



Triton alpestre.



Salamandre tachetée.



Crapaud commun.

# Efficacité des écoducs sur la connectivité de populations d'amphibiens

Damien PICARD\*, Bernard GAUFFRE, Jérôme PRUNIER, Vivien POQUET, Claude LAGARDE, Nicolas RENAULT, Imane HARRACHE, Mialy RAKOTOZAFY, Guillaume DELAUNAY & Stéphane SOURICE

## Résumé

Dans le contexte actuel d'une crise majeure de la biodiversité, il est essentiel de comprendre l'impact de la fragmentation du paysage sur les populations d'amphibiens et notamment l'impact des structures autoroutières et ferroviaires. L'utilisation de l'outil moléculaire a déjà permis de mettre en évidence un effet barrière important des autoroutes sur la dispersion de nombreux amphibiens. Cependant, aucune étude n'a permis de tester l'efficacité des corridors (structures transversales aux autoroutes ou voies ferrées tels que des ponts, buses...) sur la connectivité des populations. Dans cette étude, différents scénarios de fragmentation du paysage vont être appréhendés avec des populations de crapauds communs et de salamandres. L'échantillonnage suivra un schéma spécifique pour comprendre l'impact de barrières géographiques linéaires (autoroutes et voies ferroviaires) et des corridors sur la connectivité des populations d'amphibiens. Les résultats préliminaires obtenus apportent des éléments de réponse à cette question. En effet, l'impact des corridors s'avère très différent suivant le type considéré. Dans notre étude, le pont végétalisé et une buse relativement isolée de petit diamètre (40 cm) sont inefficaces pour rétablir la connectivité de populations isolées par une autoroute, alors qu'une buse à large diamètre (1m50) où coule une petite rivière s'est quant à elle avérée efficace. Un autre résultat étonnant est l'absence de structure génétique observée autour d'une voie ferrée. Cette élément linéaire du paysage ne fragmenterait les populations des deux espèces étudiées. Il sera nécessaire de multiplier les cas particuliers pour mieux caractériser l'effet des différents types de corridors sur la dispersion des organismes.

Mots-clés : dispersion, génétique des populations, fragmentation du paysage, autoroute, voie ferrée, connectivité.

\* Université d'Angers - GECCO Groupe Écologie et Conservation des Vertébrés - damien.picard@univ-angers.fr

## Introduction

Les routes et autres axes de communications sont très répandus dans la plupart des paysages dans les pays industrialisés. TROMBULAK & FRISSELL (2000) ont recensé les effets des routes, sur le plan écologique, et ont conclu à des effets néfastes tant sur les écosystèmes terrestres qu'aquatiques. Sept principaux effets ont pu être identifiés quel que soit le type de route étudié : la mortalité due à la construction, celle due à la collision avec les véhicules, une modification du comportement animal, l'altération de l'environnement physico-chimique, la diminution de la dispersion, le transport d'espèces allochtones et une hausse de la surface mobilisée par l'homme. L'impact le plus fort des routes est la mortalité (FAHRIG *et al.*, 1995 ; MAZEROLLE *et al.*, 2005 ; ELZANOWSKI *et al.*, 2009). La collision avec les véhicules affecte directement la démographie de nombreuses espèces ; pour l'heure les mesures prises en vue de réduire ce phénomène n'ont été que partiellement efficaces. La modification du comportement de dispersion a aussi un très fort impact (BALKENHOL & WAITS 2009 ; SIMMONS *et al.*, 2010). Le réseau routier limite de façon drastique la dispersion de nombreuses espèces et paradoxalement peut permettre la dispersion de certaines espèces le long des bords de route en générant un effet corridor (VERMEULEN 1994). Toutes les espèces et écosystèmes ne sont pas affectés pareillement, mais la présence des routes est hautement corrélée aux changements de composition des espèces, de taille des populations, et aux processus hydrologiques et géologiques qui façonnent les systèmes aquatiques et riverains (TROMBULAK & FRISSELL 2000). La plupart des espèces d'amphibiens sont supposées être affectées par la proximité des routes du fait de leur cycle annuel qui nécessite une migration entre habitats ayant des propriétés écologiques différentes (WILBUR 1980). Au-delà des déterminants immédiats (ou agents extrinsèques) qui vont influencer la dispersion au cours de ses différentes étapes (i.e. la densité, la structure du paysage, une perturbation, etc), la dispersion en tant que comportement, est soumise à des pressions de sélection. Il existe quatre familles de facteurs qui agissent sur l'évolution de la dispersion : l'instabilité de l'habitat, l'évitement de la consanguinité, les interactions entre apparentés et les risques liés à la dispersion (JOHNSON & GAINES 1990 ; GANDON & MICHALAKIS 2001 ; IMS & HJERMANN 2001). La dispersion est un trait d'histoire de vie qui joue un rôle majeur dans le fonctionnement des populations naturelles. Comprendre ce phénomène et son évolution est aujourd'hui

déterminant pour la gestion des populations et leur préservation dans des écosystèmes de plus en plus anthropisés.

Les études concernant l'effet des routes sur le fonctionnement génétique des populations ont été réalisées suivant deux types d'approches. La première consiste à estimer les différenciations génétiques par paires de populations sur une large région et de tenter de corréliser les distances génétiques avec différentes mesures estimant l'isolement géographique. Les études portant sur deux scarabées du sol *Carobus violaceous* et *Abax parallelepipedus* (KELLER & LARGIADÈR 2003 ; KELLER *et al.*, 2004), une espèce de mouflon *Ovis canadensis nelsoni* (EPPS *et al.*, 2005), le chevreuil *Capreolus capreolus* (COULON *et al.*, 2006), le cerf élaphe *Cervus elaphus* (PÉREZ-ESPONA *et al.*, 2008), la grenouille rousse *Rana temporaria* (REH & SEITZ 1990 ; HITCHINGS & BEEBEE 1997), la grenouille des champs *Rana arvalis* (VOS *et al.*, 2001) et la grenouille agile *Rana dalmatina* (LESBARRÈRES *et al.*, 2006) ont tous montré qu'il y a une meilleure correspondance entre les distances génétiques et les mesures d'isolement incluant l'effet de la route que celles ne considérant que la distance géographique. La seconde approche consiste à capturer des animaux de part et d'autre d'une route et d'utiliser des mesures de distances génétiques ou des méthodes d'assignation pour comparer des individus ou des groupes d'individus séparés ou non par la route. Cette approche a pour avantage d'appréhender l'effet d'isolement d'une route donnée et a permis de montrer l'effet des autoroutes sur le flux de gène de plusieurs espèces telles que le campagnol roussâtre *Clethrionomys glareolus* (GERLACH & MUSOLF 2000), le lynx roux *Lynx rufus*, le coyote *Canis latrans* (RILEY *et al.*, 2006), la salamandre rayée *Plethodon cinereus* (MARSH *et al.*, 2007) et la salamandre maculée *Ambystoma maculatum* (PURRENHAGE *et al.*, 2009).

La connectivité des habitats est un élément clé de la viabilité régionale des populations d'amphibiens (MARSH & TRENHAM 2001 ; ROTHERMEL & SEMLITSCH 2002). La faible dispersion des individus joue probablement un rôle majeur sur le déclin et l'extinction des populations d'amphibiens dans des paysages fragmentés (VOS & CHARDON 1998 ; BULGER *et al.*, 2003). Ainsi, la dispersion est cruciale pour la recolonisation des populations locales et le maintien de populations régionales (HECNAR & M'CLOSKEY 1996 ; SEMLITSCH 2008). Les amphibiens sont un excellent modèle pour une analyse de génétique du paysage en raison des caractéristiques de leur cycle de vie. Tout d'abord, la plupart des amphibiens sont biphasiques, avec une phase larvaire aquatique et une phase adulte terrestre ce qui leur impose des migrations annuelles pour rejoindre leurs différents milieux de vie (DUELLMAN & TRUEB 1994). Ce groupe d'organisme peut montrer des différenciations génétiques élevées sur des courtes périodes et distances géographiques (MARSH *et al.*, 2007 ; PURRENHAGE *et al.*, 2009). Plusieurs études menées sur les anoues (FUNK *et al.*, 2005 ; JOHANSSON *et al.*, 2005 ; STEVENS *et al.*, 2006) et les urodèles (SPEAR *et al.*, 2005 ; MARSH *et al.*, 2005) ont montré un fort impact du paysage sur la répartition de leurs diversités génétiques. Les amphibiens en général présentent une relativement faible capacité de dispersion dans les paysages fragmentés ce qui conduit à un appauvrissement génétique au sein des populations (BEEBEE 2005 ; JOHANSSON *et al.*, 2005 ; LESBARRÈRES *et al.*, 2006).

La dispersion est un trait d'histoire de vie qui joue un rôle majeur dans le fonctionnement des populations. Les populations, qu'elles soient subdivisées ou non, sont des systèmes spatialisés à l'intérieur desquels la dispersion constitue un ciment cohésif. Comprendre ce phénomène et son évolution est aujourd'hui déterminant pour la gestion des populations. Différents scénarios de fragmentation du paysage à partir de 3 modèles biologiques d'amphibiens (le crapaud commun, la salamandre tachetée et le triton alpestre) vont être appréhendés. Pour ceci diverses méthodes d'analyses de la répartition de la diversité génétique estimée à partir de données microsatellites vont être utilisées. Les approches individus-centrées de « clustering » pour lesquelles il n'y a aucun a priori sur l'organisation spatiale des individus seront privilégiées. Ces approches nous permettront d'estimer les patrons de distribution spatiale de la variabilité génétique dans des habitats le plus homogènes possibles (milieu forestier) fragmentés essentiellement par des autoroutes. La compréhension de l'impact de ces barrières géographiques sur la connectivité des populations d'un amphibien nous permettra d'évaluer l'efficacité de la restauration du flux génétique lorsqu'une structure transversale (aménagements de type buse, pont) sera présente.



# Matériels et méthodes

## Sites d'étude et échantillonnage

L'étude a été réalisée dans les forêts domaniales de Notre Dame, de Ferrières-Armainvilliers et de Coubert qui se situe au sud-est de Paris dans les départements du Val-de-Marne (94) et de la Seine-et-Marne (77) (figure 1). Elles constituent l'un des plus importants massifs forestiers de la couronne parisienne. Sa superficie est de 3754 hectares. Cette forêt est traversée d'allées, de chemins aménagés pour les piétons et les cyclistes ainsi que par des voies ferrées (ligne RER et ligne TGV) et de deux doubles voies à très forte circulation. La forêt est coupée suivant un axe nord-sud par le N104 (francilienne) et un axe est-ouest par la N4. La N4 existe en deux voies depuis 1961 où elle était l'axe majeur reliant Paris à l'Allemagne. En 1972, cette route passe en 2 fois 2 voies. En 1981, la N4 est rénovée et devient plus large avec une glissière de 1 mètre de hauteur en béton armé séparant les 2 fois 2 voies (Annexe I, c). Il n'existe aucune structure transversale à la N4 séparant les sites 2 et 3. Cette portion servira de référence car elle constitue une barrière à la dispersion a priori la plus importante. Entre les sites 7 et 8, la N4 est traversé par le Ru le Réveillon via une buse de 1 mètre 50 de diamètre (Annexe I, f). La N104 est construite en 1977. Elle passe en voie rapide en 1990. Cette route, 2 fois 2 voies, constitue la 3<sup>e</sup> couronne de Paris. Elle est donc très fréquentée (105700 véhicules en trafic moyen journalier = 73,4 véhicules par minute). Il existe deux structures transversales à la N104, un pont végétalisé pour piéton datant de 1990 (Annexe I, a) et une buse de petit diamètre (40 cm ; Annexe I, b) reliant les sites 1 et 2. Entre le site 4 et 5, ainsi qu'entre le site 6 et 7, il y a une voie ferrée (actuellement le RER E) datant d'avant 1949. La voie ferrée est coupée par deux fois par un pont de route départementale entièrement bitumé (Annexe I, e). Au sud de la zone d'échantillonnage, il y a 3 voies ferrées de TGV qui forment le triangle de Coubert séparant en son centre le site 10, au nord le site 9, à l'ouest le site 11 et à l'est le 12. Le triangle de Coubert a été mis en service en 1994. Pour chaque section du triangle, il y a une ou deux buses présentant un diamètre supérieur à 1 mètre (Annexe I, g).

