

Influence de facteurs environnementaux sur la reproduction de *Rana dalmatina* (Anura, Ranidae) : implications pour sa conservation.

par

David Lesbarrères & Thierry Lodé

Laboratoire d'Écologie Animale, Université d'Angers,
2, bd Lavoisier - 49045 ANGERS, France
david.lesbarreres@sciences.univ-angers.fr

Résumé - Dans l'Ouest de la France (Maine et Loire), la Grenouille agile (*Rana dalmatina*) fréquente deux types de milieux, bocager et forestier. Une étude comparative nous a permis de mettre en évidence les facteurs environnementaux qui influencent quantitativement sa reproduction dans ces deux habitats. Ainsi, la masse des pontes est quasiment 2 fois supérieure dans les mares de forêt que dans les mares de bocage. Il en est de même pour le nombre moyen d'œufs par ponte (1,3 fois supérieur en forêt) et pour la masse moyenne d'un œuf (1,7 fois supérieure en forêt). Ainsi, différentes stratégies de reproduction ont été mises en place suivant le type d'habitat. Le milieu bocager semble le plus favorable à l'installation de grandes populations de *Rana dalmatina* mais les populations forestières, plus restreintes, présentent des pontes dont les caractéristiques sont adaptées aux conditions environnementales de ce milieu (végétation, prédation ...). Cette étude sur les stratégies de reproduction de la Grenouille agile nous a permis d'envisager des mesures conservatoires adaptées dans le cadre d'un projet autoroutier.

Mots-clés : Reproduction, *Rana dalmatina*, pontes, prairie, forêt, facteurs environnementaux

Summary - Environmental influence on the reproduction of *Rana dalmatina* (Anura, Ranidae): implications for conservation. In the West of France (Maine & Loire), Agile frog (*Rana dalmatina*) attends two types of habitats, meadows and forest. A comparative study was conducted to highlight the environmental factors which quantitatively influence its reproduction in these two habitats. The mass of the clutches is almost 2 times higher in the ponds of forest than in the ponds of meadows. Same results were obtained for the average number of eggs per laying (1,3 times higher in forest) and for the average mass of one egg (1,7 times higher in forest). Thus, various strategies of reproduction were observed according to the type of habitat. Woodlands seem most favorable to the installation of large populations of *Rana dalmatina* but the forest populations, more restricted, present clutches whose characteristics are adapted to the environmental conditions of this habitat (vegetation, predation ...). This study on reproduction strategies of Agile frog enabled us to consider the adapted conservation measures within the framework of a motorway project.

Key-words: Reproduction, *Rana dalmatina*, clutches, meadow, forest, environmental factors

I. INTRODUCTION

Certaines variations de l'environnement peuvent entraîner des perturbations au niveau de la reproduction. Les Amphibiens sont particulièrement sensibles aux modifications de leur habitat et sont de bons modèles biologiques dans l'étude des relations entre l'habitat et la reproduction (Joly *et al.* 2001). Ainsi, dans les lacs oligotrophes du Laurentien (Canada), la structure de la ripisylve de l'habitat est déterminante pour la reproduction de *Rana catesbeiana*, *Rana septentrionalis* et *Rana clamitans melanota* (Courtois *et al.* 1995). Chez les Grenouilles brunes, les études sur *Rana temporaria* (Strijbosch 1979; Beebee 1985; Loman 1988; Marnell 1998; Stumpel & van der Voet 1998; Miaud *et al.* 1999) révèlent l'importance de facteurs environnementaux tels que la végétation, l'ensoleillement et le type de substrat. De même, chez *Rana sylvatica*, la dimension de la mare est un facteur qui influence significativement la reproduction en augmentant la surface disponible (Bellis 1962). Il a également été montré que le pH était un élément déterminant dans le choix du lieu de reproduction et que suivant les espèces, la tolérance était plus ou moins élevée (Andrén *et al.* 1989). Enfin, l'ensoleillement est également un facteur qui agit à la fois dans le déclenchement et la régulation de la reproduction. En effet, la stimulation du chant et le développement des têtards peuvent être dépendants de l'ensoleillement de la mare (Percsy 1994).

