

A Florence

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord vivement Françoise Burel et John Thompson d'avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse ainsi que Vincent Bels, Mathieu Denoel, Sylvie VanPeene et Olivier Verdier de me faire l'honneur d'être membres du jury.

Je tiens à remercier chaleureusement mes deux directeurs de thèse, Aurélie Coulon et Michel Baguette pour m'avoir accompagné pendant ces 3 années particulièrement enrichissantes. Ma reconnaissance s'adresse également à Olivier Verdier et à toute l'équipe du bureau d'études ENCEM encadrant technique de la thèse CIFRE, Hind Bekkioui, Véronique Fond, Johan Gourvil, Pascal Maurel et Didier Voetzel, ainsi qu'à l'Union Nationale des Producteurs de Granulats ayant eu confiance dans ce projet de recherche ambitieux, et plus particulièrement Christian Béranger, Yves Adam, Patrick Lecomte, Nicolas Vuillier et l'accueil chaleureux de l'ensemble de l'équipe.

Afin d'être menés à bien, les travaux scientifiques ont requis le soutien d'une grande diversité d'acteurs, et ce pour chacune des étapes de la thèse. Ainsi, je remercie Damien Marage (AgroParisTech) et Jean Lescure (Société Herpétologique Française) pour la formulation initiale du projet. Pour la collecte de données d'inventaires, j'adresse ma reconnaissance à Daniel Sirugue et Nicolas Varanguin (PNR du Morvan), Paul-André Gaide (DREAL Bourgogne), Pierre-Olivier Cochard, André Dutertre, Christophe de Massary et Aymeric Mionnet de la SHF, Sylvain Larzilière (LPO), Eva Sempé (Sologne Nature), Eva Chéramy (Eure-et-Loir Nature), Marie Des Neiges de Bellefroid (Loiret Nature), Romuald Dohogne (Indre Nature), Francis Olivereau (DREAL Centre), François Pinet (PNR Brenne), Guillaume Widiez (DREAL Champagne), Mickael Barrioz (OBHEN), Julien Laignel (Conseil Général de l'Eure), Christophe Eggert, Aurélie Marchalot (PNR Boucles de Seine Normandie), Emmanuel Vauchelet (Conservatoire des Espaces Naturels), Anthony Gourvenec (FaunaFlora), Christine Leneveu et Denis Sivigny (DREAL Haute-Normandie), Sandrine Samson (Port autonome de Rouen), Marion Laprun (ANVL), Olivier Grosselet (Phylofauna), Pierre Rivallin (Maison de l'environnement de Seine-et-Marne), Gérard Baudouin, Olivier Patrimonio (DRIEE Ile-de-France), Julie Maratrat (PNR Gâtinais Français), Nicolas Galland (PNR Vexin Français) ainsi que Cécile Destrée pour l'accès à l'ancienne carrière de Limay Marie Kleim pour l'accès aux sites de l'Agence des Espaces Verts.

Je tiens également à remercier vivement l'Union Nationale des Producteurs de Granulats (UNPG) et le Syndicat des Minéraux Industriels France (MIF) ainsi que de leurs membres pour la mise à disposition de données d'inventaire et de sites, en la personne de Nicolas Vuillier (UNPG), Sébastien Jallon (MIF), Xavier Lascaux (GSM), Etienne Koszul (GSM), Philippe Demonchy (Ciments Calcia), Gilles Covello (Ciments Calcia), Alexandre Burnel (Ciments Calcia), Arnaud Colson (Lafarge), Marine Latham (Lafarge), Hervé Chiaverini (Lafarge), Armelle Mousseigne (Lafarge), Jean-Baptiste Artru (Lafarge), Camille Moulin (Lafarge), Alexandre Mallet (Lafarge), Sabine Binninger (Cemex), Heloise Chardigny (Cemex), Véronique Poupardin (Cemex), Laurent Biagetti (Cemex), Valérie Philip (Cemex).

Je remercie de même Cindy Bouchez (Eurovia), José Guttierrez (Eurovia), Stephane Levesque (Eurovia), Philippe Bouteau (Eiffage), Stephane Gaffie (Eiffage), Jean-Yves Cadieux (FCH Capoulade), François Petry (Holcim), Loïc Traverse (Holcim), Jorge Da Cuhna (SNB), Sandrine Ceccarelli (Les sables de Brevannes), Thomas Weinbreck (A2C granulats), Michel Kyre (Imerys), Vincent Borde (Imerys), Didier Drancourt (Sibelco), Jacques Bordat (Samin), Jacques Vialon (Samin), Bernard Vatbois (Stref), Eric Liglet (Ligériennes granulats), Julien Baudoux (Ligériennes granulats), Yves Rivain (Star et Transports Gallas, Christian Laye (Société de Matériaux de Berchères-les-Pierres), Benjamin Capuano (Société de Matériaux de Berchères-les-Pierres), Denis Villedieu (MEAC), Gérald Gauthier (MEAC) ainsi que l'ensemble du personnel direct des sites inventoriés.

Je suis extrêmement reconnaissant du personnel technique du Muséum ainsi que des stagiaires ayant construit la base de données de cette présente thèse (1) concernant les inventaires de terrain et le stockage des échantillons, les stagiaires Emeline Hudik, Basile Hurault, Hugo Anest, Jérémy Gauthier, Nicolas Zilbermann, Karen Cheurlot, Emilie Klam, Angéline Lesueur, Micael Pereira et Jennifer Thomas ainsi que Marielle Perroz et Khaldia Akkharri du Muséum de Brunoy. ; (2) concernant les PCR et le génotypage, les stagiaires Florian Lesage, Hugo Anest, Jérémy Gauthier, Nicolas Zilbermann, Karen Cheurlot, Emilie Klam, Angéline Lesueur, Micael Pereira et Jennifer Thomas ainsi que la chaleureuse équipe du Service de Systématique Moléculaire (OMSI 2700 MNHN-CNRS-UPMC) en la personne de Marie-Catherine Boisselier, Josie Labourdière, José Utgé, Jawad Abdelkrim, Régis Debruine et Delphine Gey ; (3) concernant la digitalisation des cartes d'occupation du sol, les stagiaires Emeline Hudik, Basile Hurault, Hugo Anest, Jérémy Gauthier, Nicolas Zilbermann, Karen Cheurlot, Emilie Klam, Angéline Lesueur, Micael Pereira, Jennifer Thomas, Jeffrey Carbillet, Louise Keszler, Lise Lallemand, Florian Lesage, Jérôme Lin, Flore Loyer et Solène Sacré.

Je remercie également la communauté des écologues, scientifiques, techniciens et gestionnaires, pour son aide précieuse tout au long des analyses, en la personne de Simon Fellous, Stéphanie Manel, Pierre Joly, Jérôme Prunier, Jawad Abdelkrim , Virginie Stevens, Maarten Van Strien, Julio Pedraza-Acosta, Bernard Frochot, Jean-Claude Lefevre, Steve Palmer, Justin Travis, Gilles Platner, Romain Lorillière, Vincent Pélissier et Rafael Wüest, Claire Hamon, Emeline Révéneau, Fabien Quétier, Cédric Eleeboode, Jennifer Amsallem, Romain Sordello ainsi que le soutien chaleureux des thésards du CESCO.

Je finis par remercier mes amis et ma famille pour leur chaleureuse bienveillance et tout particulièrement ma femme Florence pour son soutien sans faille tout au long de ce projet.

RÉSUMÉ

La connectivité du paysage est un élément déterminant pour la viabilité à long terme des populations ainsi que leur capacité d'adaptation aux changements globaux. Son maintien est principalement menacé par les changements d'occupation du sol d'origine anthropique. En tant qu'activité industrielle, les carrières de granulats modifient localement la structure et la composition du paysage, nécessitant de ce fait une évaluation de leurs effets. Néanmoins, ces effets sont complexes : d'une part, les surfaces exploitées sont converties en milieu pionnier et subissent d'importantes perturbations telles que l'augmentation du trafic routier, de bruit et d'émission de poussières ; d'autre part, la création de milieux pionniers et la réalisation de réaménagements à vocation écologique sont susceptibles de recréer ou de diversifier les éléments de connectivité. Afin d'évaluer l'impact des carrières sur la connectivité globale du paysage, il convient donc de quantifier à la fois les effets potentiels en termes de fragmentation et de création de connectivité.

Par une approche de génétique du paysage, cette thèse vise à estimer l'effet des carrières de granulats sur la connectivité, à travers l'exemple de deux espèces cibles à contraintes écologiques contrastées : le crapaud commun (*Bufo bufo*), espèce évoluant préférentiellement dans les milieux à végétation dense, pour laquelle nous émettons donc l'hypothèse que les carrières dégradent la connectivité du paysage ; et le crapaud calamite (*Bufo calamita*), espèce préférant les milieux pionniers, et pour laquelle nous émettons l'hypothèse que les carrières améliorent la connectivité. S'appuyant sur une lecture diachronique de 6 paysages distincts, l'effet des carrières est estimé à travers (1) l'analyse de l'effet des changements d'occupation du sol opérés par les carrières sur la diversité génétique, (2) la quantification de la résistance au déplacement des différents éléments du paysage sur la base des distances génétiques, à la lumière d'une nouvelle méthode de calibration développée à cet effet. Nous montrons que le décalage temporel entre la structure paysagère et génétique est spécifique à l'espèce et au contexte paysager. De même, l'effet d'un élément du paysage sur la connectivité peut être contexte-dépendant. Nous montrons un effet positif des zones pionnières en carrières sur la connectivité de *B. calamita*. Certains réaménagements s'avèrent fragmentant pour *B. bufo*, tels que la création de larges plans d'eau d'un seul tenant. Au contraire la diversité des habitats sur le site semble supporter la connectivité de cette espèce, et ce tout particulièrement au sein de paysages homogènes et dégradés. Ces éléments permettent d'aboutir à des recommandations visant à maximiser les potentialités des carrières en termes de connectivité, notamment en termes de planification.