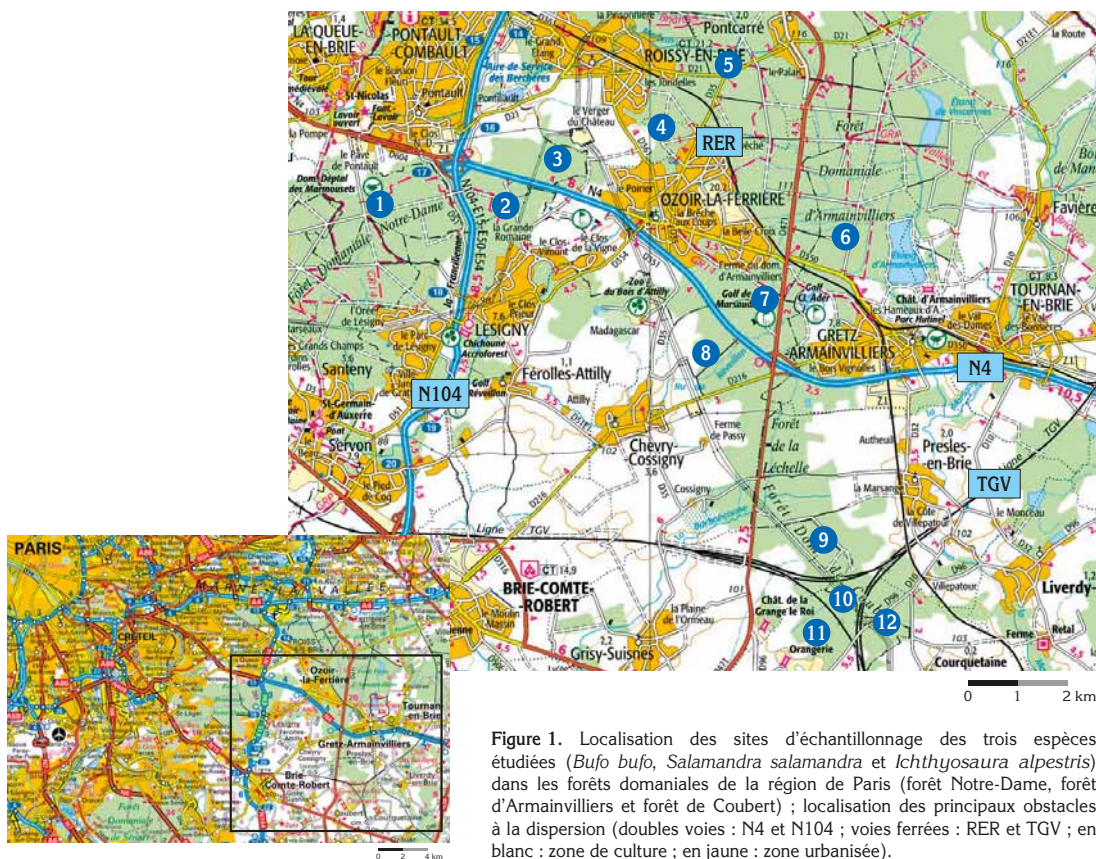


Figure 1. Localisation des sites d'échantillonnage des trois espèces étudiées (*Bufo bufo*, *Salamandra salamandra* et *Ichthyosaura alpestris*) dans les forêts domaniales de la région de Paris (forêt Notre-Dame, forêt d'Armainvilliers et forêt de Coubert) ; localisation des principaux obstacles à la dispersion (doubles voies : N4 et N104 ; voies ferrées : RER et TGV ; en blanc : zone de culture ; en jaune : zone urbanisée).

En plus, des voies rapides et des voies ferrées, il existe deux zones ouvertes sans arbres avec des cultures (entre les sites 3 et 4 ; entre les sites 2 et 8 ; Annexe I, d) et des zones urbanisées qui peuvent limiter ou bloquer la dispersion des amphibiens.

Trois espèces d'amphibiens ont été retenues principalement en fonction de l'existence de marqueurs moléculaires appropriés à cette étude et de leur abondance dans la zone d'étude : *Bufo bufo* (Crapaud commun), *Salamandra salamandra* (Salamandre tachetée), et *Ichthyosaura alpestris* (Triton alpestre). Deux campagnes d'échantillonnage ont été réalisées en 2009 (la première : fin février et début mars ; la deuxième : mi-avril) ; un prélèvement salivaire a été effectué sur les adultes tandis que des prélèvements tissulaires par ponction d'un morceau de queue ont été effectués sur les larves. D'après BROQUET *et al.*, (2006), l'écouvillonnage buccal chez les amphibiens s'est avéré être une approche très efficace, permettant une bonne récupération d'un ADN de qualité et conduisant à un très faible taux d'abandon (décrochage) allélique.

## Résultats

### Structure génétique

#### • Triton alpestre

En générale, les valeurs de  $F_{st}$  entre sites d'échantillonnages proches sont faibles (Annexe VI, a) ce qui indique un flux de gènes important à cette échelle. Et s'il y a une barrière à la dispersion entre deux sites voisins, cette barrière doit être récente. Aucune structuration génétique claire entre deux sites voisins n'est détectée pour le triton alpestre avec les analyses bayésiennes : Structure (quelles que soient les valeurs de  $K$  ; figure 2) et Geneland. Les quelques  $F_{st}$  notables et la faible structuration observée avec le logiciel Structure peuvent s'expliquer par un isolement par distance. En utilisant  $F_{st}/(1-F_{st})$  avec des tests de Mantel, une corrélation positive entre les distances génétiques et géographiques a été révélée pour les populations de triton alpestre ( $r = 0.779$  ;  $P < 0.0001$ ). Il est à noter que ces résultats ont été obtenus avec des loci microsatellites qui présentent pour la plupart une faible diversité génétique, deux loci présentent un déséquilibre de liaison et deux autres loci présentent des allèles nuls.

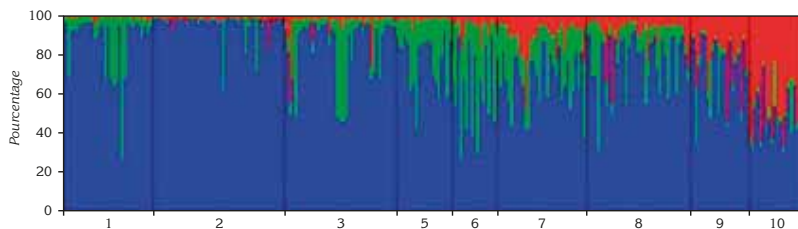
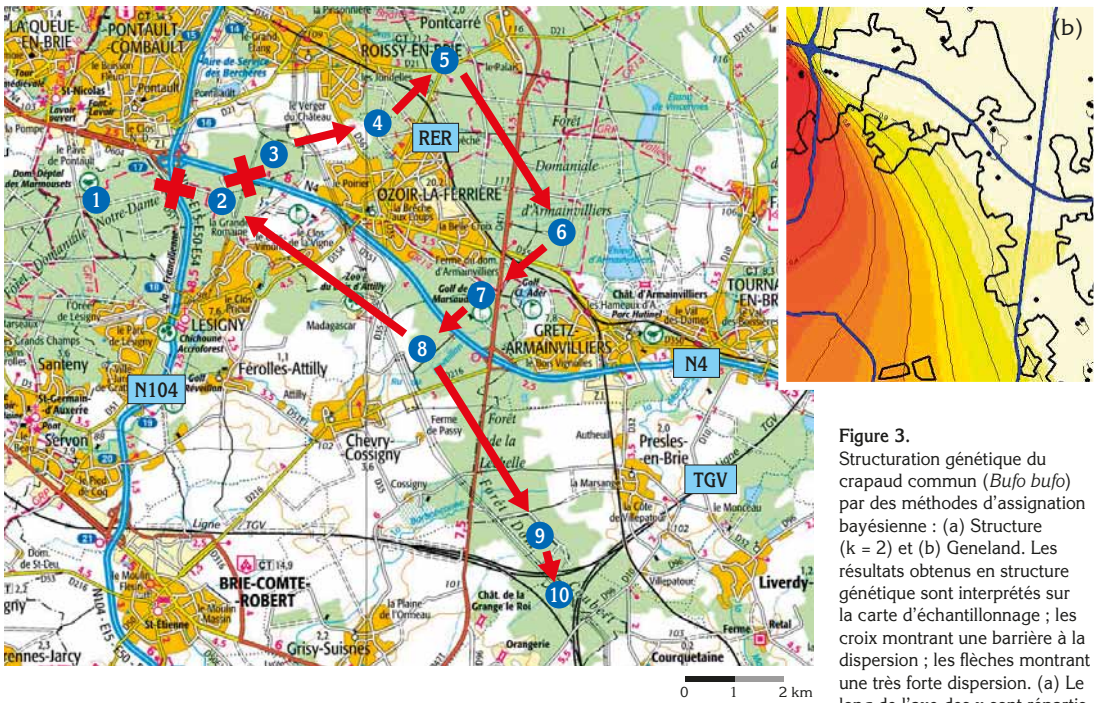


Figure 2. Assignment en 3 groupes génétique ( $k = 3$ ) des individus de Triton alpestre par analyse bayésienne effectuée avec Structure 2.2.3. Le long de l'axe des x sont répartis les individus échantillonnés dans les différents sites (10) ; les barres verticales noires délimitent chaque site. L'axe des y représente les probabilités d'assignation de chaque individu à un groupe génétique identifié par une couleur (bleu, rouge et vert).

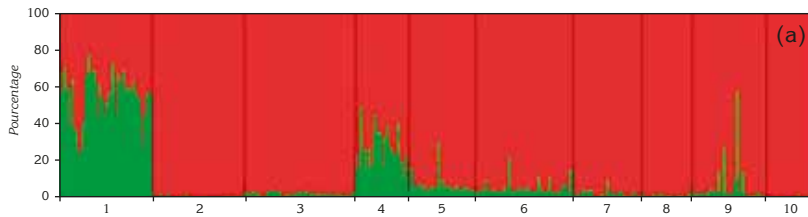
#### • Crapaud commun

En général, les valeurs de  $F_{st}$  entre sites d'échantillonnages proches sont faibles (Annexe VI, b) ce qui indique un flux de gènes important à cette échelle. Pour le crapaud commun, il y a une seule structuration génétique claire entre deux sites voisins (entre les sites 1 et 2) qui a été détectée avec les analyses bayésiennes : Structure et Geneland (figure 3). L'analyse de la structure génétique des crapauds communs a permis de détecter 2 grands groupes où les individus sont fortement assignés à leur groupe (pourcentage d'assignation à un groupe  $> 70\%$ ). Aucun isolement par la distance, en utilisant  $F_{st}/(1-F_{st})$  avec des tests de Mantel n'a été révélé pour le crapaud commun ( $r = 0.105$  ;  $P = 0.481$ ). Si l'on retire les individus du site 1 de l'analyse, il y a une absence de structure génétique et d'isolement par la distance, montrant ainsi une forte capacité de dispersion du crapaud commun à cette échelle géographique. Pourtant, la barrière à la dispersion entre les sites 2 et 3 (double voie avec une glissière en béton sans aucune structure transversale), nous apparaissait beaucoup plus importante que celle entre les sites 1 et 2. La présence du crapaud commun en milieu ouvert et dans les quartiers résidentiels laisse à penser que la proximité génétique entre les sites 2 et 3 serait due à une dispersion de proche en proche via les sites 3, 4, 5, 6, 7, 8 (figure 3). Cette hypothèse implique un effet corridor de la buse du Ru le Réveillon entre les sites 7 et 8. Il est à noter que des crapauds communs adultes ont été observés dans la buse lors de l'échantillonnage.