La Grenouille agile, *Rana dalmatina*, vit aussi bien en forêt qu'en prairie et ne gagne la mare que pour la reproduction. La période de reproduction s'étale dans l'ouest de la France de la mi-janvier à la fin mars, ce qui en fait un Amphibien très précoce dans cette région. Les mâles sont particulièrement territoriaux et chantent sur une surface d'environ 1 m² (Geisselmann *et al.* 1971), ce qui fait de ce comportement un facteur important pour cette espèce lors de la reproduction. Le choix de l'habitat, notamment en fonction des différents facteurs proposés, pourrait être à l'origine de la répartition des populations de *Rana dalmatina*.

Dans deux habitats distincts, bocage et forêt, nous nous sommes donc intéressés à quatre paramètres physiques pour évaluer leur influence sur certaines caractéristiques de la reproduction de *Rana dalmatina*. Ces paramètres sont la taille de la mare, sa pente, son pH et son ensoleillement relatif. Leur influence a été étudiée sur des éléments quantitatifs de la reproduction tels que le nombre de pontes par mare, la masse moyenne d'une ponte, le nombre moyen d'œufs par ponte et enfin le poids moyen d'un œuf. Ces caractéristiques de la reproduction ont été choisies afin de déterminer des stratégies de reproduction différentes chez cette espèce.

Enfin, cette étude de mares typiques pour la reproduction de la Grenouille agile a également été conduite pour mieux connaître et favoriser la réalisation de mares de substitution dans le cadre de mesures compensatoires. Cela permet ainsi d'envisager une conservation de l'espèce qui soit applicable aux différents habitats qu'elle occupe.

II. MATERIELS & METHODES

A. Paramètres environnementaux

Deux milieux ont été comparés : la prairie et la forêt, environnements où l'on trouve des populations de *Rana dalmatina*. Les mares 1 à 4 sont issues de prairies aux abords de Saint Clément-de-la-place (N 47°30' / W 0°45', Maine & Loire) alors que les mares 5 à 8 sont situées dans la forêt de Longuenée (N 47°35' / W 0°45', Maine & Loire).

Les paramètres environnementaux sont la surface aquatique, mesurée à la même période pour toutes les mares pour limiter le biais lié aux précipitations, la pente des berges, mesurée en prenant la profondeur à la verticale des pontes grâce à une corde lestée ainsi que leur distance par rapport au rivage, le pH (pH-mètre HANNA - woonsocket RI 02895 ; résolution : 0,1 pH ; précision : $\pm 0,1$ pH) mesuré à chaque fois qu'une ponte était échantillonnée, soit entre 2 et 25 fois par mare et enfin, l'ensoleillement estimé en calculant la surface relative de la mare (pourcentage) qui était ensoleillée toute la journée. Les différences ont été testées avec le test U de Mann-Whitney.

B. Reproduction

Pour chaque mare, le nombre de pontes, la masse de celles-ci, le nombre d'œufs par ponte et le poids moyen d'un œuf ont été mesurés. Chaque ponte observée a été égouttée et pesée avec une balance électronique (précision = 1 g). Un échantillon a été alors rapporté au laboratoire pour déterminer sa masse avec une balance de précision (Sartorius 2254 ; précision = 0,01 g). En comptant le nombre d'œufs de l'échantillon, il était possible de déterminer le nombre total d'œufs de la ponte ainsi que la masse moyenne d'un seul œuf.

Durant la période du 24 janvier au 15 mars 2000, où les températures sont restées comparables, 92 pontes ont été échantillonnées, à chaque fois le soir même ou le lendemain de leur dépôt, afin de limiter le biais sur la masse des pontes, lié à la conductivité de l'eau à travers la gangue des œufs. Les différences ont été testées avec le test *t* de Welch pour l'ensemble des données ou le test U de Mann-Whitney dans le cas de données moyennées.

III. RESULTATS

A. Caractéristiques de l'environnement

En milieu bocager, les 4 mares étaient situées dans un champ non-pâturé à proximité de fossés et de haies. Les pentes douces représentaient au moins 1/3 du périmètre des mares et la mare 3 présentait une pente douce sur la totalité de son périmètre. Les superficies des mares étudiées étaient variables, de 82 m² (mare 1) à 880 m² (mare 4). Le pH de l'eau était légèrement basique avec une moyenne de 7,6 et l'ensoleillement était très élevé pour les mares 2, 3 et 4 (> 90 %). La majorité du couvert végétal est constituée de plantes basses herbacées. Joncs, iris et phragmites étaient également très présents.