Mots clés : *génétique du paysage, Bufo bufo, Bufo calamita, carrières, connectivité, fragmentation, diversité génétique, flux de gènes, résistance, dispersion*

SUMMARY

Landscape connectivity strongly supports long term viability of populations and adaptation to global changes. Connectivity conservation is mainly threatened by anthropogenic land conversion. As other industrial activities, quarrying hardly impacts the structure and composition of the local landscape, and consequently required the assessment of its effect on connectivity. So far, this effect remains unknown. On the one hand, the activity of mineral extraction converts the initial habitat into mineral-dominant areas, and is associated with disturbances as increased truck traffic, noise, and dust emissions. On the other hand, newly created pioneer habitats and ecological restoration are expected to support specific landscape connexions. Given this, the effect of quarrying on landscape connectivity had to be assessed on terms of both fragmentation and connectivity creation.

Following a landscape genetics approach, this present thesis aims to assess the effect of quarrying on landscape connectivity through the example of two target species with contrasted ecological constraint: the common toad (*Bufo bufo*), a species favouring densely vegetated areas for dispersal which is supposed to be negatively disturbed by quarrying; and the natterjack toad (*Bufo calamita*), a pioneer species that is expected to be positively affected by quarrying. Based on a diachronic approach, we performed analyses based on (1) correlations between land conversion driven by quarrying and genetic diversity and (2) assessment of resistance to dispersal of the different land cover classes using a calibration procedure that was specifically developed. The time lag between landscape and genetic structure was shown to be landscape and species-specific. Similarly, the effect of a particular landscape element appeared as landscape-dependent. We showed a positive effect of quarrying on the connectivity of *B. calamita*. Some restored elements caused fragmentation for *B. bufo*, as the example of large one-piece lakes. Oppositely, the diversity of habitats that compose the quarry site supported connectivity for this species, particularly in the case of homogeneous and inhospitable landscapes. Based on these results, we proposed some recommendations to maximise the potential of the quarry in regards to landscape connectivity, in particular in terms of land planning.

Key words: *landscape genetics, Bufo bufo, Bufo calamita, quarrying, connectivity, fragmentation, genetic diversity, gene flow, resistance, dispersal*

TABLE DES MATIERES

Partie I : Introduction générale	3
I. Avant propos	5
II. Les nouveaux enjeux de la conservation de la connectivité	6
A. Le changement d'usage des sols constitue la première cause d'érosion de la biodiversité	6
B. Les mécanismes et concepts clés liés à la connectivité	7
C. Comment mesurer la dispersion ?	12
D. Evaluer la connectivité à partir des données génétiques	13
E. De la théorie à la pratique : la planification des réseaux écologiques	17
III. Carrières et connectivité : une relation complexe	24
A. Une activité industrielle aménageur d'espaces	24
B. Le rôle des carrières sur la connectivité : fragmentation, restauration ou diversification du paysage ?	25
IV. Une thèse pour évaluer l'effet des carrières sur la connectivité	30
A. Objectifs de la thèse	30
B. Choix méthodologiques généraux	31
C. Analyses menées dans le cadre de la thèse	38
Partie II : Impact des carrières sur la diversité génétique : une étude à différentes échelles temporelles et différents contextes paysagers	49
I. Démarche	51
II. Article : Impact of quarrying on genetic diversity: an approach across landscapes and over time.	52
Partie III : Une nouvelle méthode de calibration de résistances pour évaluer la connectivité du paysage sans recours au dire d'expert	83
I. Démarche	85
II. Article : Bypassing expert-opinion in landscape connectivity assessment with a new resistance calibration method	86

Partie IV : Evaluation de l'effet des carrières sur la connectivité du paysage, une approche à travers différents paysages, intervalles de temps et espèces	111
I. Démarche	113
II. Article : Assessing the effect of quarrying on landscape connectivity: a resistance calibration approach across species, landscapes and time	114
Partie V : Synthèse	147
I. Avant propos	149
II. Apports, limites et perspectives méthodologiques de la thèse	149
A. Questions d'échelle temporelle	149
B. Influence du contexte paysager sur l'estimation de la connectivité	157
C. De l'importance de distinguer le comportement de dispersion des juvéniles et adultes	159
D. Plus loin dans la calibration des résistances aux déplacements	159
III. Carrières et connectivité : évaluation des effets et enseignements tirés	162
A. Les carrières peuvent augmenter significativement la connectivité selon les espèces et les réaménagements considérés	162
B. De l'espèce à la communauté	168
C. Carrières, dispersion et évolution	169
D. Vers une exploitation compatible avec la conservation de la connectivité?	172
Annexes	183
Liste des Annexes	185
Annexe I : Echantillonnage	186
Annexe II : Cartographie historique des sites d'étude	187
Annexe III : Modélisation des résistances avec CIRCUITSCAPE	197

Partie I

Introduction générale

I. Avant propos

Cette thèse est le fruit d'un projet de recherche appliquée faisant suite à une récente évolution de la réglementation environnementale française. En 2009, la loi Grenelle I instaure pour la première fois la protection des milieux supports des déplacements des espèces faunistiques et floristiques. Ces dispositions se concrétisent par la création d'un nouvel outil d'aménagement du territoire : La Trame Verte et Bleue (TVB). *Prise en compte*¹ au sein des documents d'urbanisme, la TVB amène l'ensemble des acteurs du territoire à s'interroger sur leur impact vis à vis des déplacements des espèces. En tant qu'activité d'extraction de matériaux minéraux, les carrières modifient profondément le milieu, et par extension les processus de déplacements s'y opérant. Afin de quantifier et maîtriser ses impacts au regard de la TVB, l'Union Nationale des Producteurs de Granulats (UNPG) initie en 2011 une thèse en collaboration avec le Muséum National d'Histoire Naturelle et le bureau d'études ENCEM. Cette thèse vise à évaluer l'effet des carrières sur la connectivité, i.e. la manière dont le paysage facilite ou limite les déplacements des espèces (Taylor *et al.*, 1993).

Pour répondre à cette question, nous avons été amenés à construire une méthodologie sur mesure basée sur des analyses génétiques de populations. Afin d'évaluer les deux effets potentiels liés à l'exploitation des carrières, i.e. gain ou perte de connectivité, deux espèces cibles de comportement de déplacement distinct ont été étudiés sur six différentes zones d'études. Les résultats de ces travaux sont développés à travers trois articles présentés au fil du manuscrit.

Connectivité et carrières sont deux sujets particulièrement complexes. Afin que le lecteur puisse en intégrer les différentes facettes, ce chapitre introductif s'efforce d'en développer les principaux concepts et enjeux.

¹ La *prise en compte* est ici à considérer au sens juridique ; i.e. en termes d'opposabilité. Dans le cadre d'un document de planification, la *prise en compte* d'une information est assurée au minimum par la non méconnaissance des dispositions y faisant référence et la motivation des décisions qui se prononceraient dans un sens contraire (Syndicat Mixte du SCoT du Pays de Brocéliande, 2008).

II. Les nouveaux enjeux de la conservation de la connectivité

A. Le changement d'usage des sols constitue la première cause d'érosion de la biodiversité

Le constat dénonçant les activités anthropiques comme première cause d'érosion de la biodiversité est aujourd'hui sans appel (Rockstrom *et al.*, 2009 ; Pereira *et al.*, 2010). Le changement d'occupation des sols, i.e. le remplacement d'un milieu par un autre, se révèle comme une pression majeure jouant sur les écosystèmes. Cette pression agit principalement à travers les mécanismes de fragmentation et de réduction des habitats (Foley *et al.*, 2005 ; Lawler *et al.*, 2006 ; Fischer & Lindenmayer, 2007). Ce phénomène résulte à la fois d'un accroissement sans précédent de la taille de la population mondiale, initié depuis le 19^{ème} siècle, et de l'évolution rapide des modes de vie en termes de logement, mobilité et consommation de biens. L'urbanisation, les infrastructures de transport, l'agriculture et la sylviculture figurent ainsi parmi les premières causes de changement de l'occupation et l'utilisation des sols (Hilty *et al.*, 2006).

La perte d'habitats affecte directement la capacité d'accueil des écosystèmes, et entraîne de ce fait une réduction des tailles de populations. Les populations de démographie modeste font alors face à un risque d'extinction accru, résumé par le phénomène de vortex d'extinction : si une population voit ses effectifs réduits, la consanguinité augmentera alors que sa démographie sera instable. Face aux effets conjoints de la stochasticité environnementale (e.g. aléas climatiques), démographique et génétique (consanguinité), cette population tendra à être de nouveau réduite. Ce processus peut alors se répéter jusqu'à l'extinction totale de la population, et à terme de l'espèce (Gilpin & Soule, 1986 ; Fagan & Holmes, 2006). Au delà de l'effet sur la taille des populations, la perte d'habitat associée à la fragmentation augmente leur isolement et accroît de ce fait leur vulnérabilité à long terme : (1) face à une modification de l'habitat, les populations peuvent difficilement rejoindre des habitats refuges (e.g. changement climatique) ; (2) elles ne bénéficieront pas des phénomènes d'immigration (i.e. *rescue effect*, Brown & Kodric-Brown, 1977) ; (3) les habitats ne peuvent être (re)colonisés, limitant ainsi l'aire de répartition ; (4) l'appauvrissement génétique lié à la dérive génétique entraîne une diminution de la fitness des individus (Mitton, 1995 ; Hichings & Beebee, 1998).

A titre d'exemple, la mise en culture des Grandes Plaines d'Amérique du Nord a causé la perte de 96 % de prairie haute, de 76 % à 82 % de prairie moyenne et de 25 % de prairie rase. Cette modification drastique s'est accompagnée d'un déclin de 50 % à 75 % des effectifs d'oiseaux associés à ces habitats (Samson & Knopf, 1994 ; Loveland & Hutcheson, 1995 ; Ostlie *et al.*, 1997). De même, la

France suit une forte dynamique de changements d'occupation du sol, liée notamment à l'urbanisation artificialisant annuellement 60 000 ha de terres (Laffitte & Saunier, 2007). Conséquence directe, le patrimoine naturel français subit une forte régression : chez les mammifères, oiseaux, poissons d'eau douce, amphibiens et reptiles, les proportions d'espèces menacées atteignent respectivement 36 %, 18 %, 22 %, 33 % et 39 % (MEEDDM, 2004). En supposant un déclin de même ampleur pour les invertébrés, la France serait placée au quatrième rang mondial en termes d'espèces animales menacées (Le Corre, 2009). Le lien direct entre fragmentation et extinction locale des populations a par ailleurs été démontré par la théorie et l'expérience (Fahrig, 2003 ; Ewers & Didham, 2006 ; Swift & Hannon, 2010).