**Figure 3.** Structuration génétique du crapaud commun (*Bufo bufo*) par des méthodes d'assignation bayésienne : (a) Structure ( $k = 2$ ) et (b) Geneland. Les résultats obtenus en structure génétique sont interprétés sur la carte d'échantillonnage ; les croix montrant une barrière à la dispersion ; les flèches montrant une très forte dispersion. (a) Le long de l'axe des x sont répartis les individus échantillonnés dans les différents sites (10) ; les barres verticales noires délimitent chaque site. L'axe des y représente les probabilités d'assignation de chaque individu à un groupe génétique ( $k = 2$ ) identifié par une couleur (rouge et vert).



- **Salamandre tachetée**

En général, les valeurs de  $F_{st}$  entre sites d'échantillonnages proches sont faibles (Annexe VI, c) ce qui indique un flux de gènes important à cette échelle. Pour la salamandre tachetée, il y a plusieurs structurations génétiques claires entre deux sites voisins (entre les sites 1 et 2 ; 2 et 3 ; 3 et 4 ; 2 et 8) qui ont été détectées avec les analyses bayésiennes : Structure et Geneland (figure 4). Le logiciel Geneland met en évidence une barrière à la dispersion par les espaces ouverts et les milieux urbains. En effet, la structure génétique obtenue avec Geneland est localisée entre les sites 3 et 4 ainsi qu'entre les sites 8 et 2 (figure 4) qui sont les 2 uniques espaces caractérisés par des milieux ouverts dans la zone d'échantillonnage. L'analyse avec le logiciel Structure et Geneland met en évidence une structuration génétique liée aux espaces ouverts ainsi qu'une structuration génétique moins forte aux niveaux des deux doubles voies (N4 et N104). La moindre importance de la structuration génétique des doubles voies peut être liée à leur récente mise en place plutôt qu'à une barrière à la dispersion plus forte des espaces ouverts. Une absence de structure génétique entre les sites 7 et 8 serait liée à un effet corridor de la buse du Ru le Réveillon. En calculant le ' $F_{st}/(1-F_{st})$ ' et en utilisant des tests de Mantel, un isolement par la distance a été révélé pour la salamandre tachetée ( $r = 0.385$  ;  $P = 0.001$ ).

- **Voies ferrées**

Pour les trois espèces étudiées, aucune structuration génétique n'a été observée de part et d'autre des voies ferrées que ce soit pour les voies ferrées de TGV ou la voie ferrée très ancienne (construite en 1857) actuellement utilisée par le RER.

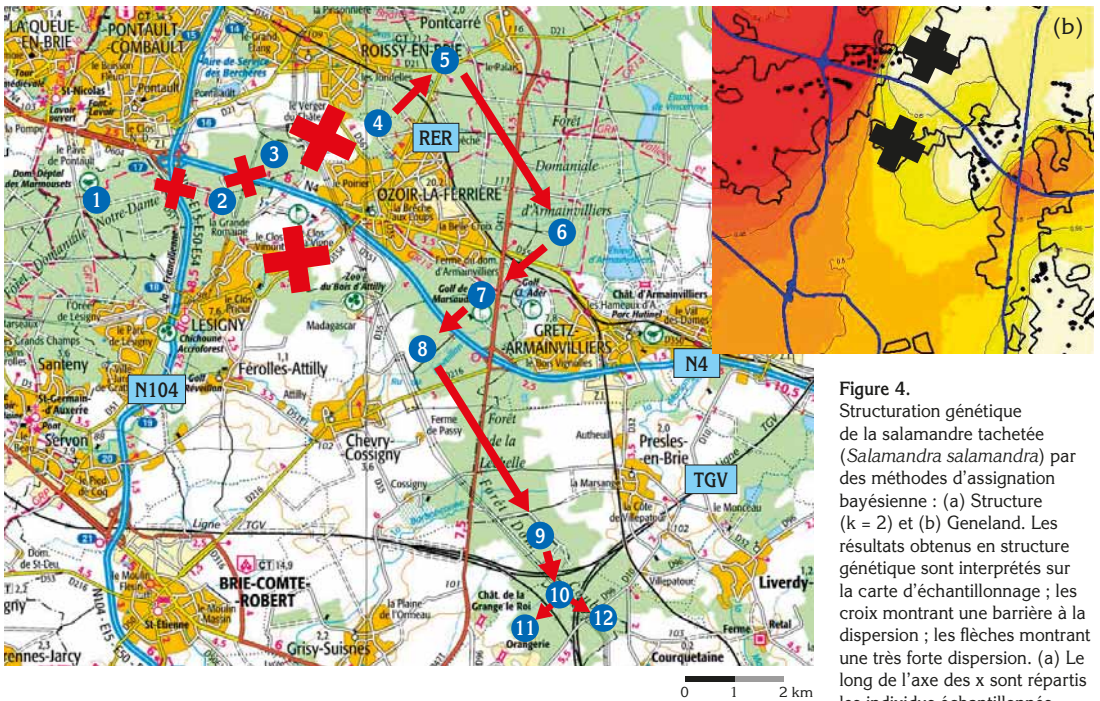
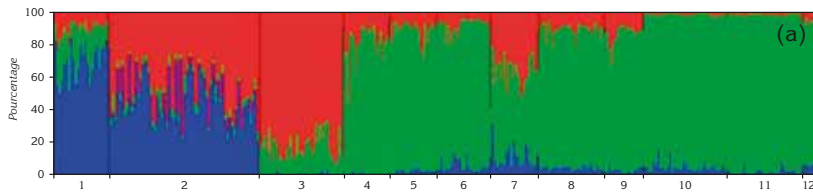


Figure 4. Structuration génétique de la salamandre tachetée (*Salamandra atra*) par des méthodes d'assignation bayésienne : (a) Structure ( $k = 2$ ) et (b) Geneland. Les résultats obtenus en structure génétique sont interprétés sur la carte d'échantillonnage ; les croix montrant une barrière à la dispersion ; les flèches montrant une très forte dispersion. (a) Le long de l'axe des x sont répartis les individus échantillonnés dans les différents sites (12) ; les barres verticales noires délimitent chaque site. L'axe des y représente les probabilités d'assignation de chaque individu à un groupe génétique ( $k = 2$ ) identifié par une couleur (bleu, rouge et vert). (b) Les croix noires représentent des barrières à la dispersion.



## Discussion

Dans les populations panmixtiques (les individus se reproduisent au hasard ; il n'y a pas de choix de partenaire sexuel particulier), les marqueurs génétiques neutres (tels que les microsatellites) sont attendus pour avoir ni un excès ni un déficit en hétérozygotes. Dans la présente étude, les populations étudiées sont en équilibre de Hardy-Weinberg mais certains loci microsatellites pour quelques populations ont montré des écarts significatifs par rapport à l'équilibre de Hardy Weinberg dans le sens d'un déficit et ceci pour les 3 espèces d'amphibiens étudiées. La présence d'allèles nuls explique ce déficit en hétérozygotes chez le triton alpestre pour 2 loci (Ta6 et 6C). Les autres loci montrent un déficit significatif en hétérozygotes qui ne se retrouve jamais sur l'ensemble des populations étudiées. Pour les 3 espèces, les déficits en hétérozygotes dans chaque population est observable uniquement sur un ou deux loci voire trois dans de rares cas. Ceci nous permet d'exclure la présence d'un effet Wahlund (écart à l'équilibre de Hardy Weinberg s'expliquant par une limitation de la dispersion des individus dans la population). Globalement, les 3 espèces étudiées peuvent être considérées à l'équilibre de Hardy Weinberg.

Nous avons constaté que les populations de crapauds communs ainsi que les populations de salamandres tachetées ont montré une faible structuration génétique ( $F_{st}$  global  $< 0.05$ ) avec un nombre d'allèles par locus important. Le triton alpestre se caractérise quant à lui avec une absence de structuration génétique entre les 9 sites étudiés et un faible nombre d'allèles par locus. Les analyses bayésiennes réalisées avec Structure et Geneland détectent une seule population pour le triton alpestre. Cependant, la présence d'allèle nul a conduit à l'élimination de deux loci dans le jeu de données. Il ne reste ainsi dans l'analyse que 6 loci présentant globalement une faible diversité génétique. Il est possible que le faible nombre de loci associé à une faible diversité génétique limite la possibilité de détecter une structuration génétique. Une autre hypothèse peut expliquer



l'absence de structure génétique. Cette absence peut être due à des tailles de populations efficaces importantes pour le triton alpestre liées à un effet barrière récent des autoroutes (une vingtaine d'années ; cf. Annexe VII pour plus d'explication). Il est donc actuellement difficile, pour cette espèce, de conclure quant à l'impact des infrastructures linéaires et de leurs structures transversales. Pour le crapaud commun et la salamandre tachetée, une structuration génétique a été détectée par des analyses bayésiennes au sein du paysage étudié (figures 3 et 4).

**Une structure transversale peut assurer l'échange des flux de gènes entre des populations isolées par une barrière.** La salamandre et le crapaud entre les sites 7 et 8 sont séparés par une double voie coupée par une buse à large diamètre où coule le Ru le Réveillon. Dans cette zone, aucune structure génétique n'a été détectée ce qui peut s'expliquer par la dispersion d'individus pour les deux espèces via cette buse. Pour pouvoir imputer l'absence de structuration génétique à la buse, un point de comparaison similaire avec une structure génétique est nécessaire. C'est le cas dans notre étude pour la salamandre et le crapaud commun. Pour la salamandre, une structure génétique a été détectée avec la même double voie (N4) entre les sites 2 et 3 et entre les sites 1 et 2 séparés par la N104. Pour le crapaud commun, une barrière génétique a été détectée entre les sites 1 et 2 séparés par la N104. Il faut toutefois noter qu'à la différence de la salamandre, aucune structuration génétique n'a été détectée pour le crapaud commun entre les sites 2 et 3. Vu que les doubles voies sans structure transversale représentent une barrière difficilement franchissable pour les amphibiens (REH & SEITZ 1990 ; HITCHINGS & BEEBEE 1997 ; VOS *et al.*, 2001 ; LESBARRÈRES *et al.*, 2006 ; MARSH *et al.*, 2007 ; PURRENHAGE *et al.*, 2009) et que la taille de la population efficace chez les amphibiens est relativement faible (JEHLE *et al.*, 2001 ; ROWE & BEEBEE 2004 ; BREDE & BEEBEE 2006 ; BROQUET *et al.*, 2009), nous nous attendions à observer une structure génétique pour les deux espèces entre les sites 2 et 3 (portion de la N4 où la structure génétique attendue devait être a priori la plus forte : (1) double voie la plus ancienne, (2) glissière en béton de 1 mètre séparant les voies et (3) absence de structure transversale ; cf. Annexe VII pour plus d'explication). L'absence de structure génétique entre les sites 2 et 3 pour le crapaud est d'autant plus étonnante qu'une structuration génétique entre les sites 1 et 2 a été détectée alors que la N104 (datant de 1990) est plus récente que N4 (datant de 1981 ; cf. Annexe VII). Il est peu vraisemblable que la N104 puisse limiter la dispersion du crapaud commun et non la N4 entre les sites 2 et 3. Pour expliquer cette apparente contradiction, regardons un autre résultat obtenu pour le crapaud commun. Cette espèce a une capacité de dispersion supérieure à l'échelle spatiale de notre étude (BREDE & BEEBEE 2004 ; MARTÍNEZ-SOLANO & GONZÁLEZ 2008), tant et si bien qu'aucune structure génétique en l'absence de double voie et aucun isolement par la distance n'est observable dans nos résultats. Par conséquent, la dispersion d'individus entre les sites 3 et 4, 4 et 5, 5 et 6, 6 et 7, 7 et 8 (via la buse du Ru le Réveillon) ainsi que 8 et 2 peut conduire à l'absence de structuration génétique entre les sites 2 et 3 (figure 3) ; et ceci en dépit d'une barrière à la dispersion infranchissable entre ces sites. Quant à la salamandre, pourquoi observe-t-on une structure génétique entre les sites 2 et 3 ? Il est à noter que la structure génétique la plus marquée pour la salamandre se situe au niveau des deux zones sans forêt. Ces zones étaient des surfaces cultivées depuis au moins 1949 d'après l'observation de photos aériennes. Sur les cartes de Cassini du XVIII<sup>e</sup> siècle, les deux zones étaient des secteurs sans forêt. La salamandre est inféodée au milieu forestier (SCHMIDT *et al.*, 2005). D'après nos résultats la capacité de dispersion de la salamandre apparaît affectée par les milieux ouverts. L'ancienneté de ces barrières est probablement la raison explicative de la différence du niveau de structuration génétique existant pour les zones sans forêt par rapport aux doubles voies (cf. Annexe VII). Dans tous les cas, la barrière effective des zones sans forêt conduit à ce que l'effet barrière de la N4 entre les sites 2 et 3 soit observable génétiquement pour la salamandre et non pour le crapaud commun. Pour conclure, une barrière à la dispersion par les doubles voies a été mise en évidence pour des amphibiens comme dans les études précédentes (REH & SEITZ 1990 ; HITCHINGS & BEEBEE 1997 ; VOS *et al.*, 2001 ; LESBARRÈRES *et al.*, 2006 ; MARSH *et al.*, 2007 ; PURRENHAGE *et al.*, 2009). Cet effet barrière peut être contrebalancé par la présence de structures transversales qui rétablissent la connectivité entre populations. Dans notre étude, la structure transversale est une buse à large diamètre dans laquelle coule une petite rivière (le Ru le Réveillon). Lors de l'échantillonnage, nous avons observé des individus de crapauds dans cette buse ce qui corrobore les résultats génétiques.