En milieu forestier, les mares étaient également toutes à proximité ou en contact d'un fossé. Suivant les parcelles où les mares étaient localisées, on a retrouvé soit une végétation à dominante de Pins maritimes ou à dominante de Chênes pédonculés. La plupart des mares étaient issues de l'exploitation par creusement, elles présentaient donc des pentes fortes. Les mares étudiées étaient également de taille variable. Le pH quant à lui était légèrement acide (moyenne de 6,5). L'ensoleillement était plutôt faible (<60%) sur l'ensemble des sites compte tenu du couvert végétal. La végétation au contact de l'eau était principalement constituée de ronces et de branchages.

Ainsi, les principales caractéristiques physiques des milieux de reproduction de la Grenouille agile sont significativement différentes, que ce soit pour la surface moyenne de la mare, sa pente, son pH ou encore son ensoleillement (tableau I).

Tableau I : Caractéristiques physiques des mares de prairie (n = 4) et de forêt (n = 4) où se reproduit la Grenouille agile.

Table I: Physical characteristics of grassland (n = 4) and forest (n = 4) ponds where spawns of *R. dalmatina* were observed.

		Surface (m ²)	Pente moyenne (%)	pH	Ensoleillement (%)
Mares de prairie	Moyenne	504,5	24,5	7,6	91,25
	Ecart type	383,2	24,3	0,3	14,4
Mares de forêt	Moyenne	58	86	6,5	37,5
	Ecart type	60,1	12,2	0,6	26,3
Différence		P = 0,05	P = 0,029	P = 0,029	P = 0,029

B. Caractéristiques de la reproduction

Suivant le milieu étudié, les paramètres de la reproduction présentent des différences (tableau II). Tout d'abord, la masse des pontes est presque 2 fois plus élevée en milieu forestier qu'en bocage avec des masses respectives de 404,7 g et de 217,8 g ($t_{\text{Welch}} = 3,78$; ddl = 19, $p = 0,001$). De même, le nombre d'œufs par ponte en forêt est supérieur au nombre d'œufs par ponte en milieu bocager. En effet, en bocage la moyenne atteint 541,4 œufs par ponte contre 687 œufs par ponte en forêt ($t_{\text{Welch}} = 2,55$; ddl = 24, $p = 0,017$). La masse moyenne d'un œuf était également supérieure en forêt où elle atteint une valeur de 675,8 mg contre 403,2 mg en milieu bocager ($t_{\text{Welch}} = 8,81$; ddl = 28, $p < 0,0001$).

Il existe une relation entre les données quantitatives de la reproduction et certains paramètres physiques du milieu. Le nombre de pontes était d'autant plus grand que la surface de la mare était étendue ($r_{\text{Pearson}} = 0,75$; $p = 0,031$; 56,7 % de la variance expliquée ; fig. 1) et le nombre de pontes était plus important en prairie qu'en forêt ($U_{\text{Mann-Whitney}} = 6$; ddl = 3, $p = 0,029$).

Tableau II : Caractéristiques de la reproduction de *Rana dalmatina* en fonction du milieu (n = 73 pontes en prairie et n = 19 pontes en forêt).

Table II: Spawning characteristics of *R. dalmatina* in grassland (n = 73 spawns) and forest (n = 19 spawns) ponds.

		Nombre de pontes	Masse des pontes (g)	Nombre d'œufs / ponte	Masse d'un œuf (mg)
Mares de prairie	Moyenne	44,8	217,8	541,4	403,2
	Ecart type	37,4	89,2	183,8	120,4
Mares de forêt	Moyenne	6	404,7	687	675,8
	Ecart type	4,8	205	223,5	116,6
Différence		P = 0,029	P = 0,001	P = 0,017	P < 0,0001

Mais, la densité de pontes dans chaque mare n'est pas sensiblement différente en prairie et en forêt ($U_{\text{Mann-Whitney}} = 6$; ddl = 3, $p = 0,686$) mettant donc bien en évidence un effet de la taille du site. A l'opposé, l'ensoleillement est fortement corrélé avec la masse des pontes ($r_{\text{Pearson}} = -0,847$; $p = 0,008$; 71,82 % de la variance expliquée ; fig. 2) et avec le nombre d'œufs ($r_{\text{Pearson}} = -0,78$; $p = 0,021$; 61,5 % de la variance expliquée). Enfin, si la palette globale du pH s'étend de 6 à 8, les mares

forestières sont significativement plus acides que les mares de prairie ($U_{\text{Mann-Whitney}} = 0$; $\text{ddl} = 3$, $p = 0,029$).