Face à ce constat, une première réponse consiste à concentrer l'effort de conservation à la désignation d'aires protégées. Ce raisonnement est à l'origine de la création des grands Parcs Nationaux (aux Etats – Unis : Yellowstone (1872), Yosemite (1890), Crater Lake (1902)... ; en France : Vanoise (1963), Pyrénées occidentales (1967), Cévennes (1970)...) et plus généralement de l'ensemble des dispositifs de zonage environnemental (Parcs Naturels Nationaux, Réserves Naturelles Régionales...). A ce jour, bien que 11,5 % du globe soient aujourd'hui protégés, ces mesures n'ont pas réussi à freiner l'érosion de la biodiversité à l'échelle mondiale (Rodrigues *et al.*, 2004). L'origine de cet échec est simple : les espaces environnant les aires protégées sont de moindre qualité pour l'espèce conservée, contraignant ainsi les individus à réaliser l'ensemble de leur cycle de vie au sein de l'aire protégée. Or, ces aires protégées offrent rarement des surfaces suffisantes pour la viabilité des espèces, et ce particulièrement dans le cas des grands carnivores (Newmark, 1987 ; 1995).

B. Les mécanismes et concepts clés liés à la connectivité

1. Le paradigme des métapopulations

L'intérêt croissant porté aux phénomènes de fragmentation et plus largement de modification de l'usage des sols a orienté la science de la conservation à s'intéresser au fonctionnement spatial des populations, c'est-à-dire leur répartition et dynamique dans l'espace. Pressenti par Levins (1969 ; 1970), le concept de métapopulation s'est rapidement imposé en définissant un groupe de populations locales au sein duquel les échanges d'individus à travers le territoire sont rendus possibles (Hanski & Simberloff, 1997). Une métapopulation doit ainsi répondre aux 4 conditions énoncées par Hanski (Hanski & Kuussaari, 1995 ; Hanski *et al.*, 1995 ; Hanski, 1999) : (1) les patchs²

² un patch (ou tâche d'habitat) est une définition structurelle d'un habitat ponctuel

d'habitats sont favorables à la reproduction de populations locales, (2) prises indépendamment les unes des autres, ces populations locales ne sont pas de taille suffisante pour assurer leur propre pérennité, (3) les patchs sont connectés par des évènements de (re)colonisation et (4) les dynamiques locales sont désynchronisées de façon à ce qu'une extinction simultanée de l'ensemble des populations est peu probable.

Sur la base de cette définition, la survie à long-terme est considérée à l'échelle régionale et non à l'unique échelle du patch d'habitat. Différents modèles décrivent le fonctionnement métapopulationnel (Levins, 1969 ; Sjögren Gulve & Ray, 1996 ; Harrison & Taylor, 1997), les plus réalistes considérant les effets de la taille du patch d'habitat, sa surface, son degré d'isolement et la qualité des territoires environnants sur les phénomènes d'extinction locale (Hanski, 1999). les processus démographiques y sont désynchronisés (Dias *et al.*, 1996) : les différentes populations peuvent jouer simultanément le rôle de source (i.e. natalité>mortalité, émigration nette positive) ou au contraire de puits (i.e. natalité<mortalité, émigration nette négative) Ce cadre théorique s'est révélé particulièrement utile pour la compréhension des dynamiques de populations réelles rencontrées par exemple chez une large majorité d'amphibiens (Harrison & Taylor, 1997 ; Smith & Green, 2005). De plus, en considérant à la fois la qualité des habitats et du paysage global, l'approche métapopulation offre un cadre méthodologique adapté aux enjeux de fragmentation et de consommation d'espace.

2. La dispersion, support des échanges entre populations

Les enjeux liés à la fragmentation soulignent l'importance de la capacité des individus à se déplacer dans un territoire donné, et donc de la dispersion (voir Baguette *et al.*, 2013 pour une synthèse). La dispersion est définie comme « tout mouvement d'individus ou de propagules ayant des conséquences potentielles sur les flux de gènes à travers l'espace » (Ronce, 2007). Les caractéristiques de ce trait d'histoire de vie³ varient selon les espèces, voire même entre individus au sein de la même espèce (Baguette & Van Dyck, 2007). Le phénomène de dispersion englobe trois processus : (1) l'émigration, (2) les transferts au sein de la matrice et (3) l'immigration, tous trois conditionnés par des déterminants propres au paysage ou à la biologie de l'espèce (Bowler & Benton, 2005; Baguette & Van Dyck, 2007 ; Clobert *et al.*, 2009). Dans la suite du manuscrit, les termes de migration, migrants et non-migrants feront référence au phénomène de dispersion effective, i.e. suivi d'un évènement de reproduction.

³ Les évènements importants au cours de la vie d'un individu qui contribuent directement à la production et à la survie des descendants forment l'histoire de vie. Tout caractère mesurable relatif à cette histoire de vie est un trait d'histoire de vie : l'âge de la maturité sexuelle, la taille de l'individu à un âge donné...

La dispersion est généralement active pour les espèces animales, passive pour les espèces végétales (sauf dispersion assurée par une espèce animale). Sa décision est liée à des pressions sélectives telles que la compétition entre apparentés et la détérioration de la qualité de l'habitat (Hamilton & Mayr, 1977). La dispersion est également liée aux caractéristiques de l'organisme et à celles de l'environnement, parmi lesquelles figurent le climat (Delattre *et al.*, 2013) ou bien encore la composition et la configuration de l'habitat. La composition de l'habitat fait référence à (1) sa nature intrinsèque, par exemple s'il constitue un milieu forestier (Michels *et al.*, 2001 ; Billot *et al.*, 2003) et (2) le contraste entre deux éléments, qui influe sur la perception des frontières (Haynes & Cronin, 2006 ; Stevens *et al.*, 2006). Au contraire, la configuration de l'habitat se rapporte à la manière dont sont agencés les différents éléments, et en particulier à leur grain, c'est-à-dire «la variabilité de leur diamètre ou de leur surface» (Forman & Godron, 1986). Ainsi, la fragmentation joue sur ces deux paramètres, et en conséquence peut entraîner une augmentation du coût de la dispersion par l'augmentation des distances de parcours au travers d'habitats de moindre qualité. L'augmentation de la dépense en temps, en énergie et du risque de prédation réduisent le succès de la dispersion, c'est à dire l'atteinte d'un habitat favorable suivi d'une reproduction (Bonte *et al.*, 2012). La fragmentation agit ainsi comme une pression sélective sur la dispersion (Baguette & Van Dyck, 2007), pouvant entraîner une réponse adaptative sur les traits morphologiques, physiologiques ou comportementaux (Schtickzelle *et al.*, 2007; Delattre *et al.*, 2010; Turlure *et al.*, 2011).

Si la dispersion constitue un processus fondamental pour la survie à long terme des populations, elle ne saurait résumer à elle-seule l'ensemble des mouvements nécessaires au cycle de vie d'une espèce. En effet, la majeure partie des déplacements sont liés à des mouvements tels que les migrations saisonnières entre habitat d'hivernage et d'estivage (Pilliod *et al.*, 2002), l'exploration de nouveaux espaces (Bowne *et al.*, 1999) où les mouvements de nourrissage (Turchin, 1991).

3. La connectivité, au centre des mécanismes de dispersion et des services écosystémiques

Le comportement de dispersion conditionne fortement les déplacements effectifs au sein d'un paysage. En réalité, ces déplacements sont le résultat à la fois des capacités de dispersion et des propriétés des habitats traversés. Cette considération a amené les écologues à définir le concept de connectivité. La connectivité comprend l'ensemble des aspects qui affectent le mouvement d'un individu au sein d'un paysage (Wiens *et al.*, 1997 ; Moilanen & Hanski, 1998; Tischendorf & Fahrig 2000). Introduite par Merriam (1984), elle est aujourd'hui définie comme « le degré avec lequel le paysage facilite ou limite les déplacements d'un organisme entre les différentes taches de ressources qu'il contient» (Taylor *et al.*, 1993). La connectivité est donc une clé de compréhension majeure des mécanismes de dispersion, et plus largement des mouvements au sein du paysage.

De ce fait, la connectivité joue un rôle central dans la production de services écosystémiques (e.g. services de production agricole : Mithcell *et al.*, 2013). Ce lien peut d'abord se concevoir comme direct. En effet, la connectivité supporte les flux biotiques et abiotiques traversant un paysage, et par conséquent conditionne les effectifs des populations en place et les taux de renouvellement des ressources abiotiques concernées (Holt, 1993; Gonzalez *et al.*, 2009). Dans l'exemple de la régulation des espèces nuisibles, l'augmentation des effectifs de prédateurs consécutive à une amélioration de la connectivité favorisera le service rendu (Tscharnke *et al.*, 2005). Cette même connectivité peut au contraire soutenir les effectifs d'autres espèces nuisibles utilisant les mêmes habitats que les prédateurs. Le mouvement même des espèces et des éléments constitue des services de régulation tels que la pollinisation ou la dispersion des graines (Kremen *et al.*, 2007). La connectivité joue également un rôle indirect sur les services rendus. Partant du principe que les services rendus peuvent être liés à l'état de conservation de la biodiversité (Cardinale *et al.*, 2012), et que la connectivité conditionne elle-même le fonctionnement et la résilience des écosystèmes (Fahrig, 2003; Gonzalez *et al.*, 2009), le lien connectivité-services est l'objet de beaucoup d'attention ou de publication ces dernières années. D'une part, une large diversité d'espèces (e.g. grandes tailles de population, forte capacité d'adaptation) est susceptible de supporter davantage de services qu'une minorité (Duffy, 2009). D'autre part, la fourniture d'un service unique sera améliorée si différentes espèces y sont impliquées. Pour illustration, le service de pollinisation est plus efficace s'il est supporté par une large communauté de pollinisateurs (Hoehn *et al.*, 2008).