**Une structure transversale n'assure pas toujours l'échange des flux de gènes entre des populations isolées par une barrière.** Étonnamment, la N104 est apparue dans nos résultats comme une barrière pour le crapaud commun et pour la salamandre et ceci malgré la présence de deux structures transversales : un pont piéton végétalisé et une buse de petit diamètre (40 cm). Pourtant, des adultes des deux espèces ont été trouvés dans un rayon 200 à 300 mètres de part et d'autre du pont. De plus, de larges fossés forestiers en eau pendant la période d'échantillonnage arrivent à quelques dizaines de mètres du pont et la forêt arrive au pied du pont de chaque côté. Le fort trafic nocturne (3<sup>e</sup> couronne de Paris ; 105 700 véhicules en trafic moyen journalier = 73,4 véhicules par minute) entraîne un fort niveau sonore et une forte luminosité au niveau de ce pont. Il est possible que des aménagements du pont pour diminuer ces facteurs acoustiques et visuels rendent cette structure transversale plus perméable à la dispersion d'amphibiens. Quant à la buse, elle est déconnectée des réseaux denses de fossés de la forêt. La buse est directement reliée aux fossés bordant la N104. Il est donc difficile de savoir quels sont les facteurs qui limitent la dispersion de ces deux espèces. Parmi les facteurs caractérisant la buse de la N104 pouvant influencer la dispersion, nous pouvons lister (1) l'absence d'eau courante, (2) un diamètre réduit de la buse (3) le niveau de pollution de l'eau arrivant des fossés bordant la N104 (4) l'isolement de l'entrée de la buse par rapport au fossé de la forêt. Il apparaît que l'on ne peut pas relier directement la présence de structures transversales à la dispersion des amphibiens. Les caractéristiques des structures transversales et de leurs environnements apparaissent essentielles pour déterminer leurs efficacités à rétablir la connectivité entre les populations.

**La présence d'une voie ferrée est-elle une barrière à la dispersion comme une autoroute ?** FAHRIG *et al.*, (1995), MAZEROLLE *et al.*, (2005), ZANINI (2006) et ELZANOWSKI *et al.*, (2009) considèrent les voies ferrées comme des barrières infranchissables pour les amphibiens. Toutefois, il n'existe pas (ou non trouvé dans les banques de données bibliographiques) de travaux avec une approche moléculaire à propos de l'impact des voies ferrées sur la dispersion des amphibiens. Notre étude apparaît comme une première du genre. Étonnamment, aucune structuration génétique n'a été observée entre les sites séparés par des voies ferrées. L'ancienneté de la voie ferrée actuellement utilisée par la ligne RER E ne peut être mise en cause car la voie existe depuis 1857 (cf. Annexe VII). Le triangle de Coubert formant une jonction entre plusieurs lignes TGV est quant à lui plus récent. Cet ouvrage a été mis en fonctionnement peu de temps après le passage en voie rapide de la N104 (1990 pour la N104 et 1994 pour les lignes TGV). Pour le crapaud comme pour la salamandre, aucune structuration génétique n'a été détectée entre les sites séparés par des voies ferrées de TGV. En comparant les dates de mises en service de la N104 et du triangle de Coubert, il est difficile d'imputer l'absence de structuration génétique autour des lignes TGV à un temps trop court pour que les populations nouvellement isolées ne puissent se différencier génétiquement (cf. Annexe VII). Est-ce que cette absence de structure génétique est due à un effet barrière limité des voies ferrées du TGV sur le flux de gènes ou est-ce que la présence de buses à larges diamètres conduit à rétablir un flux de gènes interrompu par la ligne TGV ? Il est difficile de répondre à cette question sans aucun point de comparaison. Les caractéristiques d'un chemin de fer de TGV sont différentes de ceux d'un chemin de fer plus conventionnel comme celui du RER E. Il est ainsi difficile de conclure que l'absence de structure génétique autour des lignes TGV soit liée à la structure même de la voie (comme pour la ligne RER E) ou soit liée à la présence de structures transversales (comme la buse du Ru le Réveillon). Pour conclure, la connectivité entre les populations de crapaud commun et de salamandre ne semble pas affectée par la présence de voies ferrées conventionnelles et la question reste ouverte pour des voies ferrées plus imposantes telles que les lignes de TGV. Dans notre étude, la ligne TGV pourvue de buses ne constitue apparemment pas une barrière à la dispersion.

Les résultats obtenus et les hypothèses tirées de ce travail constituent une première approche en écologie moléculaire de l'impact de structures transversales sur la connectivité entre des populations isolées par des structures linéaires. A ce titre, aucune généralité n'a pu être mise en évidence. Quelques cas particuliers ont conduit à des premières conclusions. Nous avons notamment pu montrer que ce type d'étude était réalisable sur le terrain comme l'avait montré par des simulations JAQUIÉRY *et al.* (2011). La comparaison des résultats de deux taxons a permis une meilleure interprétation des faits observés. Les résultats obtenus nous encouragent à multiplier les études de cas particuliers pour pouvoir mieux comprendre les caractéristiques des structures transversales conduisant à rétablir la connectivité entre les populations.

## Remerciement

Je tiens à remercier chaleureusement toutes les personnes qui ont participé à ce projet de recherche, c'est-à-dire toutes les personnes citées en page de garde ainsi que Michel TANANT (ONF), Damien MERCERON (Association RENARD) et Philippe LUSTRAT (Consultant Faune sauvage).

