

**Un crapaud accoucheur et un triton palmé : deux espèces d'amphibiens aux capacités de dispersion semblables et aux mêmes besoins en termes d'habitats (migration reproductrice depuis les milieux terrestres vers un point d'eau) ... or cet article montre que l'effet des petites routes rurales est très différent pour ces deux espèces...**

Analyse de l'article « Rural road networks as barriers to gene flow for amphibians: Species-dependent mitigation by traffic calming »

Claudia GARCIA-GONZALEZ, Daniel CAMPO, Ivan POLA et Eva GARCIA-VAZQUEZ

Landscape and Urban Planning, 2012, 104 : 171-180

Lien : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169204611003008>

### **Intérêt de cet article pour la Trame Verte et Bleue :**

Cet article présente un exemple d'utilisation d'outils génétiques pour étudier le rôle fragmentant sur deux amphibiens (le crapaud accoucheur et le triton palmé) d'un réseau routier en zone rurale et l'effet compensateur de mesures de réduction du trafic.

L'identification des réseaux écologiques se fait souvent avec des espèces virtuelles, des espèces modèles ou des espèces parapluie. Or cette étude met en évidence les populations des deux espèces d'amphibiens malgré des besoins écologiques proches ne réagissent pas du tout de la même manière à la fragmentation par les petites routes rurales. Une prudence est donc nécessaire dans la généralisation des études menées sur une seule espèce.

De plus, ces petites routes (moins de 5 m de large) sont rarement prises en compte dans les études de connectivité en considérant qu'en raison de leur faible largeur et du faible trafic routier, elles sont peu impactantes. Or pour les batraciens elles peuvent avoir un effet majeur sur la mortalité (connu par les points d'écrasement qui peuvent être atténués par la mise en place de passages spécifiques sous la chaussée) mais l'article démontre ici l'effet barrière qui structure la génétique d'une population à l'échelle d'une petite région.

### **Définitions :**

Ralentissement du trafic (traffic calming) : regroupe tous les mesures visant à limiter la vitesse de circulation des véhicules sur une route : mesure physiques (chicanes, ralentisseurs...) ou limitation de vitesse.

La zone rurale de trafic apaisé (TCRA) est une réflexion spatiale à l'échelle d'une région visant à répartir différemment les flux de circulation en organisant des zones de limitation du trafic.

### **Synthèse de l'article :**

Le réseau routier constitue une cause principale de fragmentation des habitats pour de nombreuses espèces. Pour quelques espèces, la limitation de la mortalité sur les routes est une solution de gestion des populations. La construction de passages à faune limite la mortalité routière tout en augmentant la perméabilité de la route et la connectivité entre habitats. Le concept de zone rurale de trafic apaisé a été proposé pour limiter l'effet négatif du réseau routier dans le milieu rural. Ce concept consiste à concentrer les flux routiers sur des routes d'importance qui ont un effet de barrière (notamment par la largeur du bas-côté) au lieu d'avoir des flux diffus sur de petites routes rurales

L'efficacité de ces mesures a été jugée positive pour les mammifères en montrant que le ralentissement du trafic a fortement augmenté la persistance de quelques populations d'espèces dans de paysages fortement fragmentés par un réseau routier dense.

Les amphibiens sont particulièrement sensibles à la fragmentation de l'habitat du fait de leurs exigences écologiques nécessitant successivement des habitats aquatiques et des habitats terrestres et de capacités de dispersion faibles et de la fidélité aux sites de ponte (notamment pour les grenouilles et crapauds). La connectivité des habitats joue un rôle clé dans la viabilité à l'échelle régionale de



populations d'amphibiens. Pour les amphibiens, l'effet négatif des routes est au moins aussi important que celui dû à la déforestation.

L'article analyse en Espagne dans la région d'Oviedo, l'effet d'un réseau de routes secondaires et principales en milieu rural où le concept de zone rurale de trafic apaisé existe sur deux espèces d'amphibiens : le crapaud accoucheur (*Alytes obstetricans*) et le triton palmé (*Lissotriton helveticus*). L'outil génétique utilisé est la variation des gènes mitochondriaux. L'objectif est de déterminer si une barrière significative est associée à la densité du réseau routier et d'évaluer si la limitation de vitesse (traffic calming) limite la fragmentation des populations.

#### Matériels et méthodes :

- Zone d'étude et classification des routes

La zone d'étude est la vallée de la Trubia située au nord de l'Espagne dans les Asturies. Elle couvre une surface de 1200 km<sup>2</sup>.

La vallée de la Trubia est traversée par un réseau de routes rurales (datant de plus de 150 ans) dont une route principale pour le trafic apaisé près de la ville d'Oviedo (construite il y a 35 ans).

La largeur des routes est considérée comme indicateur de l'intensité du trafic routier et est divisée en 3 classes :

- Les routes secondaires : routes rurales à une voie, de moins de 5 m de large
- Les routes principales : à 2 voies, de 7 à 12 m de large
- Une route importante à trafic apaisé : elle traverse le nord de la vallée et contourne la ville d'Oviedo.