4. Evaluer la connectivité : approche structure ou fonctionnelle ?

Deux approches permettent aujourd'hui d'évaluer la connectivité d'un paysage : l'approche structurelle et l'approche fonctionnelle (Tischendorf & Fahrig, 2000). L'approche structurelle s'intéresse à la continuité géométrique et l'homogénéité d'un habitat. La connectivité structurelle est mesurée par l'analyse de la structure du paysage (e.g. distance entre patch habitats) indépendamment du comportement de l'organisme étudié (Collinge & Forman, 1998). Cette approche est relativement aisée à mettre en œuvre car elle ne nécessite que des données d'occupation du sol. Le paysage est alors décrit en différentes composantes. L'élément dominant du paysage est appelé matrice (e.g. matrice agricole). Au sein d'une matrice peuvent figurer des taches ou réservoirs de biodiversité⁴, appelés également patchs. Ils correspondent aux espaces à haute valeur écologique, fournissant tout ou partie des éléments nécessaires au cycle de vie de l'espèce considérée. Les corridors assurent une liaison fonctionnelle entre ces taches en permettant le flux

⁴ Au sens du Guide 1 TVB (COMOP 2009a) : « zone vitale où les individus réalisent la plupart de leur cycle de vie ».

d'individus, de matière et d'énergie (Burel & Baudry, 2003). Ces corridors peuvent être continus (linéaire), discontinus (pas japonais) ou diffus à travers le paysage (paysager). Ces différentes composantes constituent la structure du réseau écologique (Fig. 1), défini comme un assemblage cohérent d'éléments du paysage nécessaires au maintien d'un écosystème donné ou d'une espèce donnée (Gerbeaud-Maulin & Long, 2008). Le terme « réseau écologique » sera ci-après utilisé en référence à cette unique définition, et ne devra pas être confondu avec d'autres notions (e.g. réseaux trophiques).

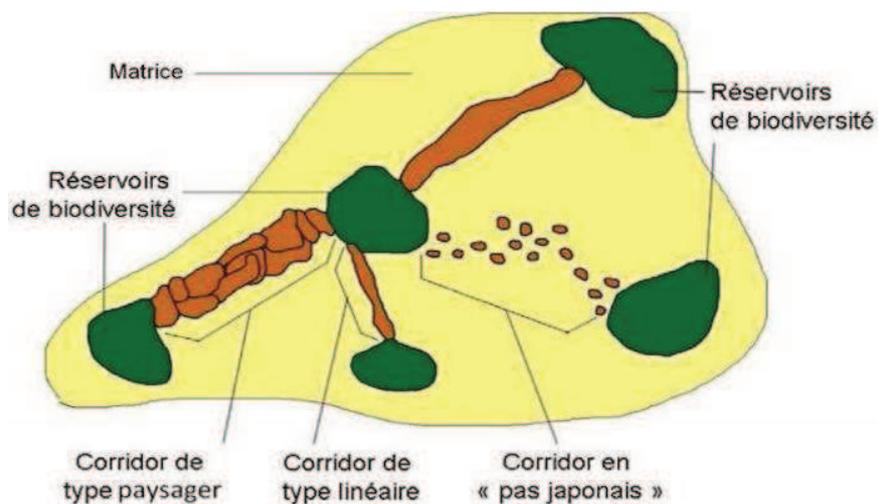


Figure 1 : Schéma structurel d'un réseau écologique (Sources : d'après Comop 2009).

En France, l'approche structurale est largement utilisée dans l'identification de corridors à l'échelle régionale et au sein des documents de planification. Celle-ci présente toutefois plusieurs limites : (1) l'impact spécifique de l'ensemble des éléments du paysage sur le comportement de dispersion de l'organisme n'est pas pris en compte (Vos *et al.*, 2001 ; Winfree *et al.*, 2005) ; (2) la matrice est systématiquement considérée comme hostile ou sans effet, alors qu'elle peut contribuer à la connectivité selon différents degrés (Ricketts, 2001) et (3) le paysage tend à être considéré comme homogène. L'isolement par la distance constitue l'analyse structurale la plus évidente, où seules les distances euclidiennes contraignent les échanges entre populations (Wright, 1943 ; Vekemans and Hardy, 2004 ; Meirmans, 2012). De nombreuses autres métriques permettent de décrire les caractéristiques structurales de la connectivité telles que la surface et densité des patchs, distance au plus proche patch voisin, degré de compacité des patchs (e.g. McGarigal & Marks, 1995 ; Pascual-Hortal & Saura, 2006).

Représentant une vision plus réaliste de la connectivité, l'approche fonctionnelle a été conçue afin d'intégrer la manière dont le comportement d'un organisme en mouvement est affecté par la structure et la composition du paysage. Elle mesure la manière dont le paysage influence les déplacements réels d'individus ou de propagules. Dépassant la vision schématique, voire binaire, de

l'approche structurelle, l'effet relatif de chaque élément du paysage est considéré de façon continue. Les frontières matrice/habitat disparaissent au profit de gradients paysagers (Concepcion *et al.*, 2008). Les métriques de connectivité fonctionnelle se rapportent davantage à la notion de résistance au mouvement (appelée également rugosité ou coefficient de friction, With, 1994 ; Wiens *et al.*, 1997) et sa perméabilité, c'est-à-dire la probabilité de traverser une frontière entre deux éléments du paysage (Stamps *et al.*, 1987 ; Wiens *et al.*, 1997 ; Jonsen & Taylor, 2000). On comprend dès lors que l'approche fonctionnelle reflète davantage la réalité des processus biologiques que l'approche structurelle. A ce titre, sa quantification est devenue un enjeu majeur de l'écologie du paysage et du mouvement (Kool *et al.*, 2013). Néanmoins, son évaluation requiert la connaissance des évènements de dispersion réellement effectués au travers du paysage, connaissance particulièrement difficile à acquérir.

C. Comment mesurer la dispersion ?

1. Les mesures directes de suivi

La dispersion est particulièrement difficile à estimer puisque qu'elle fait référence à une dynamique spatiale. Une première approche vise à suivre directement les mouvements des individus par des expériences de Capture-Marquage-Recapture (Ricketts, 2001 ; Ockinger & Smith, 2008), suivi radio ou GPS (Andreassen *et al.*, 1996 ; Ferreras, 2001 ; Driezen *et al.*, 2007) ou piégeage (Jordan *et al.*, 2007). Néanmoins, les mesures directes de dispersion apparaissent extrêmement coûteuses en temps et en énergie (Bowne & Bownes, 2004 ; Calabrese & Fagan, 2004 ; Simmons *et al.*, 2010), rendant difficile l'obtention de données de mouvements sur de longues distances, ainsi que l'estimation de distances maximales de dispersion (Hassall & Thompson, 2012). Ces mesures deviennent quasi-impossibles dans le cas d'espèces de petite taille, nocturnes, souterraines ou pour lesquelles la dispersion est majoritairement réalisée par les stades juvéniles (e.g. cas des amphibiens : Sinsch, 1997). Enfin, les observations directes de mouvements ne permettent pas de différencier les mouvements purement exploratoires des évènements de dispersion effectifs, i.e. s'accompagnant d'un succès reproducteur (Horskins *et al.*, 2006 ; Strasburg, 2006). De même, les évènements de dispersion rares sont difficilement observables par mesure directe alors qu'ils jouent un rôle essentiel dans les dynamiques de métapopulation (e.g. rescue effect). L'ensemble de ces déplacements constitue cependant la donnée la plus pertinente pour la compréhension de la connectivité du paysage et l'application de stratégies de conservation. L'ensemble de ces limites a récemment orienté les méthodes de suivi vers l'outil génétique comme estimateur des paramètres de la dispersion (Whitlock & McCauley, 1999).

2. La génétique, un puissant outil de suivi de la dispersion

Il est en effet possible de mesurer *a posteriori* la dispersion par l'analyse de marqueurs génétiques neutres (i.e. non soumis aux pressions de sélection). Un marqueur génétique est caractère qui peut varier entre individus d'une même espèce (e.g. un individu aura la forme A du marqueur alors qu'un autre individu aura la forme B). La caractérisation d'individus sur un grand nombre de marqueurs, c'est-à-dire le génotypage, permet d'estimer les différences génétiques entre individus. Or, ces différences sont associées à la quantité de flux de gènes liant les populations dont sont originaires les flux. Les flux de gènes et leur caractéristiques (quantité, direction...) sont eux-mêmes directement liés aux événements de dispersion efficaces, car ceux-ci sous entendent le transfert d'allèles d'une population locale à une autre. La génétique du paysage, i.e. l'étude des interactions entre les éléments du paysage et les processus évolutifs tels que les flux de gènes et la sélection (Manel & Holderegger, 2013) permet d'obtenir des informations indirectes sur la connectivité fonctionnelle du paysage (Sork & Waits, 2010 ; Manel *et al.*, 2013).

De très nombreux marqueurs peuvent être utilisés selon l'échelle de temps souhaitée pour l'analyse. Certains sont caractérisés par un faible taux de mutation, et sont par conséquent utilisés dans l'évaluation des mouvements de population à grande échelle spatiale et temporelle tels qu'étudiés en phylogéographie (Edwards & Beerli, 2000). Au contraire les marqueurs tels que les microsatellites bénéficient d'un taux de mutation élevé, et permettent ainsi d'évaluer les dynamiques récentes (Schlotterer, 2000). Différentes métriques peuvent en être tirées, en fonction de la question posée : (1) les indices de distances génétiques (e.g. Wright's F_{ST} (1931)) et de diversité génétique (e.g. richesse allélique, Van Loon, 2007) intègrent à la fois les flux de gènes moyennés sur plusieurs générations ainsi que les processus démographiques (Weckworth *et al.*, 2013); (2) les taux de migration récents permettent d'évaluer les flux observés sur les dernières générations, voire sur la dernière génération en date (Faubet et Gaggiotti, 2008 ; Broquet *et al.*, 2009). Enfin, le développement des techniques de séquençage de nouvelle génération ouvrent des perspectives prometteuses en termes d'études des processus de dispersion (Schwartz *et al.*, 2010). D'une part, les flux de gènes seront estimés plus finement sur la base de plusieurs milliers de marqueurs (contre quelques dizaines pour les microsatellites). D'autre part, il sera possible d'étudier des loci sous pression de sélection, et par conséquent d'étudier la réponse adaptative des individus aux modifications du paysage (Petren, 2013).