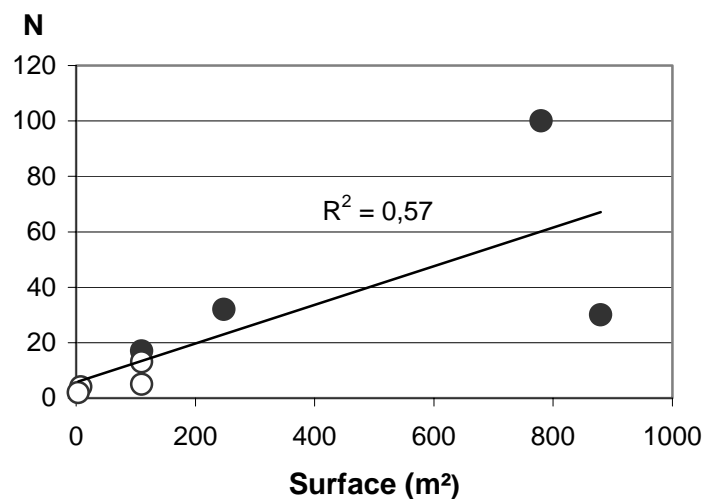
IV. DISCUSSION

Les résultats ont montré que la reproduction de *Rana dalmatina* différait entre le milieu forestier et le milieu bocager. Ainsi, un effet taille du site a été observé (Holomuzki 1997), à savoir un nombre de pontes plus important sur une mare plus grande.

Les différences observées entre les deux milieux tiennent principalement dans l'acidité et la pente de la mare. Les pontes de *Rana dalmatina* semblent être affectées par ces différences. Si le pH est un facteur qui joue un rôle dans la sélection de l'habitat (Harris *et al.* 1998), la palette de pH tolérée par *Rana dalmatina*, ici de 6 à 8 semble plus grande que chez d'autres Amphibiens. En effet, chez *Hyla cinerea*, un pH acide (4,5) influence la croissance et la métamorphose des têtards, inhibant leur développement (Jung & Jagoe 1995). Mais, le pH ne peut être pris seul et doit être analysé conjointement à la présence d'éléments chimiques, notamment pour ce qui est du choix du site et du développement des têtards (Strijbosch 1979; Marnell 1998). Le pH peut également être indirectement lié à la prédation exercée sur les pontes.

Figure 1 : Nombre de pontes des mares de prairie (●) et de forêt (○) en fonction de la surface ($n = 8$).

Figure 1: Number of ponds in grassland (●) and forest (○) as a function of their surface ($n = 8$)



Dans les mares étudiées se trouvent de fortes populations de Tritons palmés (*Triturus helveticus*), vivant particulièrement en milieu acide (Henrikson 1990) et de nombreux individus ont été observés au sein même des pontes de Grenouille agile. Or, cette espèce exerce une prédation sur les œufs, embryons et têtards d'Amphibiens (Henrikson 1990 ; Marnell 1998) et il est possible, même si cela reste à prouver, que cette prédation puisse influencer le nombre de pontes. La différence significative observée entre le nombre d'œufs par ponte dans les deux milieux pourrait alors correspondre également à une adaptation à la forte pression de prédation qu'exerce le Triton palmé (Anholt & Welt 1995).

D'autres hypothèses peuvent être avancées sur la sélection de l'habitat par *Rana dalmatina*. Ainsi, une pente douce favorise l'implantation des joncs et herbacées et sur une pente abrupte, l'absence de ces végétaux est compensée par la présence de branchages et de ronces sur la berge. Les œufs sont plus légers en milieu bocager, là où les pentes permettent le développement d'une végétation plutôt herbacée. Ceci est probablement dû au fait que cette végétation constitue un point d'accrochage des pontes relativement fragiles. Les pontes de milieu forestier sont accrochées principalement sur des supports rigides, tels que ronces et branchages, ce qui expliquerait que leur poids puisse être plus élevé. De même, un fort ensoleillement semble favoriser la présence de *Rana dalmatina* puisque les observations ont révélé une forte variation des effectifs, le milieu bocager plus ouvert présentant des populations plus importantes. L'ensoleillement peut en effet accélérer le développement des embryons par réchauffement de l'eau (Percsy 1994) et stimuler le chant en augmentant le réchauffement du site (Schneider *et al.* 1988). En revanche, les œufs sont plus gros dans les mares forestières. Cela peut être dû à un ensoleillement plus faible, nécessitant un investissement maternel plus fort pour palier à cette carence. L'habitat pourrait donc avoir une influence sur ce trait relatif à l'investissement maternel, comme cela a été noté chez *Rana temporaria* (Loman 1999). De plus, chez la Grenouille rousse, il semble que les grosses femelles soient plus inféodées aux milieux boisés (Joly 1991), ce qui pourrait également être une explication à la taille plus conséquente des œufs forestiers. Mais cette hypothèse reste encore à vérifier car si le lien entre la taille de la femelle et la taille de la ponte est envisageable, la taille des œufs n'a pas encore été démontrée comme corrélée à la taille de la femelle.

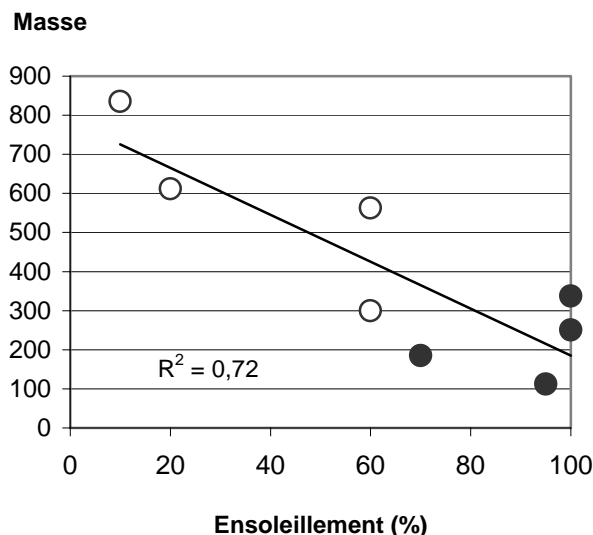


Figure 2 : Masse (g) des pontes des mares de prairie (●) et de forêt (o) en fonction de l'ensoleillement (n = 8).

Figure 2: Mass (g) of spawns in grassland (●) and forest (o) as a function of relative amount of sunshine (n = 8).

Implications pour la conservation : Un ensoleillement modérément élevé et une pente faible entraînant l'implantation d'une végétation herbacée sont les paramètres favorisant l'installation d'une population reproductrice. C'est pourquoi, dans le cadre d'un projet de conservation, huit mares de substitution ont été réalisées selon ces critères et sont suivies pour valider les hypothèses (Lesbarrères & Lodé 2000). Elles donnent jusqu'à présent des résultats intéressants (Lesbarrères 2001). Très affectée la première année, la reproduction de *Rana dalmatina* s'est améliorée quantitativement avec plus de pontes dans chaque mare et plus de mares abritant une population reproductrice. De telles études sont nécessaires pour adapter les réalités de la conservation aux exigences des espèces (Meffe & Carroll 1997). Mais beaucoup de travaux restent à mener quant à la reproduction des Amphibiens afin de proposer des mesures de conservation qui puissent prendre en compte à la fois les facteurs spécifiques et environnementaux.

Remerciements - Nous tenons à remercier plus particulièrement Stéphanie Mareau & Romain Criou qui ont participé à cette étude.

V. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andrén C., Mårdén M. & Nilson G. 1989 - Tolerance to low pH in a population of moor frogs, *Rana arvalis*, from an acid and a neutral environment: a possible case of rapid evolutionary response to acidification. *Oikos*, 56 : 215-233.
- Anholt B.R. & Welt E.E. 1995 - Interaction between food availability and predation mortality mediated by adaptative behavior. *Ecology*, 76(7) : 2230-2234.
- Beebee J.C. 1985 - Discriminant analysis of Amphibian habitat determinants in South-East England. *Amphibia-Reptilia*, 6 : 35-43.
- Bellis E.D. 1962 - The influence of humidity on wood frog activity. *The American midland Naturalist*, 68(1) : 139-148.
- Courtois D., Leclair R.J., Lacasse S. & Magnan P. 1995 - Habitats préférentiels d'amphibiens ranidés dans les lacs oligotrophes du Bouclier laurentien, Québec. *Canadian Journal of Zoology*, 73 : 1744-1753.
- Geisselmann B., Flindt R. & Hemmer H. 1971 - Studien zur Biologie, Okologie und Merkmalsvariabilität der beiden Braunfroscharten *Rana temporaria* L. und *Rana dalmatina* Bonaparte. *Zoologisches Jharbucher Systematik*, 98 : 521-568.
- Harris M.L., Bishop C.A., Struger J., Van Den Heuvel M.R., Van Der Kraak G.J., Dixon D.G., Ripley B. & Bogart J.P. 1998 - The functional integrity of northern leopard frog (*Rana pipiens*) and green frog (*Rana clamitans*) populations in orchard wetlands. I. Genetics, physiology, and biochemistry of breeding adults and young-of-the-year. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(7) : 1338-1350.
- Henrikson B.I. 1990 - Predation on amphibian eggs and tadpoles by common predators in acidified lakes. *Holarctic Ecology*, 13 : 201-206.
- Holomuzki J.R. 1997 - Habitat-specific life-histories and foraging by stream-dwelling american toads. *Herpetologica*, 53(4) : 445-453.
- Joly P. 1991 - Variation in size and fecundity between neighbouring populations in the common frog, *Rana temporaria*. *Alytes*, 9 : 79-88.
- Joly P., Miaud C., Lehmann A. & Grolet O. 2001 - Matrix effects on pond occupancy in newts. *Conservation Biology*, 15(1) : 239-248.
- Jung E.R. & Jago C.H. 1995 - Effects of low pH and aluminum on body size, swimming performance, and susceptibility to predation of green tree frog (*Hyla cinerea*) tadpoles. *Canadian Journal of Zoology*, 73 : 2171-2183.
- Lesbarrères D. 2001 - Structuration, flux génétiques et biologie de la reproduction des populations de Grenouilles agiles, *Rana dalmatina*, dans l'Ouest de la France : applications à la conservation. Thèse de Doctorat, Laboratoire d'Écologie Animale, Université d'Angers.

- Lesbarrères D. & Lodé T. 2000 - La conservation des amphibiens: exemple d'aménagements autoroutiers. *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de l'Ouest de la France*, 22(1) : 37-48.
- Loman J. 1988 - Breeding by *Rana temporaria*; the importance of pond size isolation. *Memoranda Societatis pro Fauna et Flora Fennica*, 64 : 113-115.
- Loman J. 1999 - Early metamorphosis in common frog *Rana temporaria* at risk of drying: an experimental demonstration. *Amphibia-Reptilia*, 20 : 421-430.
- Marnell F. 1998 - Discriminant analysis of the terrestrial and aquatic habitat determinants of the smooth newt (*Triturus vulgaris*) and the common frog (*Rana temporaria*) in Ireland. *Journal of Zoology of London*, 244 : 1-6.
- Meffe G. & Carroll C.R. 1997 - Principles of Conservation Ecology. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Miaud C., Guyétant R. & Elmberg J. 1999 - Variations in life-history traits in the common frog *Rana temporaria* (Amphibia: Anura): a literature review and new data from the French Alps. *Journal of Zoology of London*, 249 : 61-73.
- Percsy C. 1994 - A propos des migrations de batraciens. *Les cahiers des Réserves Naturelles. RNOB*, 7 : 109-114.
- Schneider H., Sofianidou T.S. & Kyriakopoulou-Sklavounou P. 1988 - Calling behavior and calls of *Rana dalmatina* (Anura, Ranidae) in Greece. *Zoologisches Jahrbucher Physiologie*, 92 : 231-243.
- Strijbosch H. 1979 - Habitat selection of amphibians during their aquatic phase. *Oikos*, 33 : 363-372.
- Stumpel A.H.P. & van der Voet H. 1998 - Characterizing the suitability of new ponds for amphibians. *Amphibia-Reptilia*, 19 : 125-142.

Manuscrit accepté le 24 juin 2002