vus, sont encore largement méconnus. Dans leur dimension thermique, les différents micro-habitats aquatiques (vasque, chenal, berge de cours d'eau, etc.) et terrestres (couvert forestier, annexes du sol, souches, prairies, etc.) sont encore des environnements inconnus. Les tableaux décrivant les micro- et méso-climats associés à la Grenouille des Pyrénées sont encore vides ! Quelle est la température moyenne d'un cours d'eau utilisé en vallée d'Aspe et en forêt d'Irati ? Comment varie la température dans cet habitat d'un jour à l'autre ? d'une minute à l'autre ? La variabilité d'un site (Aspe vs Irati) à l'autre est-elle importante ? Qu'en est-il de la variabilité d'une année à l'autre ? Quel est le lien entre température de l'air dans ces lieux et température de l'eau ? C'est à ces questions que répond ce chapitre, à l'issue de 5 années de travail.

L'instrumentation utilisée pour mesurer à haute fréquence et en continu les températures de l'air (à 1 m du sol) et dans le chenal des cours d'eau a été présentée en détail dans les rapports précédents. Les difficultés rencontrées dans le maintien d'un fonctionnement approprié (sans défaillance énergétique, sans dérive de mesures, sans déplacement inopportun...) continu de ce matériel ont également été évoquées ; les conditions torrentielles qui caractérisent intrinsèquement les petits cours d'eau ont été responsables de la disparition de nombreuses sondes enregistreuses, en particulier lors des crues importantes survenues au printemps 2018. Dans les rapports précédents (MALLARD, 2019 ; MALLARD, 2020), il a été fait mention des aberrations présentes dans les deux séries chronologiques, pendant les premiers mois d'enregistrement (surtout sur le site d'Estérençuby où la sonde enregistreuse était régulièrement exondée) et comment le problème a été résolu. Au final, au moment de la rédaction de ce rapport final, l'exploitation complète ou partielle de 6 sondes enregistreuses HOBO™ seulement est possible. Limitée par le nombre d'enregistrements utilisables et sécurisés, l'exploitation des données de température (et d'humidité relative, et de point de rosée) couvre par chance les 4 principaux sites de présence pérenne connue de l'espèce en Nouvelle-Aquitaine (Lecumberry, Estérençuby, Aspe Est et Aspe Ouest). L'exploitation des données de température dans l'eau est possible sur 2 sites uniquement, mais elle couvre fortuitement un site de basse altitude (Aspe Ouest) et un site de haute altitude (Estérençuby). Ainsi, le mésoclimat des deux zones à enjeu (vallée d'Aspe vs massif d'Irati) peut être caractérisé avec une certaine robustesse, en permettant surtout d'évaluer la variabilité *a minima*. Cette variabilité est estimée sur 4 cycles de vie annuels complets (entre 2017 et 2021) pour le compartiment 'rivière' et 3 cycles complets (entre 2016 et 2019) pour le compartiment 'air' en milieu forestier. Un cycle de vie annuel est défini entre septembre d'une année civile donnée et août de l'année civile suivante : ce découpage est choisi sur la période charnière 'août-septembre' qui marque la métamorphose têtard-adulte.

- *Températures optimales de développement des têtards : comment vivre en eau froide torrentielle ?*

Compte tenu de la très grande vulnérabilité de l'espèce, et l'impossibilité d'étudier les individus (adultes ou têtards) en laboratoire, des suivis originaux avaient été déployés sur le terrain pour étudier de façon inédite durant la saison de développement 2017 le comportement des têtards en fonction de la température. Le tableau de données obtenu, riche d'informations avec ses 18144 valeurs (1008 individus x 18 variables) a permis de révéler la température optimale estimée pour les têtards de l'espèce, ce qui constitue une information inédite. L'analyse préalable de cette matrice de 18144 valeurs (MALLARD, 2017b) pour l'estimation des paramètres recherchés (en l'occurrence la température optimale  $T_{opt}$  et la fenêtre thermique d'activité) avait été conduite en ajustant deux distributions théoriques simples :

– une distribution gaussienne dont une expression possible est :



$$P(T) = a \cdot \exp\left(-0.5 \cdot \left[\frac{T-b}{c}\right]^2\right)$$

- une distribution quadratique, qui correspond à une fonction polynôme du second degré :

$$P(T) = a \cdot T^2 + b \cdot T + c$$

Dans ces distributions simples à deux ou 3 paramètres,  $a$  représente généralement la hauteur de la courbe,  $b$  le pic de la fonction unimodale (qui se trouve correspondre dans notre cas à la valeur recherchée :  $T_{opt}$ ) et  $c$  la largeur (amplitude) autour de  $T_{opt}$ .

En 2020 et 2021, des analyses statistiques complémentaires ont été effectuées pour corroborer et affiner ces résultats, en utilisant deux distributions plus complexes ayant quatre et cinq paramètres ( $a, b, c, d, e$ ) :

- la distribution de Weibull à quatre paramètres utilisée (sachant qu'il en existe plusieurs au sein de cette famille) prend la forme :

$$P(T) = a \cdot \left(\frac{d-1}{d}\right)^{\frac{1-d}{d}} \cdot \left[\frac{T-b}{c} + \left(\frac{d-1}{d}\right)^{\frac{1-d}{d}} \cdot e^X\right]$$

où le terme  $X$  dans la fonction exponentielle est égal à :

$$X = -\left[\frac{T-b}{c} + \left(\frac{d-1}{d}\right)^{\frac{1}{d}}\right]^d + \frac{d-1}{d}$$

- la distribution de Kumaraswamy à 5 différents paramètres prend la forme :

$$P(T) = a \cdot b \cdot \left[\frac{(T-d)}{(e-d)}\right]^{a-1} \cdot \left[1 - \left[\frac{(T-d)}{(e-d)}\right]^a\right]^{b-1} \cdot c$$

Pour la distribution de Weibull, les paramètres à estimer pour comprendre la distribution de  $T$  (pour mémoire,  $T$  est la variable étudiée : c'est la température corporelle des têtards) représentent généralement les mêmes descripteurs ( $a$  la hauteur de la courbe (scale),  $b$  le pic de la fonction unimodale (qui se trouve correspondre dans notre cas à la valeur recherchée :  $T_{opt}$ ),  $c$  la largeur (amplitude) autour de  $T_{opt}$  et,  $d$  la forme de la courbe (shape). Pour les distributions à 5 paramètres, comme celle de Kumaraswamy, il en va autrement : ( $a, b, c, d, e$ ) expriment des grandeurs totalement différentes et leur utilisation devient plus délicate.

Au plan technique, l'estimation des paramètres de ces distributions à plus de 3 paramètres est parfois compliquée. Elle a été faite dans l'environnement R au moyen de la commande *optim*, en tâtonnant autour des valeurs initiales (i.e. `start = c(a=kuma.startpar[1], b=kuma.startpar[2], c=kuma.startpar[3], d=kuma.startpar[4], e=kuma.startpar[5])`). L'ajustement des modèles aux données à proprement parler a été réalisé dans l'environnement R au moyen de la commande *nlsLM*. La sélection du meilleur ajustement (i.e. quelle est la distribution théorique qui a le plus de support empirique ?) se fait au moyen du critère d'information d'AIC.

• ***Le risque de déshydratation des adultes : évaluation expérimentale au moyen de modèles biomimétiques en agarose et importance de l'habitat et du comportement***

Compte tenu de la très grande vulnérabilité de l'espèce, et l'impossibilité d'étudier les individus en laboratoire, des suivis originaux avec des modèles biomimétiques en agarose (considérés comme des 'avatars' de véritable grenouille) ont été entrepris sur le terrain. La confection de ces modèles et leur

déploiement *in situ* au cours du programme de recherche ont été explicités dans les rapports précédents. Le déploiement dans des conditions choisies a permis d'étudier de façon inédite sur des cycles de 24h la déshydratation théorique des adultes de différentes tailles en fonction de variables microclimatiques, de la saison, de l'habitat et du comportement possible. Le protocole expérimental (Fig. 150) suit un design complexe 2x2x2x2x2 avec l'emboîtement d'un facteur 'taille' avec 2 modalités (petit modèle vs gros modèle de Grenouille), d'un facteur 'nycthémère' avec 2 modalités (jour vs nuit), d'un facteur 'saison' avec 2 modalités (été vs hiver), d'un facteur 'habitat' avec 2 modalités (ouvert vs fermé) et d'un facteur 'comportement' avec 2 modalités' (actif vs inactif en refuge).

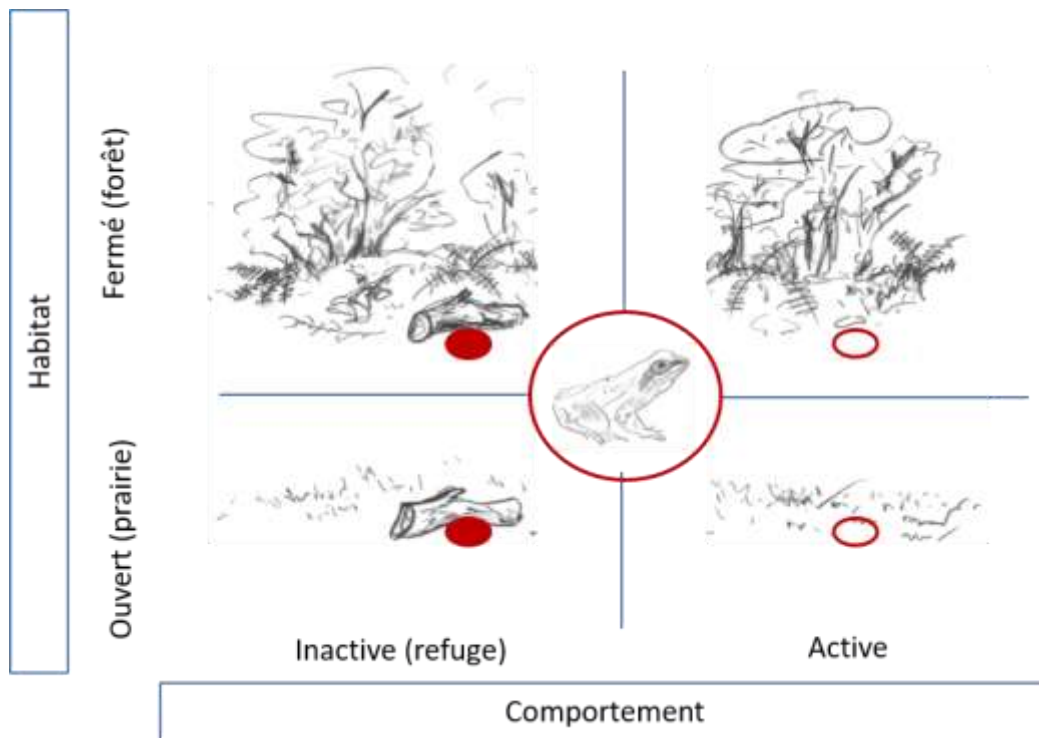


Fig. 150. Le protocole expérimental de disposition des modèles en agarose (cercles rouges) selon un design complexe 2x2x2x2x2 avec l'emboîtement d'un facteur 'taille' avec 2 modalités (petit modèle vs gros modèle de Grenouille), d'un facteur 'nycthémère' avec 2 modalités (jour vs nuit), d'un facteur 'saison' avec 2 modalités (été vs hiver), d'un facteur 'habitat' avec 2 modalités (ouvert vs fermé) et d'un facteur 'comportement' avec 2 modalités' (actif vs inactif en refuge). Chaque modèle en agarose est répliqué et représente, expérimentalement, une grenouille inactive à l'abri dans un refuge, comme une grosse branche au sol (cercle plein) ou en activité (cercle vide). La masse des modèles (avatars) en agarose est mesurée à intervalles réguliers sur une cycle de 24 heures. La perte de masse est convertie en taux de déshydratation horaire.

Les variables microclimatiques sélectionnées sont la température de l'air et du sol, ainsi que l'humidité relative dans l'air et au sol. Le protocole est conçu de façon à supporter des traitements plus ou moins complexes de l'information comme expliqué pour deux facteurs. Le facteur 'taille' (petit modèle vs gros modèle de Grenouille) peut être traité comme une variable continue puisqu'aucun modèle (avatar) n'a la même masse et qu'au cours des expériences la masse des modèles était comprise entre 2,1 et 29,4 grammes (moyenne = 12,1 g définissant le seuil fixé pour séparer les grenouilles de petite taille vs grosse taille). Le facteur 'nycthémère' avec 2 modalités (jour vs nuit) peut être traité comme une variable continue dans la mesure où les enregistrements de température et d'humidité relative et été faits en continu (avec un pas de temps de 1 minute). La complexité de l'analyse statistique des données issues de ce travail expérimental (avec toutes les possibilités



d'intégration pas à pas d'un facteur supplémentaire et de combinaisons possibles des interactions) est à la hauteur de la complexité de ce protocole 2x2x2x2x2. Au moment de la rédaction de ce rapport, l'analyse exploratoire descriptive a été réalisée dans son intégralité (ci-dessous) mais en terme de modélisation statistique, seule une partie a été réalisée. L'analyse exploratoire des expériences réalisées avec les modèles biomimétiques ('avatars' en agarose) entre 2018 et 2020 est une étape préliminaire indispensable, consistant à une exploration détaillée des données avant toute analyse statistique. Elle est conçue pour s'assurer en préalable que le scientifique ne découvre pas un faux effet de covariable (erreur de type I), ne rejette pas à tort un modèle avec une covariable particulière (erreur de type II) ou ne produise pas de résultats déterminés par quelques observations influentes seulement. D'après Zuur *et al.* (2010), l'exploration des données peut prendre jusqu'à 50% du temps consacré à l'analyse. Bien que l'exploration des données soit une partie importante de toute analyse, il est important de la séparer clairement des tests d'hypothèses. Les décisions concernant les modèles à tester doivent être prises *a priori* sur la base de la compréhension biologique du système par le chercheur.