Le nombre de routes de chaque type est cartographié à l'échelle du 1/5000<sup>e</sup> entre les deux sites d'échantillonnage. Les routes traversées correspondent au nombre de routes entre les deux sites d'échantillonnage soit de manière non pondérée (chaque route a une valeur de 1) soit pondérée. La pondération est la suivantes : 1 pour les routes secondaires, 1,5 pour les routes principales et comme la route importante à trafic apaisé a pour objectif d'atténuer l'intensité du trafic sur les routes secondaires, les tronçons de route entre deux populations avec du trafic apaisé sont pondérées à 0,1.

- Echantillonnage

474 adultes et larves des deux espèces ont été collectés entre octobre 2007 et juillet 2008 (275 tritons palmés et 199 crapauds accoucheurs) dans 9 points d'eau (abreuvoirs et mares) de la vallée de la Trubia. Un prélèvement de tissu est fait avant de relâcher les individus.

- Analyse de l'ADN et édition de la séquence

Après extraction totale de l'ADN, une séquence partielle de deux gènes mitochondriaux est utilisée pour l'analyse génétique. Ces fragments font l'objet d'une amplification PCR et d'un séquençage par fluorescence. Toutes les séquences sont ensuite éditées et alignées pour permettre une lecture facile. Elles sont comparées avec celles qui existent dans la base de données GenBank.

- Diversité génétique de la population

Deux tests sont utilisés pour évaluer si la fréquence observée des mutations est compatible avec la fréquence attendue sous une hypothèse neutre (sans autre effet que le hasard).

Pour détecter si les populations ont subi une augmentation démographique, nous avons comparé la fréquence observée des différences de séquence par paires (distribution de décalage) à la distribution attendue dans un modèle d'expansion.

En ce qui concerne l'analyse de la variance moléculaire, 3 niveaux sont utilisés pour tester sa distribution hiérarchique : dans la population, entre populations et entre groupes de population, Cette analyse permet de déterminer comment la variation génétique totale est distribuée entre les groupes de population et pour évaluer la signification statistique d'une structure génétique définie a priori. Les différents groupes de population sont testés en fonction de leur situation géographique dans la vallée pour trouver un regroupement significatif des populations.

Un test de Mantel a été effectué pour tester l'isolement par la distance en estimant la corrélation entre la matrice des distances géographiques (distance minimale entre populations exprimée en km) et la matrice de la distance génétique.

- Identification des barrières spatiales génétiques

Les discontinuités génétiques spatiales sont identifiées et quantifiées. Les barrières peuvent être composées de plus d'un segment. Le logiciel utilisé (BARRIER) affecte une valeur de distance pour chaque segment significatif correspondant à la distance génétique entre paires de populations. La corrélation entre ces distances génétiques et la densité des routes (version pondérée et non pondérée) est calculée en testant sa signification. Le même calcul est effectué pour tester la corrélation entre la distance génétique identifiée par BARRIER et la distance géographique ((à vol d'oiseau) entre les localisations des paires de populations.

### Résultats :

L'analyse du jeu de données génétiques a mis en évidence 10 groupes d'allèles différents pour le crapaud accoucheur et 15 groupes d'allèles<sup>1</sup> différents pour le triton palmé. Certains de ces groupes d'allèles sont présents dans plusieurs populations. Un groupe n'est trouvé que chez un seul individu de crapaud accoucheur et 6 groupes ne sont trouvés que chez un seul individu de triton palmé.

La diversité des groupes d'allèles varie fortement selon les populations étudiées. Quelques populations sont mono-morphiques (un seul groupe d'allèles présent chez tous les individus de la population).

Des signaux significatifs d'expansion démographique ont été trouvés pour les populations des sites d'Oviedo et de Santo Adriano pour le triton mais aucun pour les populations de crapaud.

Les représentations de réseaux des groupes d'allèles sont différentes pour chaque espèce.

La forme du réseau pour le crapaud met en évidence 3 groupes d'allèles fortement représentés et quelques variants séparés par une ou plusieurs étapes de mutation. La distribution des groupes d'allèles présents dans plus de 2 populations ne suit pas un patron géographique.

Le réseau des groupes d'allèles du triton est en forme d'étoile où le centre est le groupe d'allèles le plus fréquent avec autour des groupes d'allèles présents dans de populations voire chez un seul individu et ces allèles ne sont séparés que par une étape de mutation.

Pour les deux espèces, aucune corrélation significative n'est trouvée entre la distance génétique et la distance géographique. Ceci veut dire que ces espèces ne suivent pas une structure de population en lien avec l'isolement par la distance dans la région étudiée.

Pour le crapaud, le programme BARRIER identifie 7 barrières spatiales aux flux de gènes significatives dont quelques unes sont composées de plus d'un segment. Seules deux populations de crapaud ne sont pas séparées par des barrières.

Pour le triton, 4 barrières principales sont trouvées

Ces barrières sont représentées sur un schéma du paysage localisant les populations étudiées.