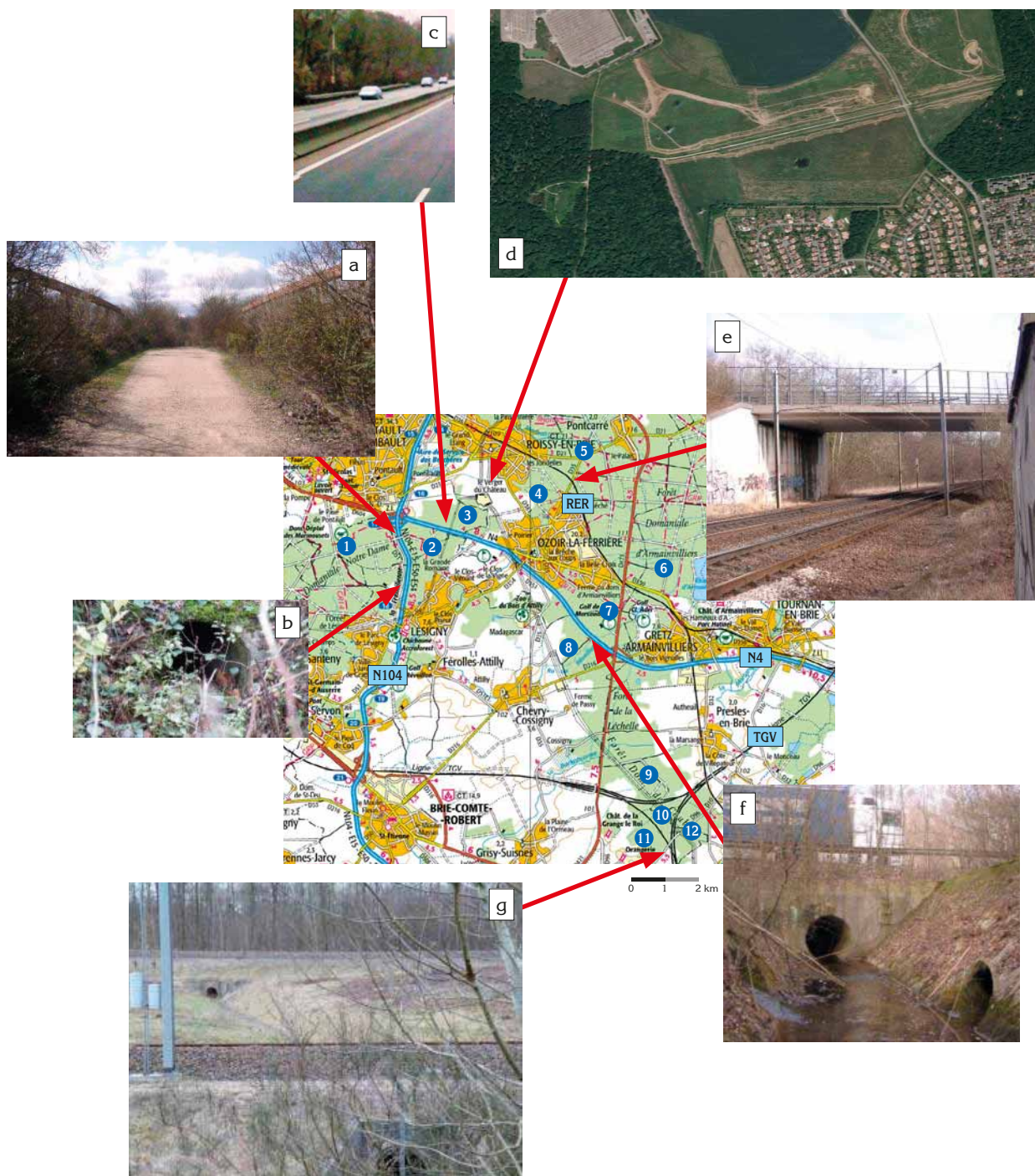
## Bibliographie

- BALKENHOL N. & WAITS L.P. 2009. Molecular road ecology: exploring the potential of genetics for investigating transportation impacts on wildlife. *Molecular Ecology* 18(20): 4151-4164. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19732335>.
- BEEBEE T.J.C. 2005. Conservation genetics of amphibians. *Hereditas* 95(6): 423-427. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16106261>.
- BEEBEE T.J.C. & GRIFFITHS R.A. 2005. The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology? *Biological Conservation* 125(3): 271-285. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2005.04.009>.
- BELKHIR K. et al. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/intro.htm>.
- BREDE E.G. & BEEBEE T.J.C. 2004. Contrasting population structures in two sympatric anurans: implications for species conservation. *Hereditas* 92(2): 110-117. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14666130>.
- BREDE E.G. et al. 2001. Polymerase chain reaction primers for microsatellite loci in the Common Toad *Bufo bufo*. *Molecular Ecology Notes* 1(4): 308-310. <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1471-8278.2001.00120.x>.
- BREDE E.G. & BEEBEE T.J.C. 2006. Large variations in the ratio of effective breeding and census population sizes between two species of pond-breeding anurans. *Biological Journal of the Linnean Society* 89(2): 365-372. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1095-8312.2006.00680.x>.
- BROQUET T. et al. 2006. Buccal swabs allow efficient and reliable microsatellite genotyping in amphibians. *Conservation Genetics* 8(2): 509-511. <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s10592-006-9180-3>.
- BROQUET T., JAQUIÉRY J. & PERRIN N. 2009. Opportunity for sexual selection and effective population size in the lek-breeding European treefrog (*Hyla arborea*). *Evolution: International Journal of Organic Evolution* 63(3): 674-683. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19087183>.
- BULGER, John B, Norman J Scott, and Richard B Seymour. 2003. Terrestrial activity and conservation of adult California red-legged frogs *Rana aurora draytonii* in coastal forests and grasslands. *Biological Conservation* 110(1): 85-95. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006320702001799>.
- COULON, A et al. 2006. Genetic structure is influenced by landscape features: empirical evidence from a roe deer population. *Molecular Ecology* 15(6): 1669-1679. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16629819>.
- DJUELLMAN W.E. & TRUEB L. 1994. McGrawHill Inc New York 670 *Biology of Amphibians*. ed. John Hopkins University Press. The Johns Hopkins University Press. <http://books.google.com/books?id=CzxVvKmrTgC&pgis=1>.
- ELZANOWSKI A. et al. 2009. Amphibian road mortality in Europe: a meta-analysis with new data from Poland. *European Journal of Wildlife Research* 55(1): 33-43.
- EPPS C.W. et al. 2005. Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecology Letters* 8(10): 1029-1038. <http://blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1461-0248.2005.00804.x>.
- FAHRIG L. et al. 1995. Effect of road traffic on amphibian density. *Biological Conservation* 73(3): 177-182. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0006320796900658>.
- FUNK W.C. et al. 2005. Population structure of Colombia spotted frogs (*Rana luteiventris*) is strongly affected by the landscape. *Molecular Ecology* 14: 483-496.
- GANDON S. & MICHALAKIS Y. 2001. Multiple causes of the evolution of dispersal. In : CLOBERT J., DANCHIN E., DHONDT A.A. & NICHOLS J.D. (ed.) *Dispersal*. Oxford University Press, New York: 155-167.
- GARNER T.W.J., SCHMIDT B.R., HOECK P. & BUSKIRK J.V. 2003. Di- and tetranucleotide microsatellite markers for the Alpine newt (*Triturus alpestris*): characterization and cross-priming in five congeners. *Molecular Ecology Resources* 3(2): 186-188.
- GERLACH G. & MUSOLF K. 2000. Fragmentation of Landscape as a Cause for Genetic Subdivision in Bank Voles. *Conservation Biology* 14(4): 1066-1074. <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1523-1739.2000.98519.x>.
- HECNAR S.J. & M'CLOSKEY R.T. 1996. Regional dynamics and the status of amphibians. *Ecology* 77(7): 2091-2097. <http://www.jstor.org/stable/2265703>.
- HITCHINGS S.P. & BEEBEE T.J. 1997. Genetic substructuring as a result of barriers to gene flow in urban *Rana temporaria* (common frog) populations: implications for biodiversity conservation. *Hereditas* 79 (Pt 2)(May 1996): 117-127. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9279008>.
- IMS R.A. & HJERMANN D. 2001. Condition-dependent dispersal. In : CLOBERT J., DANCHIN E., DHONDT A.A. & NICHOLS J.D. (ed.) *Dispersal*. Oxford University Press, New York: 203-216.
- JAQUIÉRY J., BROQUET T., HIRZEL A.H., YEARSLEY J. & PERRIN N. 2011. Inferring landscape effects on dispersal from genetic distances: how far can we go? *Molecular Ecology* 20(4): 692-705.
- JEHLE, R et al. 2001. The annual number of breeding adults and the effective population size of syntopic newts (*Triturus cristatus*, *T. marmoratus*). *Molecular Ecology* 10(4): 839-850. <http://eprints.whiterose.ac.uk/349/>.
- JOHANSSON M. et al. 2005. The influence of landscape structure on occurrence, abundance and genetic diversity of the common frog, *Rana temporaria*. *Global Change Biology* 11: 1664-1679.
- JOHNSON M.L. & GAINES M.S. 1990. Evolution of Dispersal: Theoretical Models and Empirical Tests (Using Birds and Mammals). *Annual Review of Ecology and Systematics* 21(1): 449-480. <http://arjournals.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.es.21.110190.002313>.
- KELLER I., NENTWIG W. & LARGIADÈR C.R. 2004. Recent habitat modification due to roads can lead to significant genetic differentiation in an abundant flightless ground beetle. *Molecular Ecology* 13: 2983-2994.
- KELLER I. & LARGIADÈR C.R. 2003. Recent habitat fragmentation caused by major roads leads to reduction of gene flow and loss of genetic variability in ground beetles. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 270(1513): 417-23. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?partid=1691256&tool=pmcentrez&endertype=abstract> (Accessed June 11, 2011).
- LESBARRÈRES D. et al. 2006. The effects of 20 years of highway presence on the genetic structure of *Rana dalmatina* populations. *Ecoscience* 13(4): 531-538. [http://www.bioone.org/doi/abs/10.2980/1195-6860\(2006\)13\[531:TEOYOHJ\]2.0.CO;2](http://www.bioone.org/doi/abs/10.2980/1195-6860(2006)13[531:TEOYOHJ]2.0.CO;2).
- MARSH D.M. et al. 2005. Forest Roads as Partial Barriers to Terrestrial Salamander Movement. *Conservation Biology* 19(6): 2004-2008. <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1523-1739.2005.00238.x>.
- MARSH D.M. et al. 2007. Effects of roads on patterns of genetic differentiation in red-backed salamanders, *Plethodon cinereus*. *Conservation Genetics* 9(3): 603-613. <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s10592-007-9377-0>.
- MARSH D.M. & TRENHAM P.C. 2001. Meta-population Dynamics and Amphibian Conservation. *Conservation Biology* 15(1): 40-49. <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1523-1739.2001.00129.x>.

- MARTÍNEZ-SOLANO I. & GONZÁLEZ E.G. 2008. Patterns of gene flow and source-sink dynamics in high altitude populations of the common toad *Bufo bufo* (Anura: Bufonidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 95(4): 824-839. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1095-8312.2008.01098.x>.
- MAZEROLLE M.J., HUOT M. & GRAVEL M. 2005. Behavior of Amphibians on the Road in Response To Car Traffic. *Herpetologica* 61(4): 380-388. <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1655/04-79.1>.
- PRUNIER J., KAUFMANN B., GROLET O., PICARD D., POMPANON F. & JOLY P. 2012. Skin swabbing as a new efficient DNA sampling technique in amphibians and 2 use of 14 new microsatellite markers in the alpine newt (*Ichthyosaura alpestris*). *Molecular Ecology Resources* 12(3): 524-531.
- PÜRRENHAGE J.L., NIEWIAROWSKI P.H. & MOORE F.B.G. 2009. Population structure of spotted salamanders (*Ambystoma maculatum*) in a fragmented landscape. *Molecular Ecology* 18(2): 235-247. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19192178>.
- PÉREZ-ESPONA S. *et al.* 2008. Landscape features affect gene flow of Scottish Highland red deer (*Cervus elaphus*). *Molecular Ecology* 17(4): 981-996. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18261043>.
- REH W. & SEITZ A. 1990. The influence of land use on the genetic structure of populations of the common frog *Rana temporaria*. *Biological Conservation* 54(3): 239-249. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/000632079090054S>.
- RILEY S.P. *et al.* 2006. A southern California freeway is a physical and social barrier to gene flow in carnivores. *Molecular Ecology* 15(7): 1733-1741. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16689893>.
- ROTHERMEL B.B. & SEMLITSCH R.D. 2002. An Experimental Investigation of Landscape Resistance of Forest versus Old-Field Habitats to Emigrating Juvenile Amphibians. *Conservation Biology* 16(5): 1324-1332. <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1523-1739.2002.01085.x>.
- ROWE G. & BEEBEE T.J.C. 2004. Reconciling genetic and demographic estimators of effective population size in the anuran amphibian *Bufo calamita*. *Conservation Genetics* 5(3): 287-298. <http://www.springerlink.com/openurl.asp?id=doi:10.1023/B:COGE.0000031145.06421.d3>.
- SCHMIDT B.R., FELDMANN R. & SCHAUB M. 2005. Demographic Processes Underlying Population Growth and Decline in *Salamandra salamandra*. *Conservation Biology* 19(4): 1149-1156. <http://blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1523-1739.2005.00164.x>.
- SEMLITSCH R.D. 2008. Differentiating Migration and Dispersal Processes for Pond-Breeding Amphibians. *Journal of Wildlife Management* 72(1): 260-267. <http://www.bioone.org/doi/abs/10.2193/2007-082>.
- SIMMONS J.M. *et al.* 2010. Beyond Roadkill, Radiotracking, Recapture and FST — a Review of Some Genetic Methods to Improve Understanding of the Influence of Roads on Wildlife. *Ecology And Society* 15(1): 9. <http://www.ecologyandsociety.org/vol15/iss1/art9/ES-2009-3162.pdf>.
- SPEAR S.F. *et al.* 2005. Landscape genetics of the blotched tiger salamander (*Ambystoma tigrinum melanostictum*). *Molecular Ecology* 14(8): 2553-2564. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15969734>.
- STEINFARTZ S., KÜSTERS D. & TAUTZ D. 2004. Isolation and characterization of polymorphic tetranucleotide microsatellite loci in the Fire salamander *Salamandra salamandra* (Amphibia: Caudata). *Molecular Ecology Notes* 4(4): 626-628. <http://www.blackwell-synergy.com/links/doi/10.1111/j.1471-8286.2004.00716.x>.
- STEVENS V.M. *et al.* 2006. Gene flow and functional connectivity in the natterjack toad. *Molecular Ecology* 15(9): 2333-2344. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16842409>.
- TROMBULAK S.C. & FRISSELL C.A. 2000. Review of Ecological Effects of Roads on Terrestrial and Aquatic Communities. *Conservation Biology* 14(1): 18-30.
- VERMEULEN H.J.W. 1994. Corridor function of a road verge for dispersal of stenotopic heathland ground beetles carabidae. *Biological Conservation* 69(3): 339-349. <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6V5X-48XK0N->
- VOS C.C. *et al.* 2001. Genetic similarity as a measure for connectivity between fragmented populations of the moor frog (*Rana arvalis*). *Hereditas* 86(Pt 5): 598-608.
- VOS C.C. & CHARDON J.P. 1998. Effects of habitat fragmentation and road density on the distribution pattern of the moor frog, *Rana arvalis*. *Journal of Applied Ecology* 35: 44-56.
- WILBUR H.M. 1980. Complex Life-Cycles. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 67-93.
- ZANINI F. 2006. Amphibian conservation in human shaped environments: landscape dynamics, habitat modeling and metapopulation analyses. Thèse, École Polytechnique Fédérale de Lausanne. [http://infoscience.epfl.ch/record/89171/files/EPFL\\_TH3635.pdf](http://infoscience.epfl.ch/record/89171/files/EPFL_TH3635.pdf)



**Annexe I.** Localisation des structures transversales aux infrastructures linéaires (routes et voies ferrées) ; entre les sites 1 et 2 : (a) pont végétalisé et (b) buse de 40 cm de diamètre ; entre les sites 2 et 3 : (c) absence de structure transversale et glissière en béton de 1 mètre ; entre les sites 3 et 4 : (d) zone ouverte ; entre les sites 4 et 5 : (e) pont recouvert de bitume avec une route départementale (idem entre les sites 6 et 7) ; entre les sites 7 et 8 : (f) buse de 1m50 de diamètre pour le passage du Ru le Réveillon ; entre les sites 9, 10, 11 et 12 : (g) nombreuses buses d'un mètre de diamètre.