Au final, le tableau de données corrigées comporte 39192 observations, organisées en 852 lignes (une par modèle en agarose testé) et 46 colonnes (représentant les différentes variables) et n'a aucune valeur aberrante de EWL ni de températures négatives (pour les erreurs de saisie et incohérences expérimentales liées aux données aberrantes liées notamment aux jours de gel en hiver et à la consommation nocturne par des limaces en été) ; ces données excluent les données pour lesquelles une réhydratation des modèles a été observée. Le choix des modèles, de leur taille et de leur masse, a été fait de façon à disposer d'une gamme réaliste et continue de masses de petites grenouilles pyrénéennes (petite : *Rana pyrenaica* vs grosse : *Rana temporaria* ou *Bufo spinosus*). Les données disponibles dans la littérature sont disparates et quand elles existent font état de masses variables. En fait, la masse corporelle est rarement enregistrée chez les amphibiens, et d'autres mesures corporelles (par exemple la longueur du museau à l'évent, SVL) sont généralement collectées à la place. Cependant, les mesures de longueur, lorsqu'elles sont utilisées comme approximations de la masse corporelle dans des analyses comparatives, sont problématiques si différents taxons et morphotypes sont inclus. Santini *et al.* (2018) ont développé des relations allométriques pour déduire la masse corporelle à partir des mesures de longueur museau-anus (SVL). Selon ces auteurs, la relation est pour les Ranidae :

$$Mass = 10^{-4.862(\pm 0.749)} \cdot SVL^{3.492(\pm 0.425)} \text{ soit } Mass = 1.374042^{-05} \cdot SVL^{3.492}$$

Dans cette recherche expérimentale conduite *in situ*, la variable d'intérêt (variable à expliquer) est le taux de déshydratation par évaporation (EWL dans les graphiques, EWL pour Evaporative Water Loss) des modèles en agarose. L'analyse exploratoire sur toutes les variables indique qu'il n'y a généralement pas d'homogénéité de la variance (homoscédasticité), telle qu'elle est visualisée par les écarts interquartiles autour de la moyenne. Dans ce cas, une solution à l'hétérogénéité de la variance peut être la transformation de la variable de réponse (pour stabiliser la variance) mais celle-ci présentant des inconvénients majeurs (ZUUR *et al.*, 2010) n'est pas retenue ; la réponse adoptée est l'application de techniques statistiques de régression qui n'exigent pas l'homogénéité (voir plus bas). À ce stade exploratoire, un autre problème à prendre en considération est la colinéarité (i.e. l'existence d'une corrélation entre les covariables), qui, si elle est ignorée, engendre une analyse statistique confuse dans laquelle rien n'est significatif, mais où l'abandon d'une covariable peut rendre les autres significatives, voire changer le signe des paramètres estimés. La colinéarité est inévitable si des variables temporelles (par exemple, le mois, l'année) ou spatiales (par exemple, la latitude, la

longitude) sont utilisées avec des covariables comme la température, l'humidité relative... ce qui est le cas dans cette étude expérimentale de taux théorique de déshydratation. La manière la plus simple de résoudre la colinéarité est d'abandonner les covariables colinéaires, dont le choix ici est basé sur la connaissance des facteurs d'inflation de variance (VIF) augmentée des connaissances biologiques sur l'espèce. Si une valeur de VIF est supérieure à 10, il y a une multi-colinéarité élevée : la variation semblera plus grande et le facteur apparaîtra plus influent qu'il ne l'est. Si VIF est plus proche de 1, alors le modèle est beaucoup plus robuste, car les facteurs ne sont pas influencés par la corrélation avec d'autres facteurs.

Étape suivante, l'analyse de régression des expériences réalisées avec les modèles biomimétiques ('avatars' en agarose) entre 2018 et 2020 s'est heurtée à un problème classique. Il y a une certaine difficulté (paradoxale) à visualiser une différence de moyennes entre deux groupes, tout en montrant à la fois les données et un certain intervalle d'incertitude. Beaucoup d'incompréhensions proviennent d'une relative incapacité à interpréter une simple comparaison de moyennes (ou de médianes) –et tout ce qui comporte plus de deux groupes (ce qui est le cas avec des données issues d'un protocole 2x2x2x2x2) rend la compréhension encore plus compliquée. Comme indiqué plus haut, au moment de la rédaction du rapport, de nombreuses analyses sont encore en cours, et le choix est fait de présenter deux blocs de résultats : le premier bloc relève de la visualisation statistique de données (*sensu* Ho & Claridge–Chang (2019) par exemple) et le deuxième est issu des premières analyses par modèles additifs généralisés hiérarchiques (hGAMs *sensu* Pedersen *et al.* (2019)). Pour les premières analyses par modèles additifs généralisés hiérarchiques (hGAMs), les différents modèles sont construits autour de la forme générale :

$$EWL_{i,j,k} = f(M_i, X_j, F_k, \text{ etc. } I^*) + \epsilon_z$$

dans laquelle  $EWL_{i,j,k}$  représente la vitesse (moyenne ou maximum) de nage des têtards de  $M_i$ , avec telle variable micro-climatique  $X_j$  (température du sol, de l'air, humidité relative...), sous tel ou tel facteur  $F_k$  (habitat, comportement) sachant la saison et le moment du nyctémère. Les erreurs résiduelles sont notées  $\epsilon_i$  tandis que  $I^*$  désigne un terme d'interaction (ou plusieurs) et  $f$  dans l'expression désigne une fonction plus ou moins complexe avec un choix de fonction de spline et de dimension de base, de famille du lien et de méthode analytique fait en suivant les recommandations de Wood (2006). Aucun modèle trop complexe n'a été testé pour conserver une logique d'analyse qui permette une représentation visuelle ne dépassant pas trois dimensions et qui autorise *in fine* une interprétation simple. Les analyses ont été réalisées dans l'environnement R en utilisant la commande `gam` du package `mgcv` Wood (2006). La commande `gam.check()` a été utilisée pour valider le choix de la dimension (k) de la base. La commande `draw` dans le package `gratia` a été utilisée pour visualiser les effets relatifs.

### 8.2.3 Modélisation corrélative de la répartition

La modélisation corrélative de la répartition est réalisée à partir de quelques points de présence d'adultes issues du programme (85 observations) et de la base de données GBIF (230 observations sur la période 1991–2020). Cependant, pour éviter la pseudo-réplication des données, un seul point d'observation a été sélectionné dans chaque maille (ASTRUC *et al.*, 2017 ; GUIAN *et al.*, 2017b ; LIANG *et al.*, 2018). La sélection d'une donnée par maille de 1 km a conduit à obtenir un jeu de données de 20 mailles occupées. Les mailles occupées sont représentées dans les cartes de modélisation du présent de la répartition.

Les variables climatiques proviennent des simulations Aladin 52 CNRM 2014 téléchargées via le site de Météo France DRIAS (DRIAS, 2020) à partir desquelles des indices ont été calculés. Les données



brutes sont relatives à une résolution de 8 km<sup>2</sup>, redécoupée en mailles de 1km<sup>2</sup> et les valeurs temporelles sont des moyennes mensuelles calculées à partir de projections journalières. La référence du présent est définie de 1991 à 2020 et les horizons futurs sont définis comme suit : Horizon 1 (H1) = 2021–2050, Horizon 2 (H2) : 2051–2070 et Horizon 3 (H3) : 2071–2100. Ces horizons ont été déterminés d’après les recommandations de Météo-France qui préconise une durée de l’ordre de 30 ans afin de lisser les « bruits » inclus dans les valeurs des simulations climatiques (OUZEAU *et al.*, 2014). Les simulations dans la période dite du présent proviennent des données historiques 1991–2005 et des simulations sous le scénario RCP 8.5 de 2006 à 2020. Trois scénarios climatiques sont retenus. Le plus optimiste RCP 2.6 correspond à une stabilisation avant 2100 du taux de CO<sub>2</sub> puis un retour au niveau actuel. Le scénario intermédiaire RCP 4.5, considéré comme le plus probable, est une augmentation continue au niveau de 4.5W/m<sup>2</sup> et le scénario le plus pessimiste RCP 8.5 est une augmentation continue à 8.5W/m<sup>2</sup> (IPCC, 2014b). Une première sélection des variables est basée sur les connaissances de biologie et d’écologie des espèces. Puis, un test de corrélation de Spearman est réalisé pour ne sélectionner que les variables dont les coefficients de corrélations sont inférieurs à 0,7 entre elles. Parmi les variables conservées, les modélisations permettent ensuite d’identifier quelles variables sont les plus explicatives de la répartition.

Des variables relatives à l’habitat sont également utilisées. Leur choix tient compte de l’écologie de l’espèce et résulte du consensus associant connaissances publiées et avis d’experts. La Grenouille des Pyrénées est strictement torrenticole, les adultes occupent des habitats frais, de préférence forestiers (SERRA-COBO *et al.*, 1998 ; MANENTI & BIANCHI, 2011 ; DUCHATEAU *et al.*, 2012 ; BERRONEAU, 2015). Les pontes sont fixées sur des plaques rocheuses dans les torrents afin d’éviter qu’elles ne soient emportées par les crues (BERRONEAU, 2015). Ainsi, pour cette espèce, ont été sélectionnées les variables « zone humide » (BERTHIER *et al.*, 2014), « cours d’eau » issue de la BD CARTHAGE, « plans d’eau » issue de la BD TOPO, « pourcentage de fragments grossiers dans le sol » (BALLABIO *et al.*, 2016), « altitude », « pente », « ombrage » et « exposition » calculées à partir d’un MNT 100m puis obtenues pour la maille 1km. Pour l’occupation du sol, ont été sélectionnées les variables prairies, forêts et pelouses calculées par le CESBIO (<https://www.cesbio.cnrs.fr/>) en 2018.

Les analyses ont été conduites sous R avec le package BIOMOD2 (GUISAN *et al.*, 2017b ; THUILLER *et al.*, 2020). Facile d’utilisation, il permet de sélectionner les variables selon leur importance, i.e. leur pouvoir explicatif, et les méthodes selon les courbes de réponses des variables, puis de projeter les répartitions au présent et au futur selon différents scénarios (CEIA-HASSE *et al.*, 2014). Des modélisations d’ensemble ont été obtenues à partir de 400 modèles, construits selon différentes méthodes statistiques (GAM, GLM, MARS, FDA), différents jeux de pseudo-absence (10 jeux différents) et différents découpages entre le jeu d’apprentissage et le jeu d’évaluation (10 découpages). Les modèles ont été évalués selon le critère TSS – True Skill Statistic (LYONS & KOZAK, 2020), un modèle est considéré « bon » si le critère est supérieur à 0,7 (GUISAN *et al.*, 2017b ; FOURCADE *et al.*, 2018). Les comparaisons de la projection du présent et des projections futures aux différents horizons et scénarios permettent d’évaluer le changement d’aire de répartition en calculant les pourcentages de gain et de perte d’habitat. La méthodologie est détaillée dans le chapitre 2 de la thèse de Florèn HUGON (HUGON, 2021).

## 8.3 Résultats

### 8.3.1 Changements dans l'abondance

Depuis 2012, un indice d'abondance des têtards est calculé pour chaque saison de reproduction. Celui-ci est alors comparable d'année en année pour chaque site. La Fig. 151 restitue ces estimations, par année et par site.