Pour le crapaud, l'intensité de la barrière entre couple de populations mesurée par la distance génétique estimée, est significativement associée avec la densité des routes non pondérée et elle est notamment fortement corrélée avec le nombre de routes rurales secondaires. Ceci indique que toutes les routes quelque soit leur taille constituent pour cette espèce des obstacles aux flux de gènes de même intensité. Par contre aucune association significative n'est trouvée avec la densité des routes pondérée. Donc pour le crapaud accoucheur, le trafic apaisé sur la route principale ne peut pas compenser la fragmentation par les petites routes rurales.

Pour le triton palmé, une corrélation fortement significative est trouvée uniquement entre la distance génétique et la densité de routes pondérée. Ceci indique que toutes les routes n'ont pas la même valeur de barrière et que le trafic apaisé sur la route principale peut compenser la fragmentation par les petites routes rurales.

Pour les deux espèces aucune corrélation n'est trouvée entre la distance génétique et la distance géographique. La distance géographique entre sites ne peut donc pas être le facteur important pour la différenciation génétique entre populations.

Pour le crapaud toutes les populations sont statistiquement différentes les unes des autres.

Pour le triton palmé, les 5 populations définies par le logiciel BARRIER sont statistiquement significatives et elles sont réunies par une proximité spatiale.

### Discussion :

Alors qu'il faut généralement étudier les microsatellites (à forte variabilité) pour travailler à ce type d'échelle spatiale, les résultats mis en évidence ici avec les gènes mitochondriaux sont sans doute dus à l'ancienneté

---

<sup>1</sup> Ou haplotypes.

de la fragmentation par les routes (plus de 150 ans pour les routes rurales) qui a permis la différenciation des populations. A la petite échelle régionale étudiée, la structure génétique des populations de crapaud est fortement impactée par les routes rurales y compris par les plus petites. Les populations semblent isolées avec très peu de connexions entre elles. Ceci est très différent des structures de populations prédites par la modélisation source-puits appliquées à un milieu non fragmenté. Le réseau rural secondaire (de très petites routes, moins de 5 m de large) est suffisant pour isoler les populations et l'impact des différents types de route est apparemment similaire.

Par contre, la fragmentation de l'habitat par les routes n'a pas du tout le même impact pour le triton palmé dans la région étudiée. Pour cette espèce, l'impact de la densité de routes peut être diminué par des mesures de trafic apaisé comme cela a déjà été montré pour des mammifères.

Des auteurs ont identifié les « déchirures entre habitats » (discontinuités induites par l'homme entre habitats nécessaires aux différents stades du cycle de l'espèce) comme causant des migrations nuptiales risquées entre habitats terrestres et aquatiques favorables. Cependant l'étude montre que pour deux amphibiens à faible capacité de dispersion dans le même paysage, l'effet des routes n'est pas du tout le même pour le crapaud accoucheur et le triton palmé.

La structure de populations du triton en forme d'étoile est considérée comme le signe d'une population en expansion récente. Cette espèce présente donc une croissance de sa population malgré l'urbanisation croissante de la zone depuis le siècle dernier.

Par contre, le crapaud ne présente qu'une seule zone où les populations sont en croissance (la zone d'Oviedo) ce qui est compatible avec la forte fragmentation de la zone rurale par le réseau de petites routes.

Les deux espèces ont une sensibilité différente à la fragmentation de leur habitat par les routes de ce fait les actions de compensation, si la conservation des amphibiens est une priorité, doivent être variées pour bénéficier aux deux espèces.

Le trafic apaisé, piste de compensation des impacts de la fragmentation routière sur les habitats d'amphibiens, sera efficace pour la conservation du triton palmé mais n'aura que peu d'effet sur le crapaud accoucheur qui est très sensible à la fragmentation induite même par les plus petites routes rurales. Pour le crapaud il sera nécessaire de construire des passages à batraciens (aussi nommés crapauducs ou passages à petite faune) sous les petites routes rurales afin de faciliter leur traversée et de connecter les populations isolées. Combiner des actions de restauration multiples est la meilleure stratégie pour compenser les impacts de la route et ceci sera aussi bénéfique autres espèces animales des milieux ruraux.

### **Commentaire :**

Malgré un manque de précision sur la méthode d'échantillonnage relatée, cette étude génétique en lien avec la densité des routes montre que deux espèces qui peuvent sembler proches par les besoins écologiques (deux amphibiens ayant besoin de milieu aquatique pour leur reproduction et de milieu terrestre pour le reste de leur cycle de vie) réagissent pourtant très différemment à la fragmentation de leur habitat par le réseau de routes.

Les passages à petite faune seront bénéfiques aux deux espèces étudiées (comme cela est suivi par exemple dans le passage du Grand Lemps en Isère où le passage est utilisé par 10 espèces d'amphibiens<sup>2</sup>).

Cette étude amène donc à être très prudents dans la généralisation de résultats obtenus sur une espèce. Elle montre de manière concrète l'intérêt d'études génétiques.

---

<sup>2</sup> Crapaud commun, Sonneur à ventre jaune, Grenouille rousse, Grenouille agile, Grenouilles vertes, Salamandre tachetée, Triton crêté, Triton alpestre, Triton ponctué, Triton palmé.