D. Evaluer la connectivité à partir des données génétiques

1. Le choix des bonnes échelles

Si la génétique offre un outil d'évaluation de la connectivité extrêmement attractif, les réponses obtenues dépendent fortement des échelles spatio-temporelles envisagées dans le plan d'expérience ainsi que de celle de la population (Clergeau & Burel, 1997 ; Gardner, 2001 ; Anderson *et al.*, 2010).

Le choix de l'échelle spatiale est étroitement lié au grain et à l'étendue du paysage étudié. Le grain correspond à la précision à laquelle les différents éléments du paysage sont définis, c'est-à-dire la taille de l'unité élémentaire du paysage (e.g. pixel d'une carte) ainsi que la finesse de la typologie des usages du sol (i.e. résolution thématique). Idéalement, le grain doit être cohérent avec l'échelle de perception de l'espèce étudiée (Baguette & Van Dyck, 2007). De la même façon, l'étendue (i.e. aire de la zone d'étude) doit être déterminée en fonction des capacités de dispersion de l'espèce considérée. Idéalement, l'étendue doit englober l'aire de dispersion potentielle des populations. Dans le cas contraire, l'intensité des flux de gènes provenant des populations extérieures à la zone d'étude sont susceptibles de masquer tout effet du paysage (Cushman & Langduth, 2010). Une certaine connaissance des distances de dispersion de l'espèce est donc indispensable à la définition du plan d'échantillonnage.

L'aspect temporel est une problématique consubstantielle à la génétique du paysage : l'effet d'une modification du paysage est rarement synchrone avec la réponse biologique, et en particulier génétique (i.e. flux de gènes et dérive génétique, Langduth *et al.*, 2010). Le décalage temporel entre l'effet du paysage et la réponse génétique varient en fonction de nombreux paramètres tels que le marqueur génétique choisi (Storfer *et al.*, 2010, Schlotterer, 2000), le comportement de dispersion de l'espèce (Flavenot *et al.*, soumis), le temps de génération (Langduth *et al.*, 2010), et la démographie contemporaine ou historique (Gauffre *et al.*, 2008 ; Schoville *et al.*, 2012). Certaines métriques génétiques telles que l'estimation des taux de migration récents (e.g. Faubet & Gaggiotti, 2008) permettent de quantifier l'effet du paysage contemporain. Dans le cas général, il est difficile de quantifier a priori le décalage temporel séparant l'effet du paysage sur les processus génétiques, ce qui nécessite généralement la prise en compte de l'historique du paysage sur plusieurs dizaines de générations (Holzhauer *et al.*, 2006).

Enfin, l'échelle à laquelle est définie la population constitue un dernier point clé. Dans le cas d'espèces suivant une distribution discrète composée de dèmes ponctuels, les phénomènes de dispersion peuvent être étudiés à l'échelle de la population. Certains amphibiens sont particulièrement adaptés à cette échelle d'étude (e.g. *Bufo calamita*, Sinsch, 1992). Au contraire, d'autres espèces sont caractérisées par une distribution continue, sans qu'il soit possible de définir a

priori les frontières entre différentes populations. Par exemple, la majeure partie des grands mammifères se rapportent à ce fonctionnement (e.g. *Cervus elaphus*, Frantz *et al.*, 2006). Il est ainsi indispensable de connaître la biologie de l'espèce et son patron de distribution avant toute analyse afin d'éviter l'application de méthodes inappropriées (Diniz-Filho & Telles, 2002).

2. L'identification des macrostructures paysagères

L'évaluation de l'effet du paysage sur la structure génétique des populations peut en premier lieu être envisagée à une grande échelle spatiale. Cette approche cherche à identifier les grandes structures paysagères qui coïncident spatialement avec des discontinuités génétiques entre populations, et s'applique particulièrement à la détection des barrières majeures au déplacement telles que les routes (Simmons *et al.*, 2010), les fleuves (Antolin *et al.*, 2006) ou le relief (Funk *et al.*, 2005). Une première famille de méthodes permet d'inférer directement ces discontinuités à partir de la distribution spatiale des fréquences alléliques : l'algorithme de Monmonier (Monmonier, 1973), les méthodes de wombling (Barjubani & Sokal, 1989) ou encore les Analyses en Composantes Principales spatialisées (i.e. ACP spatialisées) (Jombart *et al.*, 2008). D'autres approches s'inspirent davantage des techniques d'assignation en cherchant à regrouper des individus au sein d'une population génétiquement homogène, i.e. minimisant le déséquilibre d'Hardy-Weinberg et gamétique (Manel *et al.*, 2003). Les méthodes de clustering bayésien constituent des applications très répandues (e.g. STRUCTURE, Pritchard *et al.*, 2000 ; GENELAND, Guillot *et al.*, 2012 ; FLOCK, Duchesne & Tourgeon, 2012).

3. Quantifier la connectivité à fine échelle spatiale : la résistance du paysage et méthodes alternatives

La quantification de la connectivité nécessite des approches permettant non seulement d'identifier les ruptures paysagères majeures, mais également d'évaluer l'effet relatif de l'ensemble des éléments du paysage sur le comportement de dispersion. Certaines approches estiment l'effet global de chaque habitat (i.e. facilitateur ou barrière aux flux de gènes) entre paires de populations sur les flux de gènes associés (Keller & Largiadèr, 2003). D'autres approches, plus fines, consistent en l'estimation de la résistance associée à différents types d'éléments paysagers (Spear *et al.*, 2010 ; Zeller *et al.*, 2012). La résistance associée à un élément paysager est une valeur rendant compte de la manière dont cet élément facilite ou limite les déplacements d'un individu. De même qu'en théorie des circuits électriques, une forte résistance limitera les déplacements et inversement. Le paysage est alors représenté selon une carte de résistances, une valeur spécifique ayant été attribuée à chaque pixel, selon l'élément paysager qu'il représente. L'avantage de cette métrique réside en

l'objectivisation de l'effet de chaque élément sur la connectivité du paysage sur la base de valeurs aisément comparables les unes des autres.

L'évaluation de la connectivité basée sur les résistances requiert la modélisation des chemins parcourus par les individus à travers un paysage intégrant ces résistances. La réponse méthodologique la plus utilisée est sans aucun doute le chemin de moindre coût ou Least-Cost Path (LCP) (Adriaensen *et al.*, 2003). A partir d'une carte de résistances (i.e. appelé également carte de friction ou de rugosité), le LCP identifie le chemin reliant deux sites minimisant la résistance cumulée. La connectivité est alors modélisée à travers la résistance cumulée du chemin de moindre coût (Cushman *et al.*, 2006; Hagerty *et al.*, 2011) ou sa longueur (Coulon *et al.*, 2004; Kosciński *et al.*, 2009). Le LCP a été démontré comme une méthode d'estimation de la connectivité performante (Zeller *et al.*, 2012). Néanmoins, de nombreuses critiques ont été exprimées à son encontre (Sawyer, 2011). Une limite fondamentale de cet outil réside en son incapacité à intégrer la multiplicité et la structure des éléments paysagers favorables à la dispersion (McRae, 2006). Par exemple, en considérant une espèce forestière, la connectivité d'un paysage séparant deux populations sera considérée identique dans le cas d'une haie bocagère continue, de deux haies bocagères continues ou d'un véritable massif forestier. En réponse à ces limites ont été proposées des méthodes intégrant la multiplicité des chemins envisageables par les migrants (McRae, 2006; Pinto & Keitt, 2009). Une approche particulièrement intéressante a ainsi été développée par McRae (2006) sous le terme de « distance de résistance ». Cette approche s'inspire de la théorie des circuits électriques, considérant chaque pixel de la carte d'un paysage comme un nœud et faisant circuler des disperseurs dans le paysage tels qu'un courant électrique dans un circuit. De cette façon, il apparaît rapidement qu'une multiplicité de chemins favorables à la dispersion diminue la résistance globale du paysage (i.e. par analogie à la mise en dérivation de n résistances). De même, l'intensité du courant traversant une résistance est proportionnelle à son diamètre. Ainsi, en intégrant l'ensemble des chemins possibles reliant deux populations, les distances de résistances ont été montrées comme plus explicatives que l'approche LCP (McRae & Beier, 2007; Etherington *et al.*, 2013; Seymour *et al.*, 2013). Ces analyses sont menées à l'aide du logiciel CIRCUITSCAPE (McRae, 2006). D'autres approches tentent également d'estimer ces résistances par des modèles individus-centrés (Grimm & Railsback, 2005 ; Palmer *et al.*, 2010).

Si l'ensemble de ces outils permettent d'estimer les résistances cumulées des chemins reliant une paire de sites. Il n'en reste pas moins que les valeurs de ces résistances sont fixées *a priori*. Les dires d'experts sont souvent utilisés à cette fin, et ont parfois été démontrés comme expliquant significativement la structure génétique observée (Ray *et al.*, 2002; Cushman *et al.*, 2006; Spear *et*

al., 2010). Les résistances peuvent être également évaluées par des expériences et ensuite testées par des données génétiques (Stevens *et al.*, 2004 ; 2006). Néanmoins, l'obtention d'une corrélation significative pour une certaine combinaison de valeurs ne signifie pas que d'autres ne peuvent pas expliquer davantage la structure génétique observée. Afin d'obtenir des valeurs de résistances *a posteriori*, c'est idéalement l'espace entier des valeurs qui devrait être exploré. Néanmoins, il apparaît que le nombre de combinaisons augmente exponentiellement avec le nombre de valeurs et d'habitats à tester, rendant difficile l'implémentation de calibrations exhaustives. Jusqu'à présent, seuls Wang *et al.*, (2009) ont réussi à calibrer de façon exhaustive des résistances paysagères en fonction des distances génétiques. Cette approche reste néanmoins limitée à un nombre restreint d'habitats.