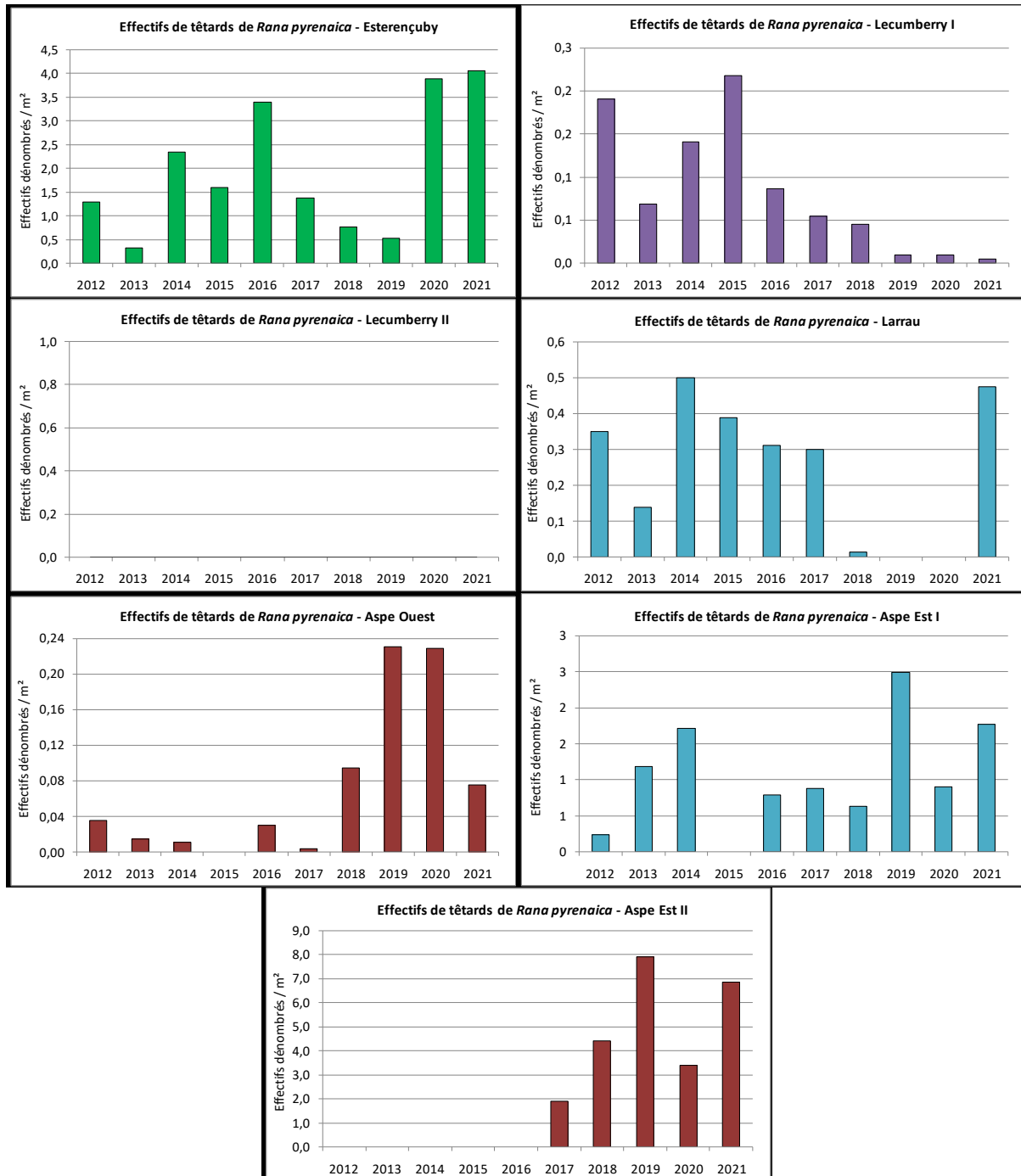


Fig. 151. Évolution des effectifs des têtards sur les sept sites suivis, années 2012 à 2021 (effectifs maximums rapportés au m<sup>2</sup>).



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

### 8.3.2 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'analyses type Analyse par Composantes Principales (ACP) ont été réalisées (Tab. XLIX, Fig. 151).

Tab. XLIX. Tableau récapitulatif des valeurs météorologiques annuelles

Année		2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Densités de têtards au m <sup>2</sup>	Esterençuby	26	7	47	32	68	27	15	10	78	81
	Lecumberry I	4	1	3	4	2	1	1	0	0	0
	Larrau	7	3	10	8	6	6	0	0	0	0
	Aspe Ouest	1	0	0	NA	1	0	2	5	5	10
	Aspe Est I	5	24	34	NA	16	18	13	50	18	35
	Aspe Est II	NA	NA	NA	NA	NA	38	88	159	68	137
Crues printanières (Précipitation Max entre Avril et Juin à Pau - mm)		28	49	36	45	23	32	91	23	70	21
Chute de neige (total précipitation entre nov. Et février - mm)		345	625	671	556	448	289	531	349	557	451
Douceur printanière (moyenne des T° max entre mars et juillet)		21	20	21	22	20	22	21	21	22	21
Ensoleillement printanier (durée d'ensoleillement entre mars et juillet - h)		970	886	948	935	837	1022	837	1036	961	954
Froid hivernal (moyenne des T° mini entre novembre et février)		3	3	4	4	5	3	3	4	5	5
Froid au printemps (moyenne des T° mini entre mars et juillet)		10	10	11	11	11	11	11	10	11	10
Température minimale au printemps (T° mini enregistrée entre mars et juillet)		-1	-2	1	-1	0	1	-3	0	1	-2

A l'heure actuelle, les fortes variations annuelles ne permettent pas de mettre en évidence de relations marquées entre les différents facteurs et l'abondance annuelle. Ceux-ci semblent réagir de façon différente aux variations climatiques annuelles. Notons toutefois que les sites de la forêt d'Iraty (le site d'Esterençuby plus précisément, c.a.d. le seul qui présente un nombre important de têtard chaque année) semblent 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**. Ces crues ont été peu marquées cette année, ce qui a limité les phénomènes de « lessivage » (envoi vers l'aval des têtards emportés par le courant) qui avaient pu être observés certaines années précédentes.





Fig. 1 : 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 2021.

### 8.3.3 L'environnement immédiat de la Grenouille des Pyrénées aux stades larvaire et adulte : micro- et méso-climat

Les statistiques dans l'air à 1 m du sol (Tab. L) sont fournies pour quatre sites (Estérençuby, Lecumberri, Aspe Est et Aspe Ouest). Ces séries temporelles comportent respectivement 34078, 33771, 33237 et 26357 observations à la date de rédaction du présent rapport, tous les relevés finaux n'ayant pas été effectués ou ayant été dépouillés. Ainsi, par exemple, le site d'Estérençuby comporte 34078 observations collectées entre le 2016-08-01 (15:00:00 UTC) et le 2020-06-21 (14:00:00 UTC) tandis que le site d'Aspe Ouest comporte 26358 observations collectées entre le 2016/07/28 (13:00:00 UTC) et le 2019/07/31 (19:00:00 UTC). Certaines valeurs, en italique dans le tableau ci-dessous, devront faire l'objet d'une validation externe. En dépit des écarts d'altitude entre les deux sites, il n'y a pas de différence marquée, ce qui peut être expliqué par des différences locales dans l'exposition, l'habitat et les régimes thermiques locaux. La saisonnalité apparaît nettement.

Les statistiques de température dans l'eau (Tab. L) sont calculées sur les deux sites sur lesquels l'enregistrement continu a été possible (Estérençuby et Aspe Ouest). La série temporelle de température sur le site d'Estérençuby comporte 71513 observations collectées entre le 08/23/17 (06:00:00 PM) et le 09/21/21 (02:00:00 PM). La série temporelle de température sur le site d'Aspe Ouest comporte 70797 observations collectées entre le 08/16/17 (06:00:00 PM) et le 08/30/21 (04:00:00 PM). D'ores et déjà, il apparaît très nettement que les températures de l'eau en vallée d'Aspe (à une altitude de 555 m) sont toujours plus élevées que celles mesurées sur le site d'Estérençuby dans le massif d'Iraty (à l'altitude bien plus élevée de 970 m !)

Tab. L. Statistiques sur données brutes (certaines valeurs, en italique dans le tableau ci-dessous, devront faire l'objet d'une validation externe) : température de l'air, humidité relative et point de rosée à 1 m du sol, température de l'eau au fond du chenal.



		Minimum	Q1	Médiane	Moyenne	Q3	Maximum
<b>Estérençuby</b>							
Air	Température (°C)	-9,37	6,86	11,30	11,42	15,63	35,00
Air	Humidité relative (%)	5,09	69,15	86,22	80,73	97,71	100,00
Air	Point de rosée (°C)	-29,53	3,24	7,58	7,56	12,17	27,17
Eau	Température (°C)	-8,26	6,59	8,62	8,99	11,39	33,65
<b>Lecumberri</b>							
Air	Température (°C)	-10,90	5,41	9,81	10,01	14,34	34,05
Air	Humidité relative (%)	10,03	76,42	90,17	84,42	98,18	100,00
Air	Point de rosée (°C)	-15,01	2,49	6,88	6,94	11,54	26,51
Eau	Température (°C)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<b>Aspe Ouest</b>							
Air	Température (°C)	-6,90	5,85	11,13	10,82	15,77	30,65
Air	Humidité relative (%)	22,04	95,85	100,00	94,78	100,00	100,00
Air	Point de rosée (°C)	-7,35	4,93	9,56	9,72	14,80	26,20
Eau	Température (°C)	1,29	7,82	10,15	10,41	13,06	23,91
<b>Aspe Est</b>							
Air	Température (°C)	-7,61	6,20	10,86	10,93	15,44	39,23
Air	Humidité relative (%)	14,71	87,30	98,03	91,06	100,00	100,00
Air	Point de rosée (°C)	-8,51	4,47	8,89	9,09	13,82	37,19
Eau	Température (°C)	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Une représentation de la variabilité interannuelle pour le site d'Aspe ouest est donnée à titre d'exemple sous forme de données journalières lissées par la méthode des moyennes mobiles (ici sur 5 jours) (Fig. 152).

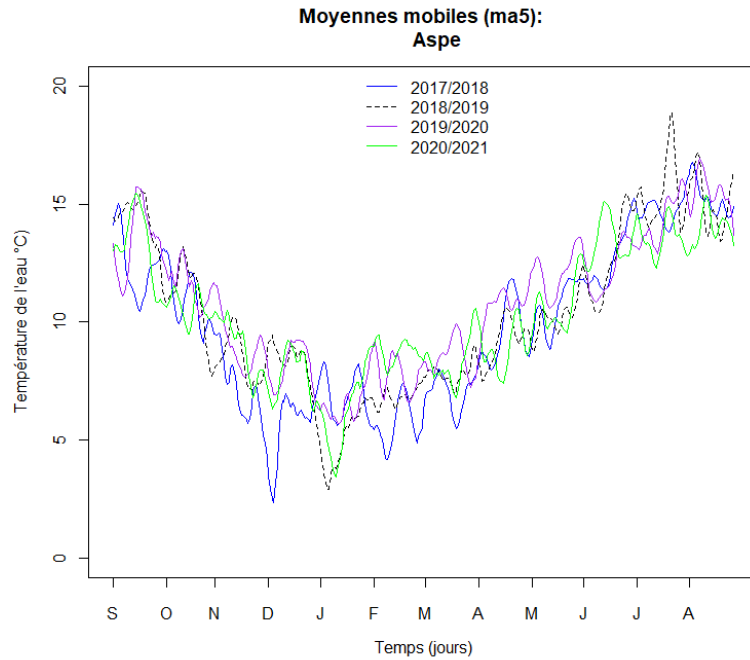


Fig. 152. Séries temporelles de température dans l'eau sur le sites d'Aspe Ouest): moyennes mobiles sur 5 jours.

Quand les températures moyennes mensuelles de l'air sont superposées (Fig. 153) pour les quatre sites (Estérençuby, Lecumberri, Aspe Est et Aspe Ouest), la similarité des profils pour les deux sites du massif d'Irati (Estérençuby et Lecumberri) apparaît très nettement tout comme celle pour les deux sites de la vallée d'Aspe (Aspe Est et Aspe Ouest). Cette similitude est attendue compte tenu de la proximité des sites. En revanche, un net décalage de quelques degrés apparaît entre les sites de la vallée d'Aspe (en bleu) et ceux du massif d'Irati (en rouge), pour des raisons difficiles à cerner.

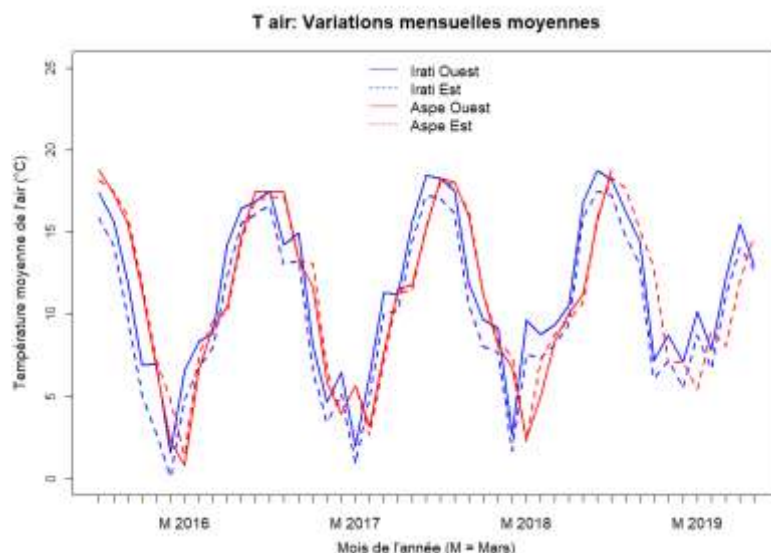


Fig. 153. Séries temporelles de température dans l'air sur les quatre sites de présence connue (massif d'Irati *en bleu* et vallée d'Aspe *en rouge*): moyennes mensuelles.

M 2016, M 2017, M 2018 et M 2019 indiquent le mois de mars de chaque année (ce mois représente le début du développement larvaire sur les sites de la vallée d'Aspe)



Ce qui est remarquable, et non sans conséquence face à la marge de manœuvre des populations face au changement climatique, c'est la différence systématique importante entre les températures de la rivière en vallée d'Aspe, plus chaudes, et celles du massif d'Irati. Toujours supérieure à 1°C (Tab. LI), la différence entre les moyennes est moins marquée de septembre à janvier ; elle dépasse 2°C pendant la période de développement des têtards (2,07 °C en avril 2020 ; 2,11 °C en avril 2021 ; 2,16 °C en juin 2021).

Tab. LI. Écarts mensuels de températures dans l'eau (Temp.Aspe – Temp.Irati) pendant 4 cycles annuels de vie de *Rana pyrenaica* (certaines valeurs, en italique dans le tableau ci-dessous, sont entachées d'erreurs de mesure) : moyenne et écart-type (colonnes de droite).

	[2017-2018]	[2018-2019]	[2019-2020]	[2020-2021]	Moyenne °C	S.E.
<b>Septembre</b>	<i>1,93</i>	0,68	1,75	1,24	<b>1,22</b>	<b>0,53</b>
<b>Octobre</b>	<i>0,92</i>	1,39	1,24	1,50	<b>1,38</b>	<b>0,13</b>
<b>Novembre</b>	<i>-0,14</i>	0,68	1,53	0,95	<b>1,06</b>	<b>0,44</b>
<b>Décembre</b>	<i>-0,24</i>	1,09	1,13	1,92	<b>1,38</b>	<b>0,47</b>
<b>Janvier</b>	<i>1,41</i>	0,72	1,14	1,28	<b>1,04</b>	<b>0,29</b>
<b>Février</b>	<i>3,31</i>	1,44	1,19	1,76	<b>1,46</b>	<b>0,29</b>
<b>Mars</b>	<i>2,10</i>	1,68	1,81	1,78	<b>1,76</b>	<b>0,07</b>
<b>Avril</b>	<i>1,49</i>	1,83	2,07	2,11	<b>2,00</b>	<b>0,15</b>
<b>Mai</b>	<i>1,74</i>	1,99	1,81	1,65	<b>1,82</b>	<b>0,17</b>
<b>Juin</b>	<i>1,61</i>	1,89	1,58	2,16	<b>1,88</b>	<b>0,29</b>
<b>Juillet</b>	<i>0,28</i>	2,03	1,58	1,52	<b>1,71</b>	<b>0,28</b>
<b>Août</b>	<i>-0,10</i>	2,45	1,24	0,92	<b>1,53</b>	<b>0,81</b>

La leçon capitale de ces analyses de séries temporelles mesurant la variabilité (une première pour le mésoclimat de *Rana pyrenaica*!) de la température dans les cours d'eau (Irati et Aspe) indiquent sans ambiguïté que la marge thermique est plus importante à haute altitude. De fait, la population de basse altitude en vallée d'Aspe paraît être la plus vulnérable à cet égard.

### 8.3.4 Températures optimales de développement des têtards : comment vivre en eau froide torrentielle ?

Avec ces distributions simples, en première approche, la température optimale pour les têtards de l'espèce avait été estimée à  $T_{opt} = 13.1^{\circ}\text{C}$  à partir de l'analyse de courbes de préférence thermique (TPC) (CONSTANT, 2017 ; MALLARD, 2017b) et à  $14.2^{\circ}\text{C}$  à partir de l'analyse de vigueur d'activité (EAVC) (CONSTANT, 2017 ; MALLARD, 2017b). Des deux méthodes d'investigation, à savoir TPC vs EAVC, la première est la moins restrictive des deux. L'approche EAVC, plus exigeante et certainement plus robuste, permet en outre de quantifier la fenêtre thermique d'activité, estimée à  $11,6^{\circ}\text{C}$ . La Fig. 154 illustre ces résultats :  $T_{opt}$  à  $14,2^{\circ}\text{C}$  apparaît en trait vert épais, la fenêtre thermique d'activité comprise entre les valeurs LAT =  $8,4^{\circ}\text{C}$  et UAT =  $20,0^{\circ}\text{C}$  est matérialisée par les traits pointillés verts. Quelque soit l'activité de nage testée (CONSTANT, 2017 ; MALLARD, 2017b), la distribution de Kumaraswamy est en général celle qui

bénéficie du meilleur soutien empirique (voir Fig. 154). Avec ce type de distribution complexe, la température optimale pour les têtards de l'espèce est estimée à  $T_{opt} = 14,3^{\circ}\text{C}$  ce qui correspond à la valeur de  $14,2^{\circ}\text{C}$  estimée préalablement à partir de l'analyse de vigueur d'activité (EAVC) (CONSTANT, 2017 ; MALLARD, 2017b).

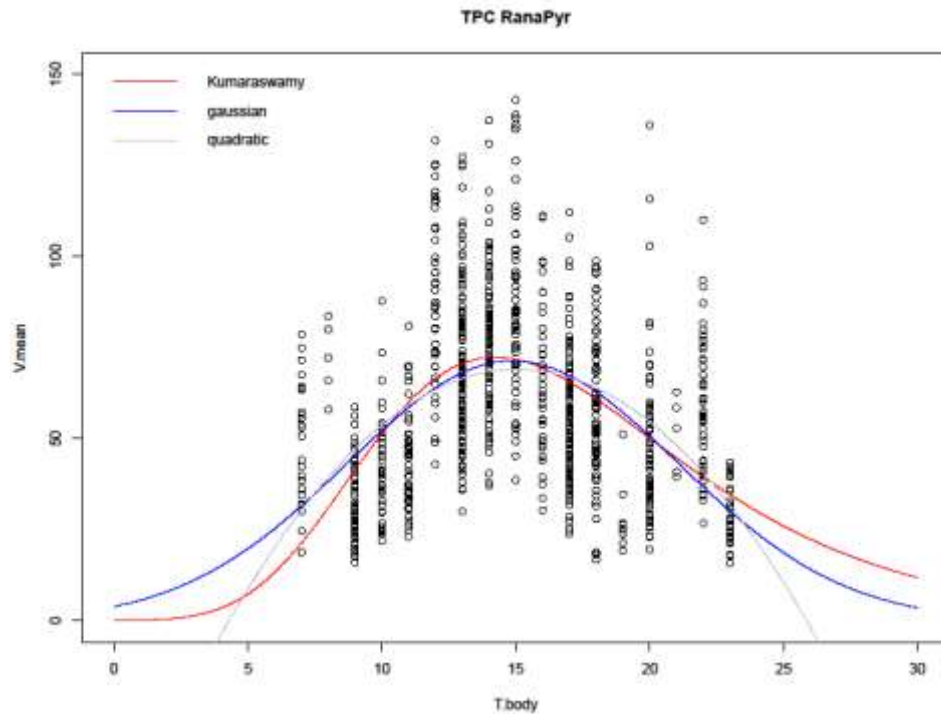


Fig. 154. Température optimale pour les têtards de l'espèce estimée à partir de 3 distributions : distribution de Kumaraswamy, gaussienne et quadratique :  $T_{opt} = 14.2^{\circ}\text{C}$

Les mesures faites sur le terrain en 2017 permettent de comparer également les paramètres entre les deux “noyaux” de populations que sont Aspe Est et Aspe Ouest (voir Fig. 155).



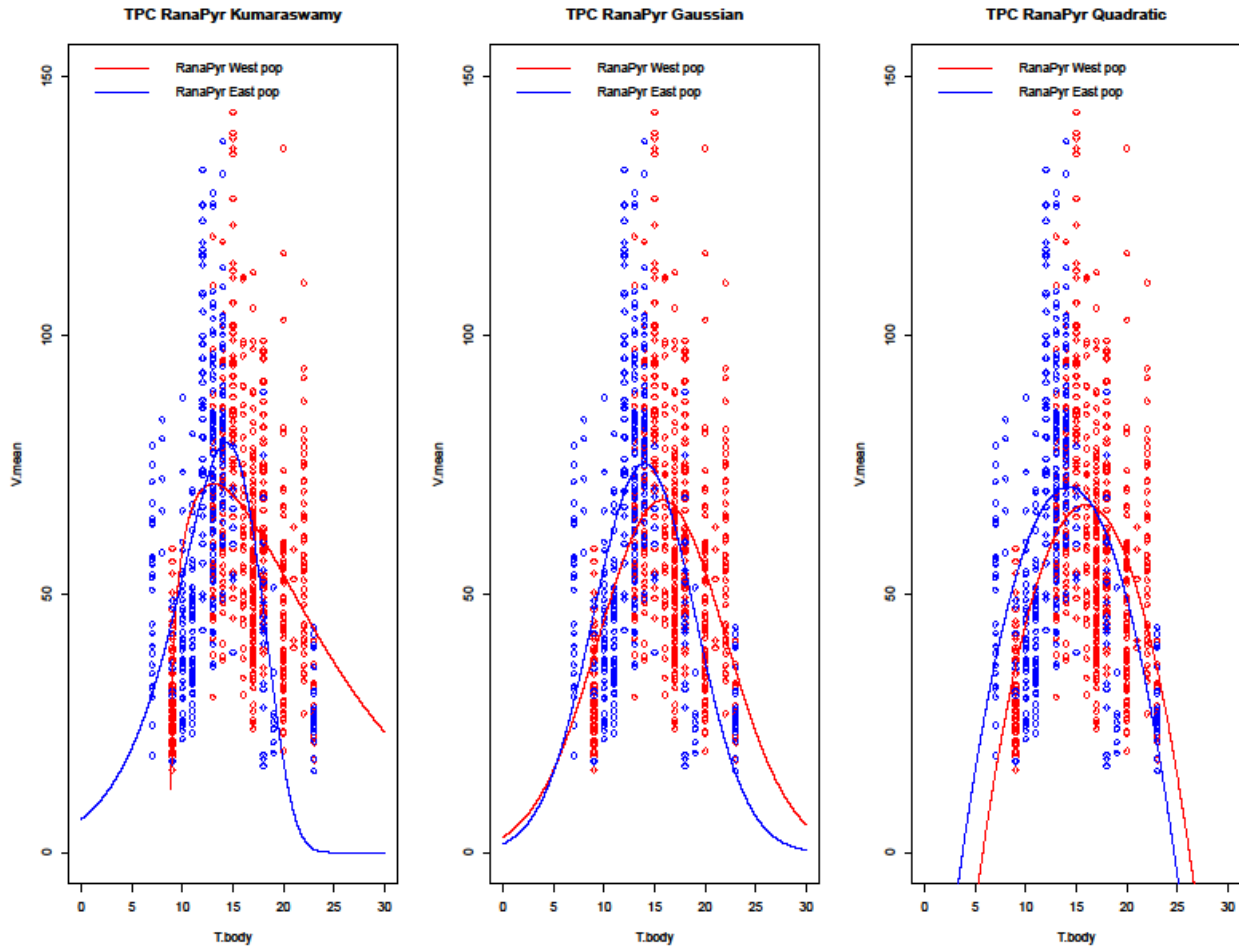


Fig. 155. Température optimale pour les têtards des deux noyaux de la vallée d’Aspe (Aspe Ouest en rouge et Aspe Est en bleu) estimée à partir des 3 distributions de Kumaraswamy, gaussienne et quadratique :  $T_{opt} = 14.2^{\circ}\text{C}$

Aucune différence significative entre les deux “noyaux” n’est décelée,  $T_{opt}$  étant égale dans les deux cas à  $14,3^{\circ}\text{C}$ . La modélisation par modèle additif généralisé mixte confirme l’absence de différence. En testant tour à tour, et simultanément, des modèles simples et complexes où on cherche à établir l’effet de la température du milieu ambiant (et donc de la température corporelle (CONSTANT, 2017 ; MALLARD, 2017b) sur la performance de l’activité (dans ce rapport seule la vitesse moyenne de l’activité de nage est présentée), il est possible de prendre en compte l’effet de la taille des têtards et du site (“Size” et “Site” dans les figures).

Les différents modèles sont construits autour de la forme générale :

$$V_{t,i,j} = f(\theta_t, S_i, P_j) + \epsilon_i$$

dans laquelle  $V_{t,i,j}$  représente la vitesse (moyenne ou maximum) de nage des têtards de taille  $S_i$ , sur le site  $P_j$ , à la température  $\theta_t$ . Les erreurs résiduelles sont notées  $\epsilon_i$  tandis que la lettre  $f$  dans l’expression  $f(\theta_t, S_i, P_j)$  désigne une fonction plus ou moins complexe avec un choix de fonction de spline et de dimension de base, de famille du lien et de méthode analytique fait en suivant les recommandations de Wood (2006). Aucun modèle trop complexe n’a été testé pour conserver une logique d’analyse qui permette une représentation visuelle ne dépassant pas trois dimensions (voir Fig. 156) et qui autorise *in fine* une interprétation simple. Les analyses ont été réalisées dans

l'environnement R en utilisant la commande gam du package mgcv Wood (2006). La commande gam.check() a été utilisée pour valider le choix de la dimension (k) de la base.

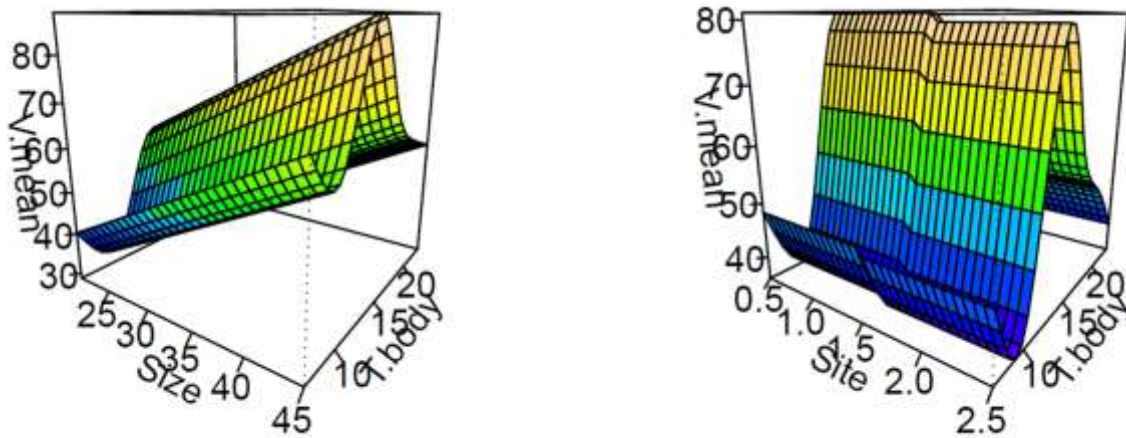


Fig. 156. À gauche performance d'activité de nage modélisée par GAM en fonction de la taille des têtards (Size) et de la température corporelle (T.body) et à droite performance d'activité de nage modélisée par GAM en fonction du site (Site: Aspe Ouest vs Aspe Est) et de la température corporelle (T.body) (Légende: R-sq.(adj) = 0.404; Deviance explained = 40.9%; GCV = 375.58 . Method: GCV; Optimizer: magic; Smoothing parameter selection convergence after 5 iterations; RMS GCV score gradient convergence at 0.0005 ; significance of smooth terms (edf) = 4.9 p-value (s(T.body)) <2e-16)

La valeur du score GCV (minimised generalised cross-validation score) indique que c'est le modèle complet qui a le plus de support empirique et que la taille des têtards a un effet majeur sur la performance de nage sans affecter la température optimale. Un possible 'effet site' (sans être toutefois significatif) serait traduit par une légère différence dans la vitesse de nage (visible sous la forme du décalage perceptible dans la figure de droite), mais sans affecter, là encore, la température optimale qui reste égale dans les deux cas à 14,3°C. Dans le meilleur des cas, le pourcentage de déviance expliquée est légèrement supérieur à 40%, indiquant l'influence certaine d'autres variables.

### 8.3.5 Le risque de déshydratation des adultes : évaluation expérimentale au moyen de modèles biomimétiques en agarose et importance de l'habitat et du comportement

Pour corroborer ces choix, des diagrammes de dispersion par paire comparant les coefficients de corrélation (voir un exemple à la Fig. 157) et un biplot d'analyse en composante principale (ACP) ont été appliqués à toutes les covariables. À titre d'exemple de résultat d'analyse par ACP, de façon condensée, les résultats indiquent que pour les expériences en été, les variables "Tairmax, Tsoilmax, Tairmean, Tsoilmean, AmpRHsoil et Tairmin (correlation > 0.7), EWL, RHsoilSD (0.6 < corr < 0.7) sont les plus corrélées à la dimension 1 et que "RHsoilmin, RHsoilmean, RHairmin et RHsoilmean" (corr > - 0.7) sont anti-corrélées à la première dimension. "AmpTair, TairSD, RHairSD et AmpRHair (corr > 0.6) sont les variables les plus corrélées à la deuxième dimension. Pour l'hiver, les tableaux de la description des deux axes principaux montrent que les variables "Tsoilmax, Tsoilmean, AmpRHsoil, RHsoilSD, Tairmean (correlation > 0.7), Tairmax, Tairmin" et AmpTsoil (0.6 < corr < 0.7) sont les plus corrélées à la dimension 1 et que "RHsoilmin, RHsoilmean et RHsoilmax" (corr > - 0.7) sont anti-corrélées à la première dimension. "AmpTair, TairSD, AmpRHair, AmpTsoil et TsoilSD (corr > 0.6) sont les variables les plus corrélées à la deuxième dimension.



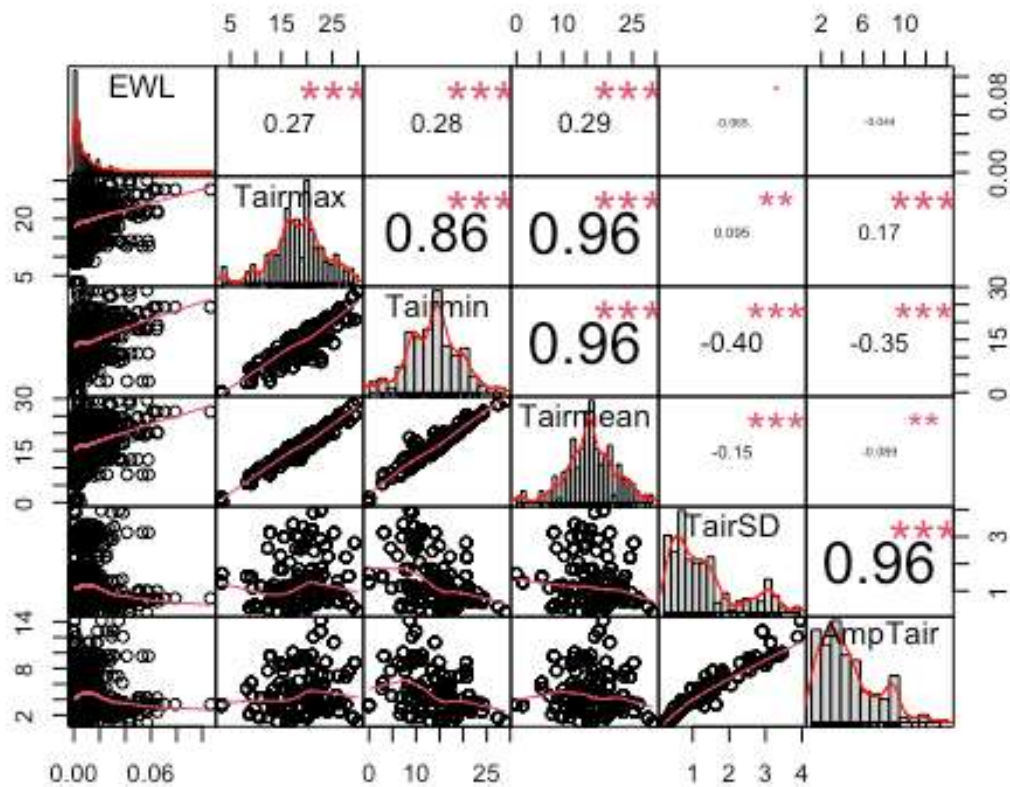


Fig. 157. Exemple d'étude exploratoire de corrélation entre taux de déshydratation (EWL) et différentes statistiques d'humidité relative du sol (RHsoilmax, RHsoilmin, RHsoilmean, RHsoilSD et AmpRHsoil). [Clés pour la lecture : le graphe est établi au moyen de la commande `chart`. Corrélation (package `PerformanceAnalytics`). Sur la diagonale se trouvent les distributions univariées, représentées par des histogrammes et des diagrammes de densité de noyau. À droite de la diagonale se trouvent les corrélations par paires, les étoiles rouges indiquant les niveaux de signification. Plus les corrélations sont importantes, plus la taille de la police du coefficient est grande. Sur le côté gauche de la diagonale se trouve la matrice du nuage de points, avec les lisseurs de loess en rouge pour aider à illustrer la relation sous-jacente].

Comme indiqué plus haut, au moment de la rédaction du rapport, de nombreuses analyses sont encore en cours, et le choix est fait de présenter deux blocs de résultats : le premier bloc relève de la visualisation statistique de données (*sensu* Ho & Claridge-Chang (2019) par exemple) et le deuxième est issu des premières analyses par modèles additifs généralisés hiérarchiques (hGAMs *sensu* Pedersen *et al.* (2019)).

Les résultats sont d'abord représentés par visualisation statistique de comparaison de moyennes et graphiques d'estimation avec intervalles de confiance. Dans cette approche, les intervalles de confiance (ICs) sont utilisés pour montrer le résultat principal des expérimentations, plutôt que les 'fameuses' p-value (voir Gardner & Altman (1986) qui ont introduit des graphiques pour montrer simultanément les intervalles de confiance et les données). Dans ce type de graphiques, le panneau de gauche est un graphique en points pour chaque groupe. Le panneau de droite est un graphique unidimensionnel (avec une échelle différente de celle du panneau de gauche ; le zéro est centré sur la moyenne de l'un des groupes), montrant la différence entre les groupes et un intervalle de confiance sous la forme d'un point avec des barres d'erreur. Les principales caractéristiques du graphique d'estimation de Gardner-Altman sont les suivantes : i/ tous les points de données sont tracés et ii/ la

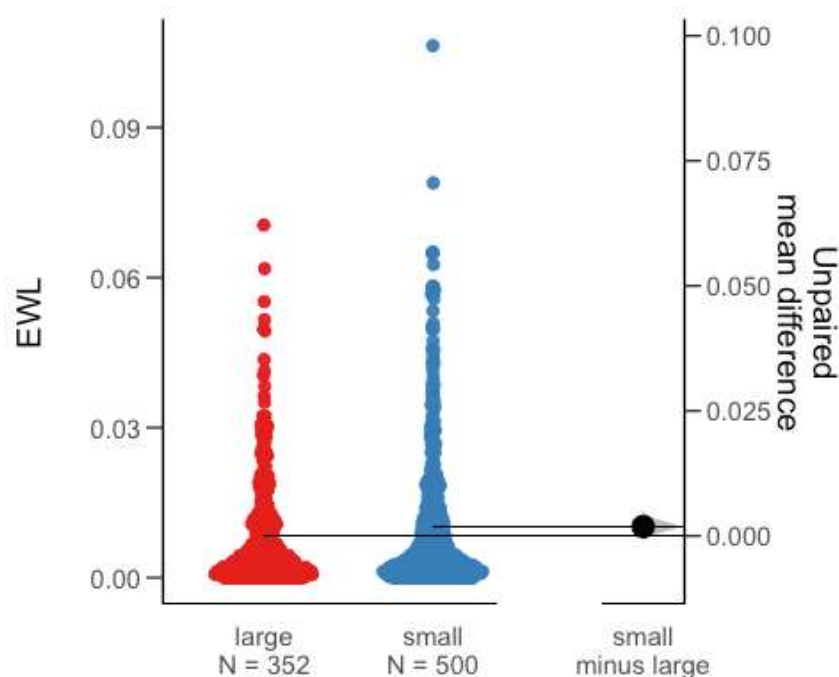


différence moyenne (la taille de l'effet) et son intervalle de confiance à 95 % (IC 95 %) sont affichés sous la forme d'une estimation ponctuelle et d'une barre verticale respectivement, sur des axes distincts mais alignés. Techniquement, les comparaisons de moyenne et graphes d'estimation sont réalisées dans l'environnement R avec le package dabest (Ho & CLARIDGE-CHANG, 2019) dont un des intérêts majeurs est de calculer l'intervalle de confiance (IC à 95%) par un rééchantillonnage bootstrap non paramétrique, ce qui permet de visualiser l'intervalle de confiance comme une distribution d'échantillonnage graduelle.

a) Effet de la taille des modèles en agarose sur les taux d'évaporation

Quantitativement, comme l'indique le graphique d'estimation de Gardner-Altman (1986) (Fig. 158), quand on compare les taux d'évaporation horaire (EWL) entre les modèles de petite taille ( $n = 500$ ) et de grande taille ( $n = 352$ ), la différence estimée de moyenne est de 0.00188 avec un IC à 95 % égal à [0.000257; 0.00361].

De façon évidente, la déshydratation est supérieure chez les modèles en agarose de petite taille ; par extension, avec toutes les précautions qui s'imposent lorsqu'il est question de généraliser au vivant le résultat d'expériences avec des proxys, cette déshydratation *serait* supérieure chez les grenouilles de petite taille (type *Rana pyrenaica*), qui *seraient* plus à risque donc.

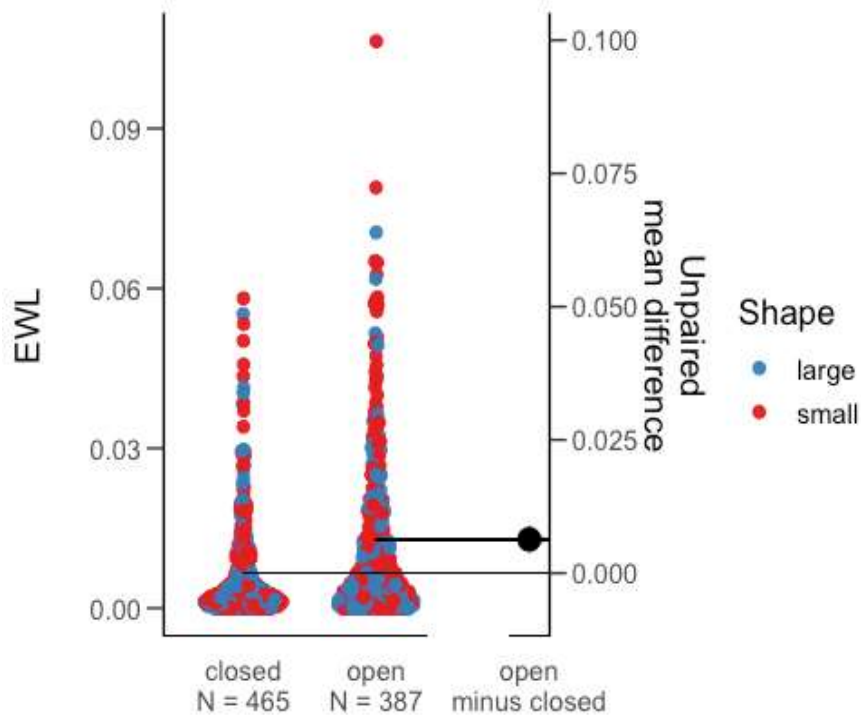


**Fig. 158.** Effet de la taille des modèles en agarose sur les taux d'évaporation (EWL) visualisé par graphique d'estimation de Gardner-Altman. *Lecture: en couleurs la taille des modèles expérimentaux (en bleu: modèles de petite taille, en rouge: modèles de grosse taille). Autrement dit, si l'on faisait les expériences 100 fois, la moyenne des taux d'évaporation horaire (EWL) est supérieure dans les petits modèles et leur différence estimée par bootstrap serait de 0.00188, en considérant que la "vraie" valeur de différence serait comprise dans l'intervalle [0.000257; 0.0037] dans 95 cas.*



b) Effet de l'habitat sur les taux d'évaporation des modèles en agarose :

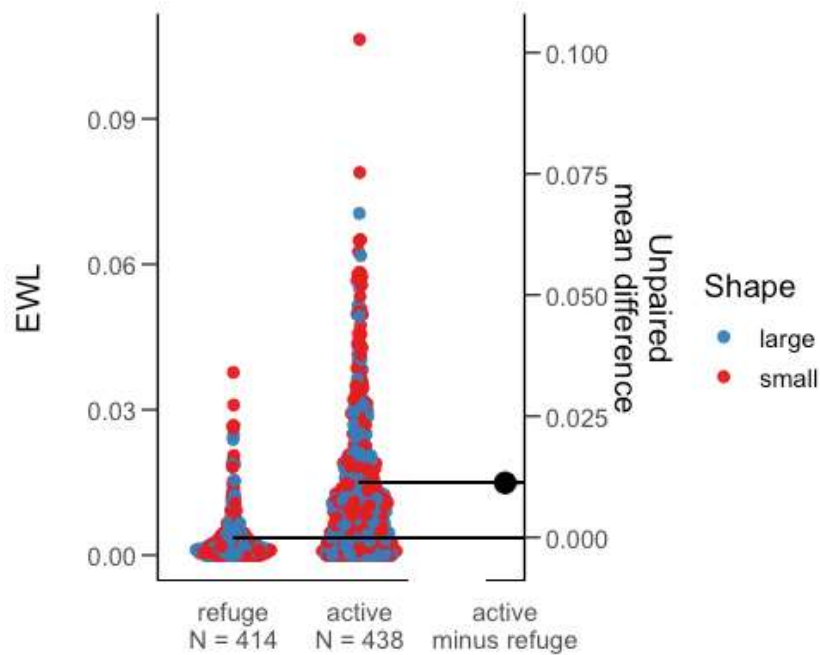
Les taux d'évaporation horaire entre les modèles (avatars) placés en milieu ouvert (n = 216) et fermé (n = 216), diffèrent en moyenne d'une valeur de 0,00521 avec un IC 95% de [0.00302; 0.00792] (Fig. 159). De façon évidente, en ramenant l'information expérimentale obtenue sur les 'avatars' à la réalité du vivant telle qu'elle est modélisée, la déshydratation *serait* supérieure chez des grenouilles s'aventurant ou vivant en milieu ouvert – et encore plus pour les grenouilles de petite taille (type *Rana pyrenaica*), qui *seraient* plus à risque donc.



*Fig. 159. Effet de l'habitat (ouvert = open vs fermé = closed) des modèles en agarose sur les taux d'évaporation (EWL) visualisés par graphique d'estimation de Gardner-Altman. Lecture : Le schéma montre en couleurs la taille des modèles expérimentaux (en bleu : modèles de petite taille, en rouge : modèles de grosse taille). Autrement dit, si l'on faisait les expériences 100 fois, la moyenne des taux d'évaporation horaire (EWL) est supérieure en milieu ouvert et leur différence estimée par bootstrap serait de 0.00521, en considérant que la "vraie" valeur de différence serait comprise dans l'intervalle [0.00302; 0.00792] dans 95 cas.*

c) Effet du comportement sur les taux d'évaporation des modèles en agarose :

Quantitativement, quand on compare les taux d'évaporation horaire entre les modèles "actifs" (n = 438) et "fermé" inactifs" (placés dans un refuge) (n = 414), la différence estimée de moyenne est de 0,0113 avec un IC à 95% de [0,00979; 0,0129] (Fig. 160). L'interprétation précautionneuse est que la déshydratation *serait* supérieure chez les grenouilles actives, s'aventurant ou vivant en milieu ouvert par rapport à des grenouilles adultes qui restent cachés, à l'abri, dans un refuge (sol, dessous de tronc, souche...).



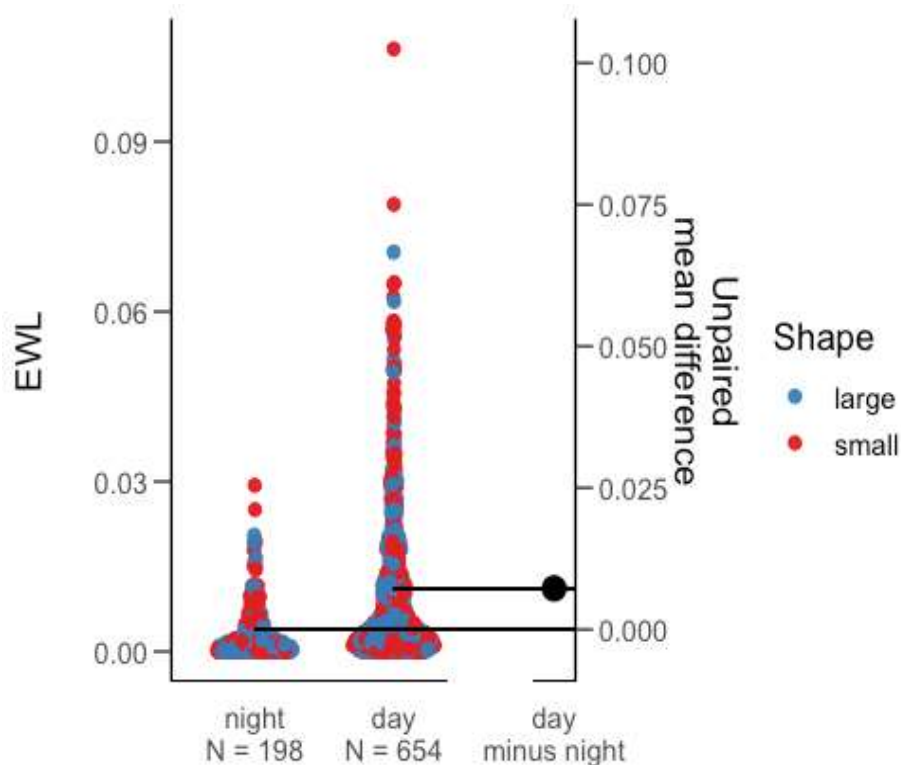
*Fig. 160. Effet du comportement (inactivité en refuge vs activité) des modèles en agarose sur les taux d'évaporation (EWL) visualisés par graphique d'estimation de Gardner-Altman. Lecture : Le schéma montre en couleurs la taille des modèles expérimentaux (en bleu : modèles de petite taille, en rouge : modèles de grosse taille). Autrement dit, si l'on faisait les expériences 100 fois, la moyenne des taux d'évaporation horaire (EWL) est supérieure chez les grenouilles exposées (actives) et leur différence estimée par bootstrap serait de 0.0113, en considérant que la "vraie" valeur de différence serait comprise dans l'intervalle [0.00979; 0.0129] dans 95 cas.*

d) Effet de l'alternance jour/nuit sur les taux d'évaporation des modèles en agarose :

Quantitativement, quand on compare les taux d'évaporation horaire entre les modèles installés pendant le jour (n = 654) et pendant la nuit (n = 198), la différence estimée de moyenne est de 0,00724 avec un IC de [0,00595; 0,00858] (Fig. 161).

De façon logique, la déshydratation *serait* supérieure chez les grenouilles actives pendant le jour comparés à des grenouilles pendant la nuit.

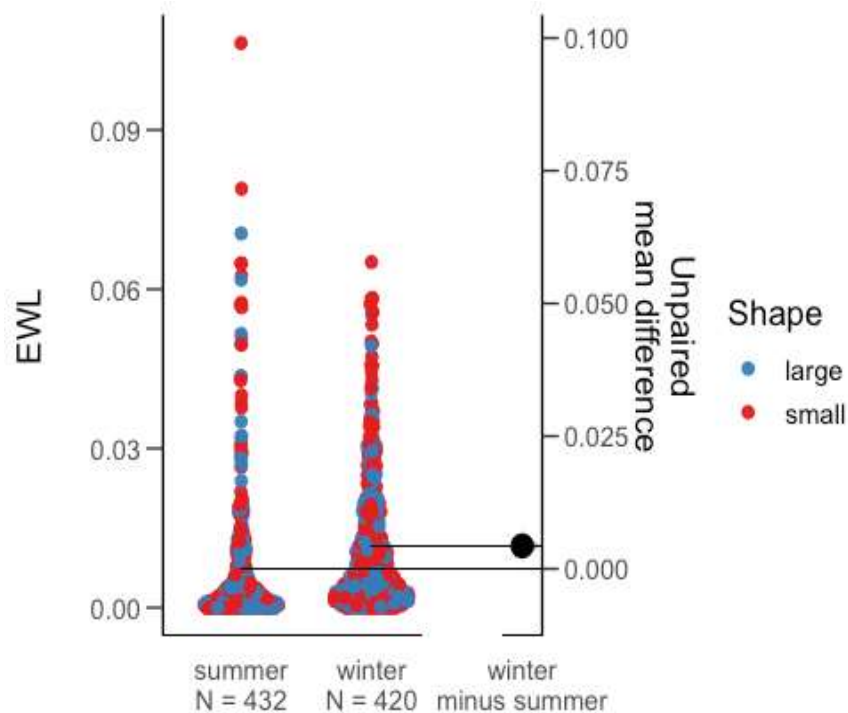




*Fig. 161. Effet du rythme nyctéméral (nuit= night vs jour = day) sur les taux d'évaporation (EWL) des modèles en agarose, visualisés par graphique d'estimation de Gardner-Altman. Lecture : Le schéma montre en couleurs la taille des modèles expérimentaux (en bleu : modèles de petite taille, en rouge : modèles de grosse taille). Autrement dit, si l'on faisait les expériences 100 fois, la moyenne des taux d'évaporation horaire (EWL) est supérieure chez les grenouilles exposées (actives) et leur différence estimée par bootstrap serait de 0.00724 , en considérant que la "vraie" valeur de différence serait comprise dans l'intervalle [0.00595; 0.00858] dans 95 cas.*

e) Effet de la saison (été vs hiver) sur les taux d'évaporation des modèles en agarose :

Quantitativement, quand on compare les taux d'évaporation horaire entre l'hiver (n = 420) et l'été (n = 432), la différence estimée de moyenne est de 0.00433 [95% CI: 0.00249; 0.00591] (Fig. 162). La saison aurait un effet assez net et contrintuitif : la déshydratation est supérieure chez les grenouilles pendant l'hiver (qui correspond à la saison de reproduction). L'explication la plus immédiate à ce stade, mais qui reste à explorer, serait une humidité relative plus faible pendant l'hiver, avec une variabilité (variance) plus importante.



*Fig. 162. Effet de la saison (été = summer vs hiver = winter) sur les taux d'évaporation (EWL) des modèles en agarose, visualisés par graphique d'estimation de Gardner-Altman. Lecture : Le schéma montre en couleurs la taille des modèles expérimentaux (en bleu : modèles de grosse taille, en rouge : modèles de petite taille). Autrement dit, si l'on faisait les expériences 100 fois, la moyenne des taux d'évaporation horaire (EWL) est supérieure en hiver et leur différence estimée par bootstrap serait de 0.00433 en considérant que la "vraie" valeur de différence serait comprise dans l'intervalle [0.00249; 0.00591] dans 95 cas.*

Les résultats de l'analyse par modèles additifs généralisés hiérarchique (hGAM) sont trop nombreux pour être présentés. Un seul exemple de sortie de modèle est présenté dans ce rapport (Fig. 163) ; il illustre les effets de la masse des modèles (masse prise ici en tant que variable continue) en tenant compte conjointement de trois autres facteurs contrôlés : de l'habitat (fermé vs ouvert), du comportement (activité vs inactivité en refuge) et du nyctémère (ici le jour est opposé à la nuit).



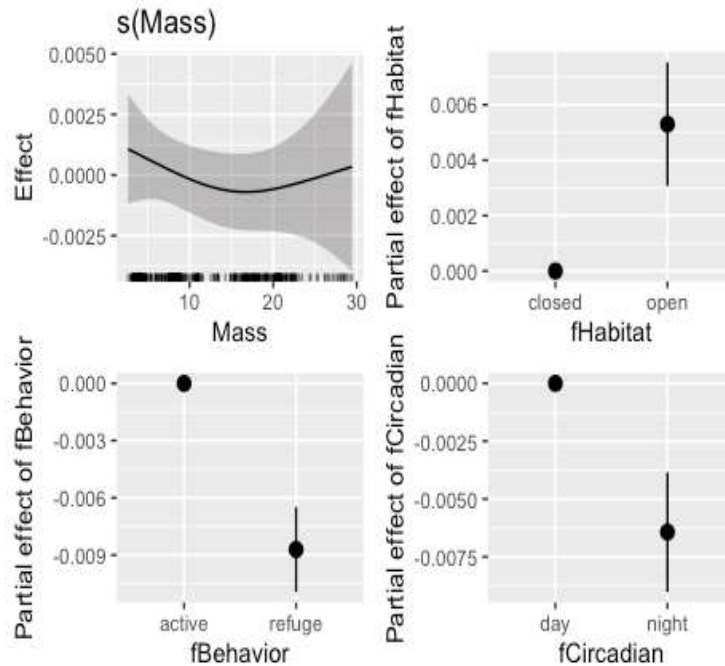


Fig. 163. Analyse par hGAM sur l'effet de la masse des modèles en agarose sur les taux d'évaporation (EWL), en fonction de l'habitat (fermé vs ouvert), du comportement (activité vs inactivité en refuge) et du nyctémère (ici le jour est opposé à la nuit). [Lecture : l'interprétation est délicate et se fait en termes d'effet, celui-ci étant évalué le long d'un gradient de valeurs négatives à positives].

Une interprétation possible, dite en termes simples, est la suivante : sachant l'effet de la masse (les petites grenouilles se déshydrateraient plus vite), l'habitat, le comportement et le moment du cycle circadien *auraient* un effet sensible. En milieu ouvert, la déshydratation *serait* plus forte (effet partiel proche de 0,075). Durant la nuit, la déshydratation *serait* moins importante (effet partiel proche de -0,075). Pour des modèles protégés de grenouille (i.e. inactive en refuge), la déshydratation *serait* moins prononcée (effet partiel proche de -0,0125) que des modèles exposés de grenouille (i.e. active).

Ces résultats souligneraient un peu plus l'importance de la diversité de l'environnement et notamment de l'importance de l'accès à un habitat boisé.

### 8.3.6 Projection de la répartition présente et future selon la modélisation corrélative

Parmi les 400 modèles à construire, 117 modèles présentaient un critère TSS inférieur à 0,7. Ainsi, 283 modèles ont été utilisés pour construire la modélisation d'ensemble. La variable indice de Martonne (Mar) contribue à presque un tiers (30,9 %). Elle est suivie par la quantité totale de neige (TotN) qui contribue à plus d'un cinquième (22,3%), puis par la pente (10,3 %) et l'humidité relative (9,5%). Les autres variables contribuent entre 2,8 (nombre de jours de pluie « NjP ») et 6,2 % (nombre de jours de gel « NjGel »).

Les scores TSS varient entre 0,992 et 0,993 indiquant que les 4 méthodes d'ensemble (moyenne, moyenne pondérée, médiane, committee averaging) sont « correctes ». La sensibilité – capacité à détecter les vraies présences parmi les présences est égale à 100 pour les quatre méthodes et la

spécificité – capacité à détecter les vraies absences parmi les absences est égale à 99,3 %. Les courbes de réponses sont similaires pour les méthodes moyenne, moyenne pondérée et « committee averaging ». Pour la méthode médiane, elles sont souvent d'équation  $y=1$  sauf pour les variables « MoyHR » et « NjGel ». Ces courbes représentent la probabilité de présence en fonction du gradient de la variable étudiée. Elles indiquent que la probabilité de présence est plus importante dans diverses conditions : l'indice de Martonne est proche de 2,6, la quantité de neige tombée sur la période d'hivernation est de 8 à 30 centimètres, la pente est supérieure à 20°C et l'humidité relative moyenne est proche de 82 %. La présence de la Grenouille des Pyrénées semble également favorisée par un vent inférieur à 2km/h, un nombre de jours de gel inférieur à 50 et une à quatre nuits tropicales (Annexe 13).

Les projections pour « passé-présent » reflètent les points d'observation de l'espèce en indiquant sa présence dans la zone de la forêt d'Iraty et en vallée d'Aspe. La méthode coefficient de variation indique que les 283 modèles sont en accord (Annexe 14). Les projections futures indiquent toutes une perte d'habitat quasi totale selon les couples scénario RCP 4.5 – horizon moyen (perte nette de -92,2%) et RCP 8.5 – horizons lointain (perte nette de -95,15%). Sous les scénarios RCP 4.5 – horizon lointain et RCP 8.5 – horizon moyen, la même perte d'habitat est projetée mais un gain d'habitat au sud-est du département est également projeté (+43,3 % et +15,3%). Ce gain tamponne partiellement la perte ce qui aboutit à une perte nette de -55,5 % et -81,8 %. Sous les scénario RCP 2.6 et scénario 4.5 à l'horizon proche, les pertes sont minimales (34,4 % et 36,6%) et les gains relativement « importants » (28,7 % et 24,6%), notamment entre les deux patchs existants et au sud du département. Ces deux couples scénario-horizon sont les plus favorables. Enfin, les couples RCP 2.6 – horizon moyen, RCP 2.6 – horizon lointain et RCP 8.5 – horizon proche sont intermédiaires à ces deux « extrêmes » (Fig. 164, Fig. 165, Annexe 34).

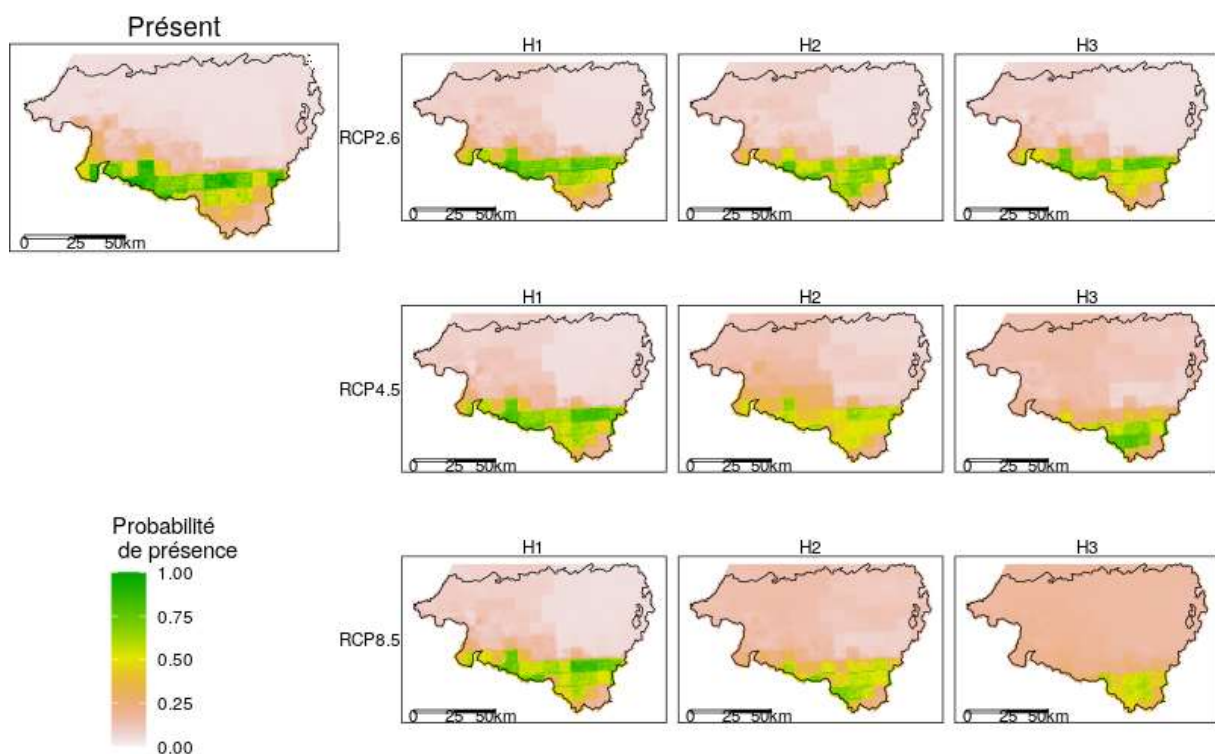


Fig. 164. Projection de la répartition de la Grenouille des Pyrénées en Pyrénées-Atlantiques selon la méthode moyenne pondérée, pour la période « passé-présent » et les horizons 2050, 2070 et 2100 sous différents scénarios de changement climatique.



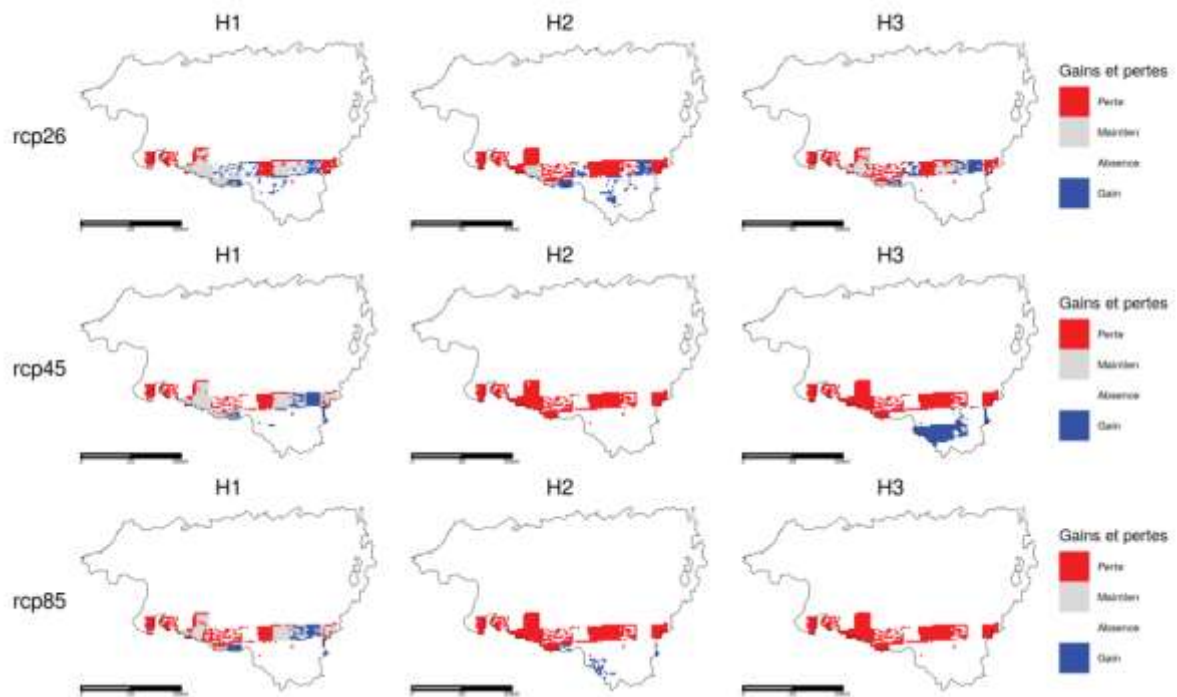


Fig. 165. Changements de la répartition de la Grenouille des Pyrénées en Pyrénées-Atlantiques selon la méthode d'ensemble moyenne pondérée. Pourcentages de perte, de gain et de changement total selon les scénarios RCP 2.6, 4.5 et 8.5 aux horizons proche, moyen et lointain.



## 8.4 Discussion

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 le site historique de Leccumberry. Sur le site de Larrau, après deux années 2019 et 2020 sans reproduction, quelques têtards ont pu être dénombrés en 2021, attestant d'un retard des adultes. Le site d'Esterençuby maintient des effectifs à des niveaux importants, les plus élevés observés en France, mais les variations peuvent être importantes d'une année à l'autre. En vallée d'Aspe, le constat semble meilleur, avec des effectifs qui semblent se maintenir à un bon niveau d'année en année.

Pour la première fois, en déployant des expériences inédites d'écophysiologie *in situ*, la température optimale d'activité des têtards a pu être estimée dans une gamme comprise entre 13,1°C et 14,3°C. Cette gamme d'activités –autour de laquelle la performance thermique des têtards est supposée être la meilleure– a été confrontée aux conditions microclimatiques réelles telles qu'elles ont pu être mesurées, ici encore pour la première fois, de façon statistique sur 4 cycles de vie annuels complets (entre 2017 et 2021). Un important paradoxe a ainsi été révélé : les têtards de *Rana pyrenaica* sont des généralistes (d'un point de vue thermique) avec une largeur de performance écophysiologique très importante au vu de la gamme de température du milieu mais leur développement au stade de têtards s'effectue dans des eaux bien plus froides que les analyses écophysiologiques et comportementales l'indiqueraient *a priori*. En effet, les températures moyennes de l'eau au printemps restent inférieures à la température optimale estimée pour les têtards ce qui représente une possible marge adaptative de sécurité des populations face au changement climatique. Cette hypothèse est toutefois à nuancer selon les sites : les températures de la rivière en vallée d'Aspe, comparées à celles du massif d'Iraty, sont toujours supérieures à 1°C et dépassent 2°C pendant la période de développement des têtards (2,07 °C en avril 2020 ; 2,11 °C en avril 2021 ; 2,16 °C en juin 2021). Sans ambiguïté aucune, la marge thermique est donc plus importante à haute altitude ce qui confère, *de facto*, une plus grande vulnérabilité de la population de basse altitude en vallée d'Aspe.

Par ailleurs, le risque de déshydratation des grenouilles adultes a pu être quantifié de façon expérimentale *in situ*. Compte tenu de la très grande vulnérabilité de l'espèce, et l'impossibilité d'étudier les individus en laboratoire, des suivis originaux avec des modèles biomimétiques en agarose (considérés comme des 'avatars' de véritable grenouille) ont été mis en place sur le terrain. Le déploiement dans des conditions choisies a permis d'étudier de façon inédite sur des cycles de 24h la déshydratation théorique des adultes de différentes tailles en fonction de variables microclimatiques, de la saison, de l'habitat et du comportement. La visualisation statistique des intervalles de confiance obtenus par rééchantillonnage de type bootstrap non paramétrique (qui permet de visualiser l'intervalle de confiance comme une distribution d'échantillonnage graduelle) complétée par les premières analyses par modèles additifs généralisés hiérarchiques permettent de dégager des tendances assez claires: les taux de déshydratation horaire seraient supérieurs chez les grenouilles de petite taille (type *Rana pyrenaica* comparé à des grenouilles plus grosses présentes aussi sur les sites étudiés, comme *Rana temporaria*) et le fait qu'elles soient exposées (actives) le jour par opposition à la nuit, dans des habitats de type ouvert ou fermé aurait des conséquences fortes. De façon évidente, la déshydratation serait supérieure chez les grenouilles actives pendant le jour, s'aventurant ou vivant en milieu ouvert. Le taux de déshydratation observé varie au cours du cycle nycthéral, 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 termes 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 nycthéral. 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 dans des habitats boisés ou modifie son comportement. De façon surprenante, la saison a un effet assez net : la déshydratation serait supérieure chez les grenouilles pendant l'hiver (qui correspond à la saison de reproduction). On pourrait donc s'attendre à ce que les effets des canicules hivernales (des canicules "précoces" en quelques sorte, un phénomène nouveau) soient par conséquent plus importants. Les résultats de l'analyse par modèles additifs généralisés hiérarchique (hGAM) confirment et affinent, en quantifiant les effets des facteurs de façon plus précise, les résultats des analyses de visualisation statistique de comparaison de moyennes et graphiques d'estimation avec intervalles de confiance. Dite en termes simples, la leçon est la suivante : sachant l'effet de la masse (les petites grenouilles se déshydrateraient plus vite), l'habitat, le comportement et le moment du cycle circadien *auraient* un effet sensible. En milieu ouvert, la déshydratation *serait* plus forte. Durant la nuit, la déshydratation *serait* moins importante. Pour des modèles protégés de grenouille (i.e. inactive en refuge), la déshydratation *serait* moins prononcée que des modèles exposés de grenouille (i.e. active).

Ces résultats souligneraient donc un peu plus l'importance de la diversité de l'environnement et notamment de l'importance de l'accès à un habitat boisé en matière de conservation et perspectives de gestion.

Sur le vaste territoire de la Nouvelle-Aquitaine, la Grenouille des Pyrénées subsiste en moins de 5 « noyaux » isolés les uns des autres et constitués actuellement d'une mosaïque de tâches d'habitats (ouverts et fermés) caractérisés par des gradients marqués en termes de thermie. Comme l'indiquent les suivis naturalistes et les expériences d'écophysiologie *in situ* relatées plus haut dans ce rapport, la thermie des eaux est un élément crucial conditionnant la survie locale des populations : si les têtards se développent à une température plus froide que leur optimum thermique estimée (constituant en cela une marge de manœuvre possible face au réchauffement des masses d'eau superficielles dont elles dépendent, surtout dans le massif d'Irati situé à plus haute altitude), la survie des adultes telle qu'elle peut être appréhendée au travers d'expériences indirectes de mesure de taux de déshydratation (un risque léthal s'il est exacerbé par le changement climatique) serait conditionnée par le maintien d'une diversité d'habitats offrant la part belle aux surfaces boisées et d'une connectivité maximale entre tâches d'habitats.

Sur la base (indicative seulement !) des modélisations corrélatives établies à partir de la niche thermique estimée des adultes (elle-même établie à partir d'informations lacunaires basées sur la répartition actuelle, limitée en Nouvelle-Aquitaine à 5 sites) les projections pour le futur font état d'une diminution aggravée de la répartition (MALLARD, 2020). Pour les couples scénarios-horizons les plus favorables (RCP 2.6 – horizon proche, moyen et lointain, RCP 4.5 et RCP 8.5 horizon proche), les modélisations futures suggèrent un gain d'habitat de 19,7 à 36,1% entre les deux patchs et pour certains une colonisation vers le sud des Pyrénées., Ce résultat semble contre-intuitif de prime abord, puisque les répartitions des espèces sont supposées se déplacer plutôt vers le nord. Cependant, comme indiqué par Enriquez-Urzelai *et al.* (2019) ce ne semble pas être le cas pour la Péninsule ibérique, et un déplacement vers le sud doit être interprété comme un déplacement vers les sommets, ce qui est cohérent avec les observations pour les autres amphibiens de la Péninsule ibérique. Ce gain ne compense pas la perte observée sur ces mêmes scénarios, estimée entre 34,5 et 77,1% ; le bilan net du changement d'aire de répartition reste négatif. Pour le scénario le plus pessimiste (RCP 8.5), ce bilan net atteint -95,2 % et suggère la quasi extinction de l'espèce en 2100 en Nouvelle-Aquitaine. Le mouvement modélisé de populations pour la Grenouille des Pyrénées en tant que conséquence directe du changement climatique, serait à nuancer (ou à explorer par modélisation impliquant adaptation et

interactions interspécifiques) car il paraît de façon intrigante moindre sur l'horizon moyen du scénario RCP 4.5 et lointain du scénarios RCP4.5 et RCP8.5 que sur les autres couples scénario–horizon.

Toutefois, il importe de rappeler que l'interprétation des sorties des modèles corrélatifs doit toujours se faire avec prudence car il y a de nombreuses sources d'incertitude – variables climatiques, techniques de modélisation, seuils permettant le passage de la probabilité de présence à la binarité présence-absence (THUILLER, 2003 ; THUILLER *et al.*, 2009). Il faut considérer que ces sorties de modèles restent des hypothèses probables mais en aucun cas une vérité en soi (HARRIS *et al.*, 2013 ; JARNEVICH *et al.*, 2015). Cette modélisation ne prend pas en compte les éventuels processus d'adaptation qui pourraient permettre la persistance des populations ni les processus importants de dispersion des individus. L'influence des interactions entre espèces (parasites, proies, prédateurs, compétiteurs) ne sont également pas pris en compte. Les aspects liés à la transférabilité aussi sont aussi importants à considérer (ZANINI *et al.*, 2009 ; WERKOWSKA *et al.*, 2016 ; MANZOOR *et al.*, 2018).

Certains traits de vie des amphibiens, comme la diversité du cycle de vie (avec stades œufs, larves et adultes occupant des micro-habitats différents) et l'étendue du cycle nyctéméral (activité nocturne importante, contrairement aux lézards), ne sont pas pris en compte dans la modélisation non plus. Un trait de vie caractéristique de la Grenouille des Pyrénées, à savoir l'utilisation stricte du milieu torrenticole au moment de sa reproduction, n'est pas intégré dans la modélisation car aucune des trois variables d'habitat renseignant la présence d'eau ou de zones humides n'a été retenue dans l'analyse pour les raisons discutées plus haut. Des questions restent d'ailleurs en suspens quant à la pertinence de certaines variables : l'humidité du milieu est-elle bien reflétée par l'indice d'aridité, les chutes de neiges et l'humidité relative qui font partie des quatre variables les plus importantes dans la modélisation (pour mémoire elles contribuent respectivement à 30,9 %, 22,3 % et 9,5 %). Les difficultés de modélisation de la répartition d'espèces d'amphibiens spécialisées, dans des habitats rares et éphémères, ont été rapportées récemment par Filer *et al.* (2020), et le challenge est encore plus grand quand l'espèce est endémique, comme l'est la Grenouille des Pyrénées. En outre, le faible nombre d'observations et la résolution de 1 km<sup>2</sup> ne facilitent pas l'interprétation des résultats ; il pourrait être pertinent de réaliser ces cartes à la résolution de 100 mètres sur les Pyrénées-Atlantiques uniquement, ce qui permettrait de conserver toute la variabilité de l'habitat (HEIKKINEN *et al.*, 2006 ; KRITICOS & LERICHE, 2010) et d'identifier peut-être des liens plus forts entre la présence et les variables explicatives, notamment d'habitat. En termes de modélisation avancée, sur un autre plan, il faut explorer aussi l'intégration des données issues des sciences citoyennes pour conduire à une meilleure utilisation des modèles hybrides dans les processus de décision pour la conservation de la nature comme le proposent Matutini *et al.* (2021).

Cependant, le changement climatique n'est pas le seul forçage impactant le maintien de « micro-populations ». Les éléments empiriques obtenus à partir du suivi naturaliste indiquent que d'autres facteurs pourraient être à l'œuvre comme la compétition (voire l'exclusion compétitive) avec des espèces invasives, la survenue d'évènements extrêmes hydrauliques (par exemple les crues et l'aggravation de l'intermittence de l'écoulement) et le piétinement engendré par les activités de loisirs (canyoning notamment).

À l'échelle des « noyaux » de présence connus, plusieurs d'entre eux font face à un ensemble de menaces et de pressions aggravantes alors que certaines semblent plus préservées. Les deux « noyaux » de basse altitude en vallée d'Aspe (Aspe Est et Aspe Ouest) sont les plus vulnérables si l'on considère le facteur thermique uniquement car les têtards s'y développent à des températures plus proches de leur optimum, ce qui de facto réduit la marge de sécurité (encore large à plus haute altitude

dans le massif d'Irati). Toutefois, le « noyau » le plus à l'Ouest (Aspe Ouest) est facile d'accès et très fréquenté, notamment par les adeptes du canyoning, et il semble soumis à une augmentation de l'intensité et de la fréquence de l'intermittence de l'écoulement (non quantifié, et qui reste à évaluer dans le futur). Le « noyau Aspe Est » est plus éloigné du parking le plus proche, et difficile d'accès (uniquement par voie pédestre) ce qui lui conférerait, en apparence du moins, d'une meilleure protection. Dans le massif d'Irati, un « noyau » est quasiment vidé de sa population locale de *Rana pyrenaica*, alors qu'un autre est fortement impacté par des espèces invasives et qu'un autre est situé sur un site hautement fréquenté pour sa valeur paysagère et patrimoniale.

Les perspectives de conservation/gestion doivent prendre en compte le problème de l'isolement et une approche par bassin versant tenant compte des usages (professionnels et de loisirs). De même, l'importance du couvert forestier et d'une mosaïque paysagère permettant le déplacement des grenouilles adultes est une condition *sine qua non*.

En tenant compte de ces éléments, une première étape pourrait être la mise en protection totale (arrêtés de protection de biotope ?) du « noyau » le plus intact de la vallée d'Aspe.

## 8.5 Conclusion

L'influence négative des hivers chauds (durant lesquels apparaissent maintenant des « canicules » précoces « hivernales ») et des crues printanières semblent confirmer l'impact négatif du changement du climat sur les populations de Grenouille des Pyrénées, illustré par la baisse des effectifs observés sur certains sites. Les projections réalisées à partir des travaux de modélisation corrélative, qui reposent sur l'établissement de relations statistiques entre les répartitions actuelles des espèces et les variables climatiques pour projeter la répartition future d'une espèce dans le cadre d'un changement environnemental prévu, constituent un élément supplémentaire de l'impact négatif du changement climatique. Cet impact semble toutefois limité comparativement aux poids des menaces anthropiques qui pèsent sur l'espèce :

- Des pratiques forestières inadaptées peuvent avoir de lourdes conséquences sur certaines populations. À titre d'exemple, l'exploitation de la parcelle et le passage d'engins forestiers sur le site de Larrau a entraîné l'arrêt de la reproduction de l'espèce en 2019 et 2020. Les adultes ont probablement été tués ou ont déserté le site suite à l'exploitation. En 2021, l'espèce semble de retour avec à nouveau des têtards attestant d'une reproduction
- L'introduction massive de poissons (salmonidés à vocation piscicole) est sans aucun doute la cause majeure de disparition des populations de Grenouille des Pyrénées et des espèces associées (Calotriton des Pyrénées notamment). Toutes introductions piscicoles doivent aujourd'hui être impérativement stoppées dans les Pyrénées, sous peine de poursuivre l'extinction progressive des populations d'Amphibiens autochtones. Les deux sites présentant les densités les plus faibles de têtards de Grenouilles des Pyrénées sont les deux sites colonisés par la Truite et bénéficiant tous les ans de lâchers. Dans le même ordre d'idée, certaines actions du programme S.O.U.R.C.E, porté par la Fédération de Pêche des Pyrénées-Atlantiques et visant à instaurer « une dynamique de reconquêtes de ces petits cours d'eau » peuvent avoir à court terme des impacts très néfastes pour la faune autochtone des têtes de bassin, Grenouille des Pyrénées et Calotriton des Pyrénées en tête, en permettant l'accès à l'amont des ruisseaux aux poissons.

En Nouvelle-Aquitaine, la conservation de l'espèce est confrontée à un problème de taille : un isolement géographique en micropopulations fragmentées sans flux de gènes. Les travaux réalisés soulignent l'importance du couvert forestier comme « absorbeur » relatif du changement climatique (en contrôlant la thermie des eaux, en modérant certains extrêmes hydrauliques et en garantissant la diversité nécessaire pour les mécanismes thermohydrorégulateurs).

Face aux autres sources de déclin, il est recommandé la protection totale d'un site (Aspe Est) en vallée d'Aspe, un site déjà isolé et peu fréquenté, sans impacter trop les autres usages.