**Annexe II.** Caractéristiques des locus microsatellites pour le triton alpestre (*Ichthyosaura alpestris*), le crapaud commun (*Bufo bufo*) et la salamandre commune (*Salamandra salamandra*). Pour le triton alpestre, le nom utilisé dans ce rapport, entre parenthèse dans le tableau, est différent de celui donné dans la publication de GARNER *et al.* 2003)

Locus microsatellites	Motif répété	Primer sequence (5'-3') Forward (F) Reverse (R)	Tm (°C)	Espèce	Auteurs
Ta1Ca1 (Ta1)	(CA)14(TC)(CA)2	F: GCATCCCTCTACAACCAAC R: GCAGAAAATATCCTTTGCTAATCG	56	<i>Ichthyosaura alpestris</i>	GARNER <i>et al.</i> , 2003
Ta3Ca8 (Ta3)	(G)6(N)9(GT5GC)2(GT)5(CT)(GT)2 (N)9(GT)7(AT)(GT)4	F: CCTCAGCTGGACTAGACTGTTC R: TTACAAGCACACCATAAACCCAC	56	<i>Ichthyosaura alpestris</i>	GARNER <i>et al.</i> , 2003
Ta4Ca4U (Ta4)	(AC)4(AT)(AC)7(N)10(CA)2(GA)(CA)4 (CG)(CA)5(CG)(CA)5	F: CTGGCATAACAGATGCAAAAGC R: AGCTGGACTAGACTGTTCATGG	65	<i>Ichthyosaura alpestris</i>	GARNER <i>et al.</i> , 2003
Ta2Caga3 (Ta6)	(GATA)2(GTCT)(GACA)3(N)6(CAGG)5(CATA) (CAGA)2 (CGA)(CAGG)(CATC)(CA)(CAGA)(CA)2	F: AAAACGTGGAGTTAAAAAGCTAAATG R: AAGCCACCATGGAAACACTC	56	<i>Ichthyosaura alpestris</i>	GARNER <i>et al.</i> , 2003
Ta3Caga2 (Ta8)	(CAGA)(CAGC)2(CGCG)(CGGA)5(CAGA) (CGGA)(CAGA)3(CAG)(CAGA)5	F: CAGCCAGCTAACTGAAAGTAGG R: ACACAGTGTTCGCGCCTTG	60	<i>Ichthyosaura alpestris</i>	GARNER <i>et al.</i> , 2003
DWZOE	(AC) <sup>10</sup>	F: CATGAGGGTATGGTGGTCAGC R: CCATTGCCCAATGCAAACTG	60	<i>Ichthyosaura alpestris</i>	PRUNIER <i>et al.</i> , 2012
EHE6C	(AC) <sup>10</sup>	F: ACAGGAACTTACAGCTACCC R: AGCAGTCCCTGGCTATTTAAG	60	<i>Ichthyosaura alpestris</i>	PRUNIER <i>et al.</i> , 2012
CQERQ	(ACTC) <sup>15</sup>	F: GACTGTGAGAAACCACTTACC R: GTGTGTGTGAACTGCCTCC	60	<i>Ichthyosaura alpestris</i>	PRUNIER <i>et al.</i> , 2012
Bbuf14	(TG)3G(TG)12	F: CGTGCATGCAAGTGTACCTAACCC R: ATGGAGAGTGAAGGGGAAAAGAGTG	58	<i>Bufo bufo</i>	BREDE <i>et al.</i> , 2001
Bbuf15	(CA)16	F: TCAATATAGGAGTCCCAGAATGTC R: AATCCCTAGCGTACACAAGATAC	54	<i>Bufo bufo</i>	BREDE <i>et al.</i> , 2001
Bbuf46	(TG)15	F: GATTTCCTGCGGTGAGCCAGTG R: CGCCCGCAAACTTCCTGAAC	60	<i>Bufo bufo</i>	BREDE <i>et al.</i> , 2001
Bbuf47	(CA)18	F: GGATCAAGCCCTCAGACAACCTC R: CACAGCAGCAGAAAATTTGACCAG	55	<i>Bufo bufo</i>	BREDE <i>et al.</i> , 2001
Bbuf49	(GT)29	F: GATCTGGCAGTGTGGATTG R: ATCCGTCTGCTAAATGTCTCTTG	58	<i>Bufo bufo</i>	BREDE <i>et al.</i> , 2001
Bbuf54	(CA)17	F: CATTGCGCTGCTGCAGATTACAC R: TTAGGGATTGCCGTCCAGTTGTC	55	<i>Bufo bufo</i>	BREDE <i>et al.</i> , 2001
Bbuf62	(GT)18	F: GCACATTCTGTGTCCTGTATAG R: ATCCGAAAACGAAAAGAAAAGAG	52	<i>Bufo bufo</i>	BREDE <i>et al.</i> , 2001
Sal E5	(GATA)6(GACA)11(GATA)(GACA)(GACA)(GATA)12	F: CCACATGATGCCACGTATGTTGTG R: FAMTCTCTGTTTACGCTTACCTGCTCC	54	<i>Salamandra salamandra</i>	STEINFARTZ <i>et al.</i> , 2004
Sal E7	(CTAT)15CCAT(CTAT)5	F: HEXTTTCAGCACCAAGATACTCTTTTG R: CTCCCTCCATATCAAGGTCACAGAC	63	<i>Salamandra salamandra</i>	STEINFARTZ <i>et al.</i> , 2004
Sal E12	(CTAT)15	F: TETCTCAGGAACAGTGTGCCCAAATAC R: CTCATAATTAGTCTACCCCTCCAC	59	<i>Salamandra salamandra</i>	STEINFARTZ <i>et al.</i> , 2004
Sal E14	(CTAT)16	F: TETGCTGCCTCTGCTACTGACCAT R: GCCAAGACATGGAACCCCTCCCGC	65	<i>Salamandra salamandra</i>	STEINFARTZ <i>et al.</i> , 2004
Sal 3	(GAGT)15	F: FAM-CTCAGACAAGAAATCCTGCTTCTTC R: ATAAATCTGCTGTTCTTAATCAG	60	<i>Salamandra salamandra</i>	STEINFARTZ <i>et al.</i> , 2004
Sal 23	(GACA)8(GATA)4	F: HEX-TCAGTGTATCTTTGTTCTTTTAT R: AATTATTTGTTGAGTCGATTTTCT	50	<i>Salamandra salamandra</i>	STEINFARTZ <i>et al.</i> , 2004
Sal 29	(GATA)14	F: TET-CTCTTTGACTGAACCAAGACCC R: GCCTGTCGGCTCTGTGTAACC	65	<i>Salamandra salamandra</i>	STEINFARTZ <i>et al.</i> , 2004

**Annexe III.** Paramètres de la variabilité génétique pour 7 loci microsatellites de triton alpestre (*Ichthyosaura alpestris*) dans les 10 sites d'échantillonnage (**H.exp.**, **H.nb** et **Ho**, hétérozygotie attendu, non biais et observée respectivement ; **NA** : nombre d'allèles par locus) ; test de la déviation de l'équilibre de Hardy Weinberg (**P-value**, en gras : significatif) ; **Valeurs de Fis** (WEIR & COCKERHAM 1984) ; **N** : taille d'échantillon.

Ta1		pop 1	pop 2	pop 3	pop 5	pop 6	pop 7	pop 8	pop 9	pop 10	tous sites
NA	(N)	32	47	40	20	16	32	37	20	19	
3	H exp.	0.3481	0.335	0.4634	0.4688	0.498	0.4473	0.4967	0.455	0.3615	
	H n.b.	0.3537	0.3386	0.4693	0.4808	0.5141	0.4544	0.5035	0.4667	0.3713	
	H obs.	0.3125	0.2128	0.6	0.55	0.5625	0.375	0.5405	0.5	0.3684	
	P-value	0.3575	<b>0.0209</b>	0.9836	0.8793	0.817	0.1895	0.7871	0.7951	0.7096	
	Fis	0.1181	0.3741	-0.2831	-0.1484	-0.0976	0.177	-0.0746	-0.0734	0.0079	
Ta3	(N)	32	47	39	20	16	32	37	21	20	
NA	H exp.	0.3433	0.3198	0.3471	0.4712	0.498	0.4585	0.3247	0.3571	0.5263	
4	H n.b.	0.3487	0.3233	0.3516	0.4833	0.5141	0.4658	0.3291	0.3659	0.5397	
	H obs.	0.3438	0.383	0.359	0.6	0.5	0.5313	0.3514	0.2857	0.75	
	P-value	0.4859	1	0.6773	1	0.73	0.917	0.7686	0.1781	0.9894	
	Fis	0.0145	-0.1871	-0.0211	-0.2493	0.0283	-0.1432	-0.0685	0.2233	-0.4039	
Ta4	(N)	32	45	40	7	15	31	36	20	20	
NA	H exp.	0.3433	0.3193	0.3897	0.4898	0.5044	0.4844	0.3877	0.2662	0.5437	
4	H n.b.	0.3487	0.3228	0.3946	0.5275	0.5218	0.4923	0.3932	0.2731	0.5577	
	H obs.	0.3438	0.3333	0.275	0.5714	0.2	0.4516	0.3333	0.3	0.75	
	P-value	0.4822	0.0989	0.0601	0.8507	<b>0.0064</b>	0.4106	0.2048	1	0.9801	
	Fis	0.0145	-0.037	0.3058	-0.0909	0.625	0.084	0.1541	-0.1014	-0.3571	
Ta6	(N)	32	46	40	10	9	36	1	0		
NA	H exp.	0.771	0.676	0.7594	0.565	0.7778	0.8638	0.8233	0	-	
16	H n.b.	0.7832	0.6835	0.769	0.5947	0.8235	0.8775	0.8349	0	-	
	H obs.	0.625	0.4565	0.625	0.3	0.3333	0.7188	0.6111	0	0	
	P-value	<b>0.0135</b>	<b>0</b>	<b>0.0017</b>	0.0551	0.0014	<b>0</b>	<b>0</b>	-	-	
	Fis	0.2045	-0.3347	0.1892	0.5091	0.6098	0.1833	0.2708	-	-	
Ta8	(N)	32	47	39	20	16	32	37	20	19	
NA	H exp.	0.0894	0.0815	0.0253	0.18	0.1699	0.0605	0.1023	0.375	0.3006	
2	H n.b.	0.0908	0.0824	0.0256	0.1846	0.1754	0.0615	0.1037	0.3846	0.3087	
	H obs.	0.0313	0.0851	0.0256	0.1	0.0625	0.0625	0.1081	0.4	0.3684	
	P-value	<b>0.047</b>	1	<b>0</b>	0.1498	0.0961	1	1	0.7751	1	
	Fis	0.6593	-0.0337	0	0.4648	0.6512	-0.0164	-0.0435	-0.0411	-0.2	
6C	(N)	30	43	39	20	16	29	35	19	19	
NA	H exp.	0.4461	0.335	0.5657	0.5137	0.6387	0.5499	0.6363	0.626	0.6053	
4	H n.b.	0.4537	0.339	0.5731	0.5269	0.6593	0.5596	0.6455	0.643	0.6216	
	H obs.	0.2667	0.2093	0.2821	0.4	0.5625	0.3103	0.4286	0.3158	0.2105	
	P-value	<b>0.0128</b>	<b>0.0041</b>	<b>0</b>	<b>0.0281</b>	0.2447	<b>0.0003</b>	<b>0.006</b>	<b>0.0024</b>	<b>0.0001</b>	
	Fis	0.4164	0.3854	0.5111	0.2457	0.1509	0.4498	0.3394	0.5157	0.6674	
OE	(N)	30	45	40	18	16	31	36	21	19	
NA	H exp.	0.3578	0.4753	0.3622	0.5262	0.4297	0.437	0.4348	0.3084	0.3878	
3	H n.b.	0.3638	0.4806	0.3668	0.5413	0.4435	0.4442	0.4409	0.3159	0.3983	
	H obs.	0.4	0.5556	0.425	0.6111	0.625	0.3871	0.4722	0.381	0.4211	
	P-value	0.8656	0.9154	0.939	<b>0.0272</b>	1	0.3696	0.7902	1	0.8015	
	Fis	-0.1013	-0.1579	-0.1611	-0.1333	-0.4286	0.1304	-0.0721	-0.2121	-0.0588	
RQ	(N)	29	45	38	16	16	32	36	21	20	
NA	H exp.	0.7259	0.7119	0.7341	0.6777	0.752	0.7446	0.804	0.7596	0.6513	
9	H n.b.	0.7387	0.7199	0.7439	0.6996	0.7762	0.7564	0.8153	0.7782	0.6679	
	H obs.	0.6552	0.7556	0.7368	0.6875	0.875	0.7188	0.8056	0.7143	0.6	
	P-value	0.2091	0.7127	0.1218	0.6843	0.8663	0.2333	0.4849	0.1747	0.4146	
	Fis	0.1148	-0.0502	0.0096	0.0179	-0.1321	0.0506	0.0122	0.084	0.1041	
All loci	N	32	47	40	20	16	32	37	21	20	265
	RA	3.75	3.875	3.875	3.125	3.375	4.375	3.875	2.75	3.2857	3.5873
	H exp.	0.4281	0.4067	0.4559	0.4866	0.5336	0.5058	0.5012	0.3934	0.4823	0.4659
	H n.b.	0.4352	0.4113	0.4617	0.5048	0.5535	0.514	0.5083	0.4034	0.495	0.4763
	H obs.	0.3723	0.3739	0.4161	0.4775	0.4651	0.4444	0.4563	0.3621	0.4955	0.4292
	P-value	<b>0.0007</b>	<b>0.0004</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0255</b>	<b>0.0169</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0431</b>	0.4317	<b>0.0000</b>
	Fis	0.1801	0.0785	0.0688	0.0769	0.1758	0.11443	0.0647	0.0564	-0.0343	



**Annexe IV.** Paramètres de la variabilité génétique pour 7 loci microsatellites de crapaud commun (*Bufo bufo*) dans 10 sites d'échantillonnage (**H.exp**, **H.nb** et **Ho**, hétérozygotie attendu, non biais et observée respectivement ; **NA** : nombre d'allèles par locus) ; test de la déviation de l'équilibre de Hardy Weinberg (**P-value**, en gras : significatif) ; **Valeurs de Fis** (WEIR & COCKERHAM 1984) ; **N** : taille d'échantillon.

Locus-site		site 1	site 2	site 3	site 4	site 5	site 6	site 7	site 8	site 9	site 10	tous sites
Bbuf14	(N)	35	34	42	19	25	36	25	19	28	19	
NA	H. exp.	0.6984	0.5973	0.6341	0.6413	0.588	0.6674	0.5784	0.6496	0.5797	0.7202	
9	H.n.b.	0.7085	0.6062	0.6417	0.6586	0.6	0.6768	0.5902	0.6671	0.5903	0.7397	
	Hobs.	0.7714	0.6471	0.6905	0.8421	0.52	0.8056	0.6	0.5789	0.6786	0.7368	
	P-value	0.9119	0.3493	0.9029	0.9826	0.2899	0.9671	0.644	0.3006	0.8758	0.483	
	Fis	-0.0903	-0.0684	-0.077	-0.2886	0.1357	-0.1934	-0.0169	0.1354	-0.1528	0.004	
Bbuf15	(N)	35	25	42	17	20	35	26	19	27	18	
NA	H. exp.	0.7327	0.5952	0.7063	0.7042	0.6425	0.7637	0.7352	0.6856	0.6676	0.6187	
10	H.n.b.	0.7433	0.6073	0.7149	0.7255	0.659	0.7747	0.7496	0.6842	0.6303	0.6142	
	Hobs.	0.6857	0.4	0.3333	0.4118	0.7	0.7143	0.5769	0.5	0.5926	0.6317	
	P-value	0.3172	<b>0.0082</b>	<b>0</b>	<b>0.0033</b>	0.345	0.4531	0.0959	0.6261	0.5791		
	Fis	0.0785	0.346	0.5367	0.44	-0.064	0.0791	0.2339	0.0021	0.0609	0.2134	
Bbuf46	(N)	35	34	42	20	23	37	26	18	28	19	
NA	H. exp.	0.6584	0.5852	0.7027	0.705	0.707	0.7195	0.7811	0.7191	0.7085	0.7313	
11	H.n.b.	0.6679	0.5939	0.7111	0.7231	0.7227	0.7294	0.7964	0.7397	0.7214	0.7511	
	Hobs.	0.6286	0.6765	0.6667	0.7	0.6522	0.7838	0.8462	0.6111	0.6429	0.6842	
	P-value	0.1324	<b>0.0185</b>	0.1557	0.2342	<b>0.007</b>	0.898	0.7252	0.1024	0.1846	0.1538	
	Fis	0.0597	-0.1414	0.0632	0.0327	0.0996	-0.0757	-0.0638	0.178	0.1107	0.0913	
Bbuf47	(N)	35	35	41	20	23	33	26	19	26	18	
NA	H. exp.	0.6433	0.5669	0.5223	0.5938	0.5662	0.506	0.5836	0.6053	0.5163	0.517	
11	H.n.b.	0.6526	0.5752	0.5288	0.609	0.5787	0.5138	0.595	0.6216	0.5264	0.5317	
	Hobs.	0.6571	0.5429	0.4878	0.7	0.6522	0.5152	0.5385	0.7368	0.5769	0.6111	
	P-value	0.6382	0.504	0.3046	0.9589	0.9399	0.524	0.2391	0.9103	0.9056	0.7776	
	Fis	-0.0071	0.0569	0.0783	-0.154	-0.1301	-0.0028	0.0968	-0.1915	-0.0981	-0.1543	
Bbuf49	(N)	35	33	42	17	20	36	26	19	21	19	
NA	H. exp.	0.8845	0.8379	0.8926	0.8702	0.8838	0.912	0.8979	0.8823	0.9002	0.867	
37	H.n.b.	0.8973	0.8508	0.9033	0.8966	0.9064	0.9249	0.9155	0.9061	0.9222	0.8905	
	Hobs.	0.9714	0.9394	0.9286	0.7647	0.75	0.9444	0.8462	0.8947	1	0.8947	
	P-value	0.9762	0.4976	0.6092	<b>0.0118</b>	<b>0.003</b>	0.8267	0.1609	0.5342	1	0.5334	
	Fis	-0.0839	-0.1059	-0.0283	0.151	0.1763	-0.0215	0.0772	0.0129	-0.0867	-0.0049	
Bbuf54	(N)	34	30	41	14	37	26	18	25	17	5	
NA	H. exp.	0.6176	0.5661	0.7939	0.8138	0.78	0.786	0.7929	0.7963	0.7176	0.8287	
19	H.n.b.	0.6269	0.5757	0.8037	0.8439	0.8667	0.7967	0.8084	0.819	0.7322	0.8538	
	Hobs.	0.6471	0.5667	0.8537	0.5714	0.6	0.7838	0.8846	0.6667	0.76	0.8824	
	P-value	0.7657	0.6011	0.6838	<b>0.0026</b>	<b>0.0426</b>	0.5481	0.7999	0.0713	0.5471	0.7976	
	Fis	-0.0327	0.016	-0.063	0.3312	0.3333	0.0165	-0.0963	0.1905	-0.0387	-0.0345	
Bbuf62	(N)	35	35	40	20	24	33	25	19	28	16	
NA	H. exp.	0.758	0.7053	0.8206	0.8788	0.842	0.8104	0.7512	0.7535	0.7411	0.7637	
17	H.n.b.	0.7689	0.7155	0.831	0.9013	0.8599	0.8228	0.7665	0.7738	0.7545	0.7883	
	Hobs.	0.7143	0.6571	0.85	0.85	0.9167	0.7576	0.76	0.6316	0.8214	0.6875	
	P-value	0.0373	0.1211	0.6157	0.1427	0.8858	0.0629	0.6673	0.1119	0.5463	0.2303	
	Fis	0.0721	0.0827	-0.0231	0.0583	-0.0675	0.0805	0.0087	0.188	-0.0904	0.1316	
tout loci	N	35	35	42	20	25	37	26	19	28	19	286
	R.A	8.1429	6.2857	8.1429	8.4286	7.2857	9.8571	8	6.4286	7.1429	6.7143	7.64287
	moy.Hexp.	0.7132	0.6363	0.7246	0.7438	0.7156	0.7379	0.7315	0.7248	0.6832	0.7203	0.71312
	moy.H.nb.	0.7236	0.6464	0.7335	0.7654	0.7419	0.7485	0.746	0.7447	0.6968	0.741	0.72878
	moy.Hobs.	0.7251	0.6328	0.6872	0.6914	0.6844	0.7578	0.7218	0.6863	0.7246	0.7138	0.70252
	P-value	0.4989	<b>0.0185</b>	<b>0.0337</b>	<b>0.0021</b>	<b>0.0014</b>	0.7503	0.3011	0.1153	0.8582	0.3068	<b>0.0016</b>
	Fis	-0.0005	0.0265	0.0695	0.0815	0.0690	-0.0167	0.0342	0.07362	-0.0421	0.0352	

**Annexe V.** Paramètres de la variabilité génétique pour 7 loci microsatellites de salamandre tachetée (*Salamandra salamandra*) dans 10 sites d'échantillonnage (H.exp, H.nb et Ho, hétérozygotie attendu, non biais et observée respectivement ; NA : nombre d'allèles par locus) ; test de la déviation de l'équilibre de Hardy Weinberg (P-value, en gras : significatif) ; Valeurs de Fis (WEIR & COCKERHAM 1984) ; N : taille d'échantillon.

		site 1	site 2	site 3	site 4	site 5	site 6	site 7	site 8	site 9	site 10	site 11	site 12	tous sites
Sal3	(N)	23	65	36	20	20	23	21	28	17	36	31	6	
NA	H exp.	0.4187	0.5054	0.5127	0.5412	0.4337	0.6144	0.5556	0.5619	0.59	0.6578	0.5697	0.6806	
10	H n.b.	0.428	0.5094	0.52	0.5551	0.4449	0.628	0.5691	0.5721	0.6078	0.6671	0.5791	0.7424	
	H obs.	0.2609	0.5692	0.5833	0.55	0.35	0.6957	0.619	0.5714	0.7647	0.6667	0.6129	0.8333	
	P-value	<b>0.0071</b>	0.8487	0.8272	0.4849	0.188	0.7942	0.4008	0.5829	0.8948	0.4978	0.7558	0.5844	
	Fis	0.3959	-0.1186	-0.1239	0.0095	0.2176	-0.1104	-0.0901	0.0012	-0.2683	0.0006	-0.0595	-0.1364	
SalE5	(N)	23	65	35	20	20	22	21	28	17	36	32	6	
NA	H exp.	0.6049	0.5865	0.5241	0.4863	0.5213	0.5165	0.6429	0.6052	0.5242	0.5054	0.5239	0.6111	
5	H n.b.	0.6184	0.5911	0.5317	0.4987	0.5346	0.5285	0.6585	0.6162	0.5401	0.5125	0.5322	0.6667	
	H obs.	0.5652	0.4923	0.5714	0.65	0.6	0.5909	0.6667	0.6786	0.5294	0.4444	0.5313	1	
	P-value	0.1341	<b>0.0214</b>	0.7455	0.9726	0.7885	0.805	0.5537	0.8324	0.5531	0.2272	0.5174	1	
	Fis	0.0877	0.1682	-0.0759	-0.3138	-0.1259	-0.1211	-0.0127	-0.1032	0.0204	0.1345	0.0019	-0.5789	
SalE7	(N)	23	65	36	20	20	23	21	28	17	36	32	6	
NA	H exp.	0.742	0.6596	0.4927	0.645	0.6575	0.7023	0.4751	0.6429	0.6298	0.738	0.6704	0.7361	
8	H n.b.	0.7585	0.6648	0.4996	0.6615	0.6744	0.7179	0.4866	0.6545	0.6488	0.7484	0.6811	0.803	
	H obs.	0.7826	0.6308	0.5556	0.75	0.75	0.4783	0.4286	0.6786	0.7059	0.75	0.7188	0.6667	
	P-value	0.737	0.5593	0.8115	0.8115	0.8478	0.0444	0.3076	0.7199	0.6404	0.6077	0.6136	0.3247	
	Fis	-0.0326	0.0515	-0.1138	-0.1377	-0.1155	0.3388	0.122	-0.0374	-0.0909	-0.0021	-0.0563	0.1837	
SalE12	(N)	24	64	36	20	20	23	21	28	17	35	31	6	
NA	H exp.	0.8073	0.6342	0.6617	0.6813	0.6987	0.759	0.6678	0.7328	0.7128	0.8004	0.6941	0.7222	
9	H n.b.	0.8245	0.6391	0.671	0.6987	0.7167	0.7758	0.6841	0.7461	0.7344	0.812	0.7054	0.7879	
	H obs.	0.625	0.6563	0.75	0.65	0.85	0.913	0.7143	0.6786	0.6471	0.8857	0.8065	0.8333	
	P-value	<b>0.0293</b>	0.7468	0.5568	0.4685	0.9384	0.9595	0.4968	0.294	0.3272	0.9408	0.9101	0.8079	
	Fis	0.2459	-0.027	-0.1197	0.0714	-0.1919	-0.1816	-0.0453	0.092	0.1222	-0.0922	-0.1459	-0.0638	
SalE14	(N)	24	65	36	20	20	23	21	28	17	36	31	6	
NA	H exp.	0.5938	0.6054	0.5764	0.605	0.5837	0.5907	0.5907	0.5434	0.5952	0.5343	0.4865	0.2778	
5	H n.b.	0.6064	0.6101	0.5845	0.6205	0.5987	0.6039	0.6051	0.5532	0.6132	0.5419	0.4944	0.303	
	H obs.	0.7083	0.6923	0.6111	0.65	0.65	0.6957	0.5238	0.5	0.7647	0.5	0.5161	0.3333	
	P-value	0.9098	0.8999	0.6439	0.4217	0.776	0.8258	0.381	0.3463	0.9174	0.3835	0.6895	1	
	Fis	-0.1724	-0.1359	-0.0462	-0.0488	-0.0881	-0.156	0.1373	0.0979	-0.2568	0.0783	-0.0446	-0.1111	
Sal29	(N)	24	65	36	20	20	23	20	28	17	34	32	6	
NA	H exp.	0.546	0.6024	0.7589	0.7075	0.7212	0.6777	0.6713	0.7009	0.7111	0.66	0.6499	0.6528	
5	H n.b.	0.5576	0.607	0.7696	0.7256	0.7397	0.6928	0.6885	0.7136	0.7326	0.6699	0.6602	0.7121	
	H obs.	0.3333	0.5846	0.9444	0.9	0.85	0.6087	0.7	0.8571	0.7059	0.7941	0.625	0.8333	
	P-value	<b>0.0308</b>	0.2867	0.9993	0.9865	0.8707	0.0895	0.6777	0.9003	0.4201	0.9762	0.4893	0.9307	
	Fis	0.4074	0.0372	-0.2312	-0.2482	-0.1536	0.1238	-0.0482	-0.2056	0.0376	-0.1888	0.0542	-0.1905	
Sal23	(N)	23	61	34	19	20	22	19	25	15	35	26	6	
NA	H exp.	0.5208	0.5798	0.5415	0.4917	0.5087	0.5692	0.5471	0.532	0.42	0.5612	0.4763	0.5694	
4	H n.b.	0.5324	0.5846	0.5496	0.505	0.5218	0.5825	0.5619	0.5429	0.4345	0.5694	0.4857	0.6212	
	H obs.	0.5652	0.6066	0.5	0.4737	0.45	0.5	0.5789	0.72	0.3333	0.6571	0.3846	0.5	
	P-value	0.703	0.769	0.1871	0.3997	0.3433	0.3273	0.6857	0.9871	0.3603	0.8612	0.1583	0.3939	
	Fis	-0.0632	-0.0379	0.0915	0.0636	0.1407	0.1444	-0.0312	-0.3354	0.2391	-0.1568	0.2114	0.2105	
all loci	N	24	65	36	20	20	23	21	28	17	36	32	6	328
46	R.A	4.4286	4.2857	4.1429	4.1429	3.8571	4.7143	4	4.7143	3.8571	5.1429	4	3.5714	4.2381
	moy.Hexp.	0.6048	0.5962	0.5811	0.594	0.5893	0.6328	0.5929	0.617	0.5976	0.6367	0.5815	0.6071	0.6025
	moy.Hn.b.	0.618	0.6009	0.5894	0.6093	0.6044	0.6471	0.6077	0.6284	0.6159	0.6459	0.5912	0.6623	0.6183
	moy.Hobs.	0.5487	0.6046	0.6451	0.6605	0.6429	0.6403	0.6045	0.6692	0.6359	0.6712	0.5993	0.7143	0.6363
	P-value	<b>0.0048</b>	0.4699	0.9670	0.9116	0.9337	0.4406	0.5692	0.9177	0.6934	0.8903	0.7988	0.8221	0.9735
	Fis	0.1241	-0.0089	-0.0884	-0.0862	-0.0452	0.0054	0.0045	-0.07	-0.0281	-0.0323	-0.0055	-0.098	

**Annexe VI.** Les valeurs de Fst, au dessus de la diagonale, par paires de sites étudiés pour les 3 espèces (a, b et c). La distance géographique entre les populations (km) est indiquée en dessous de la diagonale.

a. Les valeurs Fst par paire pour le triton alpestre (*Ichthyosaura alpestris*)

FST	site 1	site 2	site 3	site 5	site 6	site 7	site 8	site 9	site 10
site 1	-	0.0056	0.0036	0.0398	0.0328	0.0245	0.0333	0.0717	0.0861
site 2	1.55	-	0.0207	0.0511	0.0638	0.0449	0.0564	0.1088	0.0952
site 3	2.15	1.46	-	0.0245	0.0077	0.0093	0.0081	0.0786	0.0716
site 5	6.42	5.2	4.17	-	0.0029	0.0277	0.0335	0.1179	0.0788
site 6	8.42	6.8	6.84	4.36	-	0.0006	0.0065	0.0461	0.0565
site 7	7.17	5.61	5.9	4.03	1.65	-	0.0087	0.0496	0.0306
site 8	6.77	5.32	5.85	4.7	2.80	1.21	-	0.0349	0.0641
site 9	11	9.7	10.45	9.5	6.08	5.48	4.86	-	0.0336
site 10	11.8	10.68	11.45	10.5	7.15	6.81	5.85	1.04	-

b. Les valeurs Fst par paire pour le crapaud commun (*Bufo bufo*)

FST	site 1	site 2	site 3	site 4	site 5	site 6	site 7	site 8	site 9	site 10
site 1	-	0.0770	0.0498	0.0288	0.0685	0.0462	0.0536	0.0607	0.0528	0.0595
site 2	1.55	-	0.0553	0.0614	0.0840	0.0398	0.0405	0.0611	0.0394	0.0532
site 3	2.15	1.46	-	0.0248	0.0344	0.0069	0.0313	0.0356	0.0309	0.0199
site 4	5.24	4	3.15	-	0.0082	0.0137	0.0197	0.0368	0.0234	0.0216
site 5	6.42	5.2	4.17	1.28	-	0.0269	0.0254	0.0354	0.0497	0.0268
site 6	8.42	6.8	6.84	4.36	4.62	-	0.0107	0.0215	0.0145	0.0110
site 7	7.17	5.61	5.9	4.03	4.72	1.65	-	0.0030	0.0178	0.0213
site 8	6.77	5.32	5.85	4.7	5.61	2.80	1.21	-	0.0406	0.0186
site 9	11	9.7	10.45	9.5	10.20	6.08	5.48	4.86	-	0.0314
site 10	11.8	10.68	11.45	10.5	11.27	7.15	6.81	5.85	1.04	-

c. Les valeurs Fst par paire pour la salamandre tachetée (*Salamandra salamandra*)

FST	site 1	site 2	site 3	site 4	site 5	site 6	site 7	site 8	site 9	site 10	site 11	site 12
site 1	-	0.0297	0.0832	0.0683	0.0397	0.0430	0.0363	0.0273	0.0512	0.0428	0.0469	0.0674
site 2	1.55	-	0.0475	0.0668	0.0569	0.0626	0.0375	0.0385	0.0351	0.0432	0.0374	0.0475
site 3	2.15	1.46	-	0.0299	0.0396	0.0388	0.0184	0.0266	0.0153	0.0536	0.0481	0.0596
site 4	5.24	4	3.15	-	0.0015	0.0005	0.0251	0.0043	0.0115	0.0214	0.0094	0.0397
site 5	6.42	5.2	4.17	1.28	-	0.0096	0.0169	0.0074	0.0149	0.0296	0.0198	0.0747
site 6	8.42	6.8	6.84	4.36	4.62	-	0.0182	0.0077	0.0061	0.0149	0.0177	0.0416
site 7	7.17	5.61	5.9	4.03	4.72	1.65	-	0.0011	0.0171	0.0425	0.0299	0.0495
site 8	6.77	5.32	5.85	4.7	5.61	2.80	1.21	-	0.0039	0.0160	0.0115	0.0359
site 9	11	9.7	10.45	9.5	10.20	6.08	5.48	4.86	-	0.0151	0.0109	0.0207
site 10	11.8	10.68	11.45	10.5	11.27	7.15	6.81	5.85	1.04	-	0.0023	0.0035
site 11	11.7	10.73	11.55	10.68	11.33	7.47	6.57	6.08	1.40	0.45	-	0.0134
site 12	12.3	11.01	11.95	10.76	11.46	7.02	6.70	6.15	1.38	1.04	1.40	-



**Annexe VII.** Impact de la fragmentation des habitats sur la mise en place au cours du temps de la structuration génétique entre les populations. La différenciation génétique entre deux populations nouvellement isolées se fera en fonction (1) de l'impact de l'obstacle sur la capacité de dispersion de l'espèce, (2) du temps depuis la mise en place de l'obstacle et (3) de la taille des populations isolées (plus exactement de la taille efficace, c'est-à-dire du nombre d'individus reproducteurs dans les populations isolées ; plus le nombre d'individus reproducteurs est petit, plus la différenciation génétique se fera rapidement).