Enfin, la question de la calibration des résistances paysagère est intimement liée à celle des méthodes statistiques permettant de comparer toute variable paysagère avec les flux de gènes. Dans un cadre général, à partir de n populations, on obtient $n(n-1)/2$ paires de populations impliquant chacune la même population dans $n-1$ paires. De ce fait, les $n(n-1)/2$ distances paysagères et flux de gènes correspondant ne sont pas indépendants. La violation de l'hypothèse d'indépendance chère au modèle linéaire traditionnel rend impossible l'estimation du nombre de degrés de liberté, défini comme le nombre total d'observations indépendantes soustrait au nombre de paramètres estimés (Legendre & Legendre, 1998). En réponse à ces limites, Mantel (1967) a proposé une procédure visant à s'affranchir de la non-indépendance des données structurées par paires. Facile d'implémentation, cette méthode s'est largement étendue aux analyses de génétique du paysage (Cushman *et al.*, 2006 ; Storfer *et al.*, 2007, Shirk *et al.*, 2010 ; Epps *et al.*, 2013). Néanmoins, de nombreuses critiques ont récemment été adressées quant à la validité statistique d'une telle approche (Legendre & Fortin, 2010 ; Guillot & Rousset, 2013). Une des principales faiblesses du test de Mantel réside en son incapacité à intégrer correctement l'effet « population » à l'origine de la dépendance entre les paires de populations (Clarke *et al.*, 2002). Cette faiblesse peut notamment être à l'origine d'un biais dans l'évaluation de l'erreur de type I, et en particulier peut aboutir à de fausses conclusions (Guillot & Rousset, 2013). Afin de traiter de façon appropriée l'effet « population », de nouvelles approches s'intéressent aujourd'hui aux modèles mixtes (Yang, 2004 ; Selkoe *et al.*, 2010). Les modèles de maximum de vraisemblance à effet populationnel (maximum likelihood population-effects ou « MPLE ») forment un outil particulièrement prometteur (Clarke *et al.*, 2002; Blair *et al.*, 2012; Van Strien *et al.*, 2012).

E. De la théorie à la pratique : la planification des réseaux écologiques

1. Une prise en compte croissante de la connectivité au sein des politiques environnementales

La prise de conscience du rôle joué par la dispersion dans la survie à long terme des populations a permis d'incliner les politiques de conservation vers une prise en compte régionale des enjeux écologiques (Beier *et al.*, 2011). L'objectif dépasse la seule gestion focalisée sur un espace naturel ponctuel. Au contraire, l'accent est désormais mis sur l'interconnexion de ces espaces dans le cadre d'un réseau fonctionnel. L'enjeu consiste alors à augmenter la connectivité entre ces patches naturels ou semi-naturels, généralement fragmentés et entourés d'espaces fortement anthropisés (Taylor *et al.*, 1993; Crooks & Sanjayan, 2006). Néanmoins, la complexité des phénomènes biologiques impliqués dans la dispersion rend délicate la mise en œuvre des mesures de conservation : Comment planifier un réseau écologique ? De quelle manière gérer la connectivité à l'échelle d'un territoire ? Pour quelles espèces ? Face à ces questions, les échanges entre gestionnaires et scientifiques sont fondamentaux pour aboutir à des politiques cohérentes (Carroll *et al.*, 2004). Malgré ces difficultés scientifiques et techniques, de très nombreuses initiatives sont actuellement menées à l'échelle du globe.

2. Initiatives européennes et extra-européennes

a. La conservation de la connectivité en Europe

Les premières initiatives européennes se sont focalisées sur la conservation des espèces migratrices : la Convention de Ramsar (1971) et de Berne (1979) protègent les grands oiseaux migrateurs mais également les habitats qui leur sont liés. Lancé en 1992, le réseau Natura 2000 apparaît comme la première tentative de création d'un réseau écologique européen appliqué à l'ensemble des habitats et cherchant à les relier fonctionnellement (Directive Habitat n°92/43 CEE). Néanmoins, cette démarche n'explicite ni la définition des réseaux écologiques et ni les moyens de mise en œuvre.

En complément au réseau Natura 2000, la Stratégie Paneuropéenne pour la Protection de la Diversité Biologique et des Paysages a défini en 1995 les bases d'un Réseau Ecologique Paneuropéen (REP). A l'échelle de 52 pays, le REP vise à préserver et restaurer les éléments constitutifs d'un réseau écologique cohérent à travers l'Europe sur la base du réseau Natura 2000 (STRA-CO, 2003). Reprise par la Commission environnement sous le terme « d'Infrastructure Verte » ou « Green Infrastructure », cette disposition n'a cependant pas été appliquée sur l'ensemble du territoire Européen du fait de son caractère non contraignant.

b. La mise en œuvre de réseaux écologiques à l'échelle nationale

Les pays d'Europe centrale et d'Europe de l'Est ont été précurseurs dans la mise en œuvre de réseaux écologiques nationaux. L'Estonie est à ce titre le premier pays ayant lancé une telle démarche (années 1970) et l'ayant inscrit dans une politique nationale d'aménagement (1983). Suivant la même démarche, 18 autres pays contributeurs du REP ont déjà mis en œuvre un réseau écologique national (Benett & Mulongoy, 2006 ; Jongman & Kristiansen, 2002). La superficie effective de ces réseaux peut fortement varier selon les pays : par exemple, 60 % du territoire lituanien est couvert par un réseau écologique contre seulement 17 % aux Pays-Bas.

c. Quelques exemples d'initiatives extra-européennes

Loin de dresser un catalogue des nombreuses expériences internationales en matière de réseaux écologiques, nous citons ici quelques exemples majeurs. Le Projet «Terres Sauvages » (ou Wildlands Project, 1991) constitue un exemple de réseau transnational (Noss, 1992) s'étendant de l'Alaska au Mexique, intégrant différents sous-réseaux (e.g. régions des Grandes Plaines, Rocheuses, Nouveau Mexique). Le Corridor Biologique Mésoaméricain réunit 2 continents (i.e. Amérique du Nord et Amérique du Sud), 7 pays (i.e. Guatemala, Belize, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica et Panama) et 30 régions biogéographiques distinctes. Il désigne 11% du territoire en aires protégées. Ces zones nodales sont ensuite reliées par des corridors multifonctionnels gérés sur la base de projets locaux intégrant les différents utilisateurs de l'espace (Miller *et al.*, 2001).

3. Un réseau écologique français : la Trame Verte et Bleue

a. L'émergence tardive d'un projet de réseau écologique national

Contrairement à la majorité des pays européens, la France s'est investie tardivement dans la conservation des réseaux écologiques. La loi relative à la protection de la Nature (Loi n° 76-629 du 10 juillet 1976) est à l'origine de la prise en compte des écosystèmes dans les politiques d'aménagement en introduisant le concept d'études d'impact. La loi Paysage (Loi n° 93-24 du 8 janvier 1993) et son décret d'application (n° 94-283) protègent les éléments linéaires du paysage telles que les haies, sans pour autant s'intéresser à leur dimension fonctionnelle. Issus de la loi sur l'eau (Loi n° 92-3 du 3 janvier 1992), les Schémas d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SAGE) considèrent pour la première fois les réseaux fluviaux et les zones humides comme couloirs de migration. Le Schéma des Services Collectifs des Espaces Naturels et Ruraux (SSCENR) issu de la Loi d'Orientation pour l'Aménagement et le Développement Durable du Territoire (Loi n° 99-533 du 25 juin 1999) est la première réponse de l'Etat français aux orientations de la Stratégie Paneuropéenne. Elaboré par les services de l'Etat, ce schéma recense les réseaux écologiques, invitant les collectivités à les prendre en compte au sein de leur projet d'aménagement.

En l'attente d'un véritable projet national (voir ci-après), de nombreuses démarches locales ont émergé sur le territoire français. A l'échelle régionale, le Nord-Pas de Calais, l'Alsace et l'Île-de-France avaient élaboré leur propre réseau écologique avant 2010. Les régions Nord-Pas de Calais et Alsace sont particulièrement avancées dans le développement d'une politique d'aménagement s'accompagnant de moyens contractuels spécifiques. En Alsace, le budget annuel des contrats « Trame Verte et Bleue » s'élève à 400 000 € en 2010. Ces contrats peuvent couvrir jusqu'à 80 % des travaux de remise en état écologique selon leur contribution à la conservation du réseau national. L'Isère est l'unique département français à avoir mis en œuvre son propre réseau écologique : le Réseau Ecologique du Département de l'Isère (Berthoud *et al.*, 2001). Le tracé est pris en compte dans les documents d'urbanisme. La politique de désignation des Espaces Naturels Sensibles (ENS) contribue largement à la constitution de ce réseau. A l'échelle Intercommunale, les Parcs Naturels Régionaux sont des porteurs de projets très actifs sur la question des réseaux. Pour n'en citer que quelques uns, les PNR de la Vallée de Chevreuse, Oise-Pays de France, Normandie-Maine, Perche travaillent à l'identification des continuités sur leur territoire. L'Inter-Parcs Massif Central (IPAMAC) regroupant les 10 PNR du Massif Central travaille sur un projet de réseau transfrontalier parcourant les Alpes, les Pyrénées et la cordillère Cantabrique (Espagne). Les communautés de communes sont des acteurs importants dans la conservation des réseaux écologiques au sein des projets d'aménagements. Défini dans le Schéma de Cohérence Territoriale (SCoT), et de ce fait potentiellement transcrit dans le cadre des Plans Locaux d'Urbanisme (PLU), le tracé des réseaux peut être opposable aux projets d'aménagement locaux (e.g. urbanisation, infrastructures). Plus localement encore, les communes de Grenoble, Sénart, Strasbourg ou Saint-Etienne ont planifié des réseaux écologiques urbains et péri-urbains (Centre de ressources Trame Verte et Bleue, 2014).

b. La formalisation d'un réseau écologique à l'échelle nationale : la Trame Verte et Bleue

En 2004, le Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement Durable et de la Mer a identifié la création d'un réseau écologique national comme un des axes de la Stratégie Nationale pour la Biodiversité (SNB). En 2007, Le Grenelle de l'Environnement en a validé le principe et lui a donné un caractère prioritaire. Inscrite dans la loi Grenelle I (Loi 2009-967 du 3 août 2009) et Grenelle II (Loi 2010-788 du 29 mai 2010), la mise en place d'un réseau écologique national, nommé « Trame verte et bleue » (TVB) a été proposée pour contribuer à enrayer l'érosion de la biodiversité en participant à la restauration des continuités écologiques. C'est donc 30 ans après les premières expériences que la France se met en conformité avec le projet du Réseau Ecologique Paneuropéen.

La Trame Verte et Bleue vise des objectifs de conservation teintés d'une dimension multifonctionnelle (Loi 2009-967 du 3 août 2009) : (1) diminuer la fragmentation des écosystèmes et permettre la préservation de leur résilience, (2) identifier et relier les espaces importants pour la préservation de la biodiversité, (3) faciliter les échanges génétiques nécessaires à la survie des espèces, (4) prendre en compte la biologie des espèces migratrices, (5) prendre en compte la possibilité de déplacement des aires de répartition des espèces sauvages et des habitats dans le contexte du changement climatique (6) atteindre ou conserver le bon état écologique ou bon potentiel écologique des masses d'eau et (7) améliorer la qualité et la diversité des paysages.

Les espèces concernées par la démarche TVB portent le nom d'« espèces de cohérence TVB ». Des listes nationales indiquent les listes d'espèces vertébrées de cohérence TVB selon deux critères (Comolet-Tirman, 2010 ; MNHN, 2010). Le critère de représentativité régionale⁵ se base sur le poids d'une région vis-à-vis de la distribution de l'espèce à l'échelle nationale. Deuxième critère, le besoin de connectivité de l'espèce, déterminé à dire d'expert. A l'échelle régionale, les Conseils Scientifiques Régionaux du Patrimoine Naturel (CSRPN) peuvent adapter ces listes en fonction des enjeux locaux, pouvant ajouter des espèces emblématiques de la région et éliminer les espèces non pertinentes sur leur territoire. Le cas des insectes et des végétaux sera uniquement traité au niveau régional (MNHN, 2010). Complémentaire à l'approche par espèces, la TVB développe un volet habitat visant à constituer un réseau cohérent d'espaces fonctionnels pour la biodiversité constitué de « réservoirs de biodiversité » reliés entre eux par des « corridors » (Tab. 1).

Tableau 1 : Eléments du paysage intégrés par la Trame Verte et Bleue.

	Composante Verte	Composante Bleue
Réservoirs	<ul style="list-style-type: none"> ▪ tout ou partie des espaces visés aux livres III et IV du code de l'Environnement, c'est-à-dire l'ensemble des zonages environnementaux (Réserve Naturelle, Natura 2000) ▪ les espaces importants pour les espèces déterminantes TVB 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ cours d'eau, parties de cours d'eau ou canaux figurant sur les listes établies en application des dispositions de l'article L.214-17 du Code de l'Environnement, ▪ tout ou partie des zones humides dont la préservation ou la restauration contribue à l'atteinte du bon état ou du bon potentiel écologique des masses d'eau (Directive Cadre Eau), ▪ cours d'eau, parties de cours d'eau, canaux et zones humides importants pour les espèces déterminantes TVB
Corridors	<ul style="list-style-type: none"> ▪ formations végétales linéaires ou ponctuelles reliant ces espaces 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ les cours d'eau, parties de cours d'eau, canaux et zones humides reliant ces espaces

⁵ Le critère de représentativité régionale peut se résumer ainsi : pour une espèce X: P_i = pourcentage régional du territoire métropolitain pour la région i ; N_x = nombre de mailles ou cartes IGN au 50.000° occupées par l'espèce X au niveau national ; R_{xi} = nombre de mailles ou cartes IGN au 50.000° occupées par l'espèce X dans la région i ; SI $R_{xi} > (2 * N_x * P_i)$ OU SI $[(R_{xi} > N_x * P_i) \& (X \text{ est une espèce menacée dans la liste rouge nationale})]$ alors X est présélectionnée dans la région i pour le projet TVB.

Les conditions d'application de la TVB sont définies au travers trois décrets (décret n° 2011-738 du 28 juin 2011, décret n° 2012-1219 du 31 octobre 2012, décret n° 2012-1492 du 27 décembre 2012). La gouvernance s'organise autour d'un comité national de supervision et de comités régionaux chargés de la mise en œuvre de la TVB sur le terrain. La cohérence entre la stratégie nationale TVB et sa mise en œuvre régionale se base sur le respect de 5 critères de cohérence nationale (COMOP, 2009) visant à prendre en compte : (1) les listes régionales d'espèces de cohérence TVB, (2) les besoins de liaison des espaces importants pour la biodiversité, (3) les cours d'eau et zones humides déterminants pour la TVB (4) les zonages de protection ou de connaissance et (5) les enjeux écologiques suprarégionaux (i.e. entre deux régions, ainsi qu'entre une région et un pays limitrophe).

La mise en œuvre pratique de la TVB est décrite aux travers des Schémas Régionaux de Cohérence Ecologique (SRCE). Ces documents précisent le tracé des réseaux à conserver ainsi que des principales barrières au déplacement, définissent les priorités d'actions et les moyens mis en œuvre. Les choix méthodologiques, relevant généralement d'une approche structurelle, sont sous l'entière responsabilité de la région, et peuvent par conséquent différer d'une région à l'autre (Amsellem *et al.*, 2010). Les SRCE sont *pris en compte* (au sens juridique du terme) au sein des documents d'urbanisme (Directives Territoriales d'Aménagement, SCoT et PLU) au sein desquels ils peuvent devenir opposables à tout projet d'aménagement. L'adoption des SRCE est prévue pour 2014. Leur évaluation et révision est prévue sur un pas de temps de 6 ans.

4. Limites et perspectives de la planification des réseaux écologiques

L'intérêt croissant des politiques publiques porté sur la question des réseaux écologiques est un signe encourageant pour la conservation de la biodiversité. Néanmoins, la prise en compte des phénomènes complexes de dispersion au travers des schémas de planification passe nécessairement par une simplification des processus biologiques considérés. Il revient donc au scientifique d'attirer l'attention des politiques de conservation sur ces limites, puis de proposer des axes de progression méthodologique.

En premier lieu, la cartographie des réseaux écologiques se base en général essentiellement sur une approche structurelle de la connectivité, i.e. sur l'agencement spatial des éléments du paysage. Dans ce cadre, les corridors continus seront systématiquement préférés aux corridors en pas japonais. Il est néanmoins démontré que les corridors en pas japonais peuvent être davantage fonctionnels que les corridors continus, et ce en fonction des espèces et du paysage local (Gilpin, 1980 ; Haddad, 2000 ; Fischer & Lindenmayer, 2002). Autre limite, la vision binaire du paysage constitué d'habitats (i.e. le réseau écologique) et de non-habitats (i.e. la matrice) concentrera les efforts de conservation sur une partie seulement du paysage. La matrice joue cependant un rôle majeur dans la connectivité

globale d'un paysage (Baum *et al.*, 2004). De plus, un paysage est davantage hétérogène que ne le laissera croire une approche uniquement structurelle : l'existence de gradients environnementaux et la diversité des écosystèmes amènent à dépasser le concept de matrice pour une vision davantage continue du paysage (Picketts & White, 1985). Le réseau Natura 2000 constitue une illustration concrète de ces deux limites, et par conséquent a été critiqué dans ce sens (Maiorano *et al.*, 2007). En deuxième lieu, l'approche nécessairement régionale des stratégies de planification priorise généralement les actions sur la base de la maximisation du nombre d'espèces ou de populations inventoriées sur un territoire donné (Moilanen, 2007 ; Ball *et al.*, 2009). Une telle approche multicritères ne peut prendre en compte les interactions complexes entre populations et les dynamiques spatio-temporelles de la dispersion (Bowler & Benton, 2005 ; Lindborg & Eriksson, 2004). Enfin, lorsque l'approche par espèces est adoptée, le manque de connaissances des comportements de dispersion couplé aux délais de mise en œuvre des schémas favorisent le recours au dire d'experts. Cette approche a été démontrée comme pouvant aboutir à des conclusions erronées (Stevens *et al.*, 2010).

Ces limites peuvent être surmontées dans le cadre d'une démarche à la fois fonctionnelle et multi-spécifique. Baguette *et al.* (2013) ont proposé une méthodologie regroupant ces deux aspects : (1) identifier les principales composantes du paysage et définir les espèces parapluies associées (i.e. espèces représentatives d'un écosystème, et dont la conservation induit celle de l'écosystème associé, Caro *et al.*, 2005), (2) cartographier ces composantes et la localisation des populations des espèces cibles, (3) évaluer les connexions réelles entre populations par l'outil génétique, (4) proposer des mesures de conservation visant à favoriser la connectivité au niveau des connexions prioritaires. Dans le cas de conflit spatial entre deux écosystèmes distincts (e.g. forestier vs prairial), hiérarchiser les actions en fonction des statuts de conservation et recourir à des analyses de viabilité pour identifier des mesures alternatives (e.g. Morris & Doak, 2002). En France, cette démarche est actuellement expérimentée à l'échelle locale (Sordello *et al.*, 2012).

III. Carrières et connectivité : une relation complexe

A. Une activité industrielle aménageur d'espaces

1. L'extraction du granulat

Les granulats sont des éléments minéraux de petite taille (0-125 mm) destinés aux ouvrages de bâtiments et travaux publics. Après l'eau, ils constituent en termes de masse le bien naturel le plus consommé en France : 400 millions de tonnes sont en effet produites chaque année, ce qui équivaut à 7 tonnes/habitant/an (UNICEM, 2012). 25 % de la production sont destinés au marché du bâtiment tandis que les 75 % restants sont utilisés dans les activités de génie civil. Sur l'hexagone, la profession du granulat regroupe 1800 entreprises réparties sur 2740 sites (UNICEM, 2012). Les granulats sont de natures variables : roches meubles terrestres tels que les sables et graviers alluvionnaires (40% de la production), roches meubles en milieu marin (2% de la production), roches massives concassées de nature éruptive, métamorphique ou sédimentaire (55% de la production), ou issus du recyclage via les filières de démolition de bâtiment et les sous-produits industriels (3% de la production) (Fig. 2).



Figure 2 : Présentation des différents modes de production de granulats. De gauche à droite : roches massives avec organisation de la carrière en fronts de tailles, granulats marins, recyclage, roches meubles sur matériau alluvionnaire donnant naissance à un plan d'eau (Sources : Aggeris/Sablères de Laimont/mineralinfo).

L'extraction de granulats nécessite la mise à nu du substrat par décapage du sol et l'extraction du substrat minéral sur des profondeurs variables (de 5 à plusieurs dizaines de mètres). L'emprise totale de la carrière correspond à sa surface autorisée, i.e. la zone dont l'exploitation a été autorisée par arrêté préfectoral. Cette surface comprend (1) la zone non encore exploitée, (2) la zone en travaux (i.e. la zone d'extraction, la zone de traitement, la zone de stockage et la zone décapée non encore exploitée) et (3) la zone réaménagée. Si nous nous focalisons ici sur les carrières de granulats, nous rappelons que l'industrie extractive concerne une large diversité de substances minérales, e.g. gypse, la craie, ou sable siliceux pour n'en citer qu'un échantillon.

2. Une activité fortement encadrée

L'activité extractive peut impacter de nombreux aspects biotiques et abiotiques. Il s'agit d'une activité à présent bien encadrée, soumise à une réglementation de plus en plus contraignante.

En 1971 apparaît la première contrainte réglementaire spécifique aux carrières (décret N°71-792 du 20 septembre 1971), alors soumises à autorisation et assorties d'un plan de remise en état, i.e. la sécurisation, le nettoyage et l'intégration du site dans le paysage. La loi de Protection de la Nature (Loi n° 76-629 du 10 juillet 1976) instaure la procédure d'étude d'impact pour les carrières de plus de 5 ha et 150 000 T de production annuelle. Ces nouvelles obligations entrent en vigueur en 1979 et soumettent l'exploitation des carrières à études d'impact et enquête publique. Depuis 1994, toutes les carrières sont régies par la législation des Installations Classées pour la Protection de l'Environnement (ICPE). L'étude d'impact doit comprendre (1) une analyse de l'état initial du site et de son environnement portant sur le patrimoine naturel, les espaces agricoles, forestiers et de loisirs, ainsi que sur les biens matériels et le patrimoine culturel susceptibles d'être affectés, (2) une analyse des effets directs et indirects, temporaires et permanents du projet sur l'environnement : faune, flore, sites et paysages, sol, air, climat, milieux naturels et équilibres biologiques, protection des biens et du patrimoine culturel, voisinage, hygiène, santé, sécurité et salubrité publique, (3) la présentation des options envisagées et ses raisons (4) les mesures envisagées pour éviter, réduire, et éventuellement compenser les impacts résiduels et (5) le projet de remise en état décrivant les coûts et la nature des travaux, généralement associé d'un plan de réaménagement (non obligatoire) visant à donner d'autres fonctions au site post-exploitation (e.g. conservation de la biodiversité, espace de loisirs, production forestière ou agricole). La remise en état doit alors être coordonnée à l'exploitation. La remise en état doit désormais être assurée par des garanties financières.

Enfin, le décret N°2011-2019 du 29 du décembre 2011 a réformé le contenu des impacts d'impact qui se déclinent maintenant en 12 chapitres : (1) description du projet ; (2) état initial ; (3) impacts potentiels négatifs et positifs, directs et indirects, temporaires et permanents, à court, moyen et long terme l'environnement ; (4) Effets cumulés du projet avec d'autres projets connus ; (5) solutions de substitution examinées et raisons pour lesquelles le projet présenté a été retenu ; (6) compatibilité du projet avec les documents de planification, notamment prise en compte du **Schéma Régional de Cohérence Ecologique** - les travaux de cette thèse s'inscrivent, en particulier, dans la prise en compte de cette nouvelle disposition réglementaire ; (7) mesures pour éviter, réduire, compenser les effets négatifs ; (8) Remise en état ; (9) Effets sur la santé publique ; (10) Méthdologie ; (11) éventuelles difficultés rencontrées de nature technique ou scientifique ; (12) auteurs de l'étude d'impact

Les Schémas Départementaux des Carrières (SDC), bientôt actualisés à l'échelle régionale, fixent les conditions et les espaces où peut s'envisager l'activité dans le respect des mesures de protection de l'environnement. Ils sont élaborés par la Commission des Sites et des Paysages et approuvés par le préfet de Département.

B. Le rôle des carrières sur la connectivité : fragmentation, restauration ou diversification du paysage ?

1. L'extraction du granulats modifie profondément le milieu local

C'est localement que l'effet des carrières sur la connectivité peut être réellement envisagé. A l'échelle nationale, l'extraction de granulats est confidentielle (e.g. moins de 1% du territoire français, Barnaud & Le Bloch, 1998). Au contraire, au niveau du périmètre d'exploitation et des espaces adjacents, cette activité industrielle impacte profondément le milieu : le décapage du sol, l'extraction de matériaux sur de grandes profondeurs et les effets induits par cette activité (e.g. augmentation du trafic routier, de bruit et de poussière) modifient le fonctionnement physico-chimique et biotique des milieux (Clements *et al.*, 2006; Berhe, 2007; Lameed & Ayodele, 2010). La perturbation des habitats d'origine peut induire une altération importante de leur qualité, voire leur disparition. Dans le cas où la fonctionnalité de ces habitats n'a pas pu être compensée au moment de la perturbation, l'activité d'extraction peut alors être considérée comme un vecteur potentiel de fragmentation pour les espèces inféodées au milieu initial (Butcher *et al.*, 2009).

D'une manière générale, la carrière crée différents niveaux de rupture dans le paysage. La rupture est d'abord anthropique : en fonction de l'habitat initial, les pressions exercées par l'activité peuvent apparaître plus importantes (bruit, poussières, vibrations) ou au contraire plus faibles, notamment sur les délaissés. La fréquentation du public étant interdite durant l'activité de la carrière et limitée après son réaménagement (exception faite des réaménagements à vocation de loisirs), certaines zones de calme peuvent être paradoxalement créées sur le site. La rupture est également topographique : les différents reliefs induits par la carrière (fronts de taille,...) forment des habitats contrastés. Cette topographie accidentée combinée à l'exposition peut engendrer des climats locaux chauds et sec ou au contraire froids et humides (Benes *et al.*, 2003). Cette rupture climatique est particulièrement observée sur les carrières de roches massives. Le sol directement issu de l'activité d'extraction est majoritairement minéral, tassé, oligotrophe et de faible réserve utile en eau, créant une rupture édaphique. Enfin, les carrières de roches meubles et de roches massives créent généralement des zones humides et plans d'eau pouvant représenter de grandes surfaces (e.g. cas des carrières alluvionnaires). Ces nouveaux milieux créent une rupture hydrique (Kovacs, 2001)

2. Les potentialités écologiques des carrières

S'il est évident que les perturbations précitées peuvent impacter les écosystèmes, il est intéressant de souligner l'existence de potentialités écologiques propres à ces milieux industriels particuliers, à la fois sur les sites de roches meubles (Kovacs, 2001) ou de roches massives (Voetzel *et al.*, 2008).

Le milieu issu de l'activité d'extraction est généralement minéral, tassé, de faible teneur en matière organique et réserve utile, ce qui permet de maintenir les successions écologiques au stade pionnier. Si le milieu pionnier-xérophile est défavorable pour de nombreuses espèces, notamment forestières (e.g. *Bufo bufo*, Denton & Beebee, 1994 ; Romero *et al.*, 1996), il apparaît fortement attractif pour un grand nombre d'espèces spécialisées (Frain, 1991 ; Novak & Prach, 2003). Cette potentialité a été observée pour la plupart des taxons : invertébrés (Brandle *et al.*, 2000; Benes *et al.*, 2003), amphibiens (Rannap *et al.*, 2007), oiseaux (Frochot, 1993) et végétaux (Novak & Konvicka, 2006). Elle varie selon le type de matériau extrait. A titre d'exemple, les carrières de roches massives sont caractérisées par une faible productivité en biomasse et une colonisation du milieu relativement lente (Frain, 1991). Au contraire, les carrières de roches meubles présentent généralement de vastes plans d'eau et sont très productifs en biomasse. Les successions écologiques s'y enchainent sur une courte échelle de temps. Outre l'existence de milieux pionniers durant la phase d'exploitation, les zones réaménagées peuvent créer des milieux divers, souvent écologiquement fonctionnels (Kovacs, 2001; Voetzel *et al.*, 2008). A titre d'exemple, les carrières alluvionnaires donnent naissance à des plans d'eau favorables à de nombreuses espèces d'eau douce (Santoul *et al.*, 2000; 2009). D'autres réaménagements de type lande, zone humide ou forestier peuvent accueillir une importante biodiversité à travers l'Europe (Schulz & Wiegleb, 2000; Bzdon, 2008; Tropek & Konvicka, 2008). Enfin, les zones de calme des délaissés de carrières peuvent attirer des espèces sensibles aux perturbations anthropiques (e.g. Grand Corbeau, *Corvus corax* ; Quennelec, 2001).

Le grand nombre d'espèces rencontrées sur les carrières ne saurait être expliqué uniquement par les caractéristiques propres aux sites, mais également par l'historique des dynamiques paysagères régionales. En effet, les espaces issus des carrières tels que les milieux pionniers sont aujourd'hui rares. Avant la deuxième moitié du 20^{ème} siècle, ces espaces étaient répandus en milieu naturel : landes, marais gérées par l'élevage extensif, bancs de sables issus de l'hydromorphie naturelle des cours d'eau. Ces milieux ont vu leurs surfaces diminuer fortement au cours des dernières décennies en raison de la rapide intensification des usages du sol : l'agriculture (drainage et retournement des prairies), la sylviculture (plantation des landes et des zones humides) et l'urbanisation ont réduit ces milieux à des patchs isolés et de taille modeste (Thomas, 1993; Van Swaay, 2002). Très logiquement, les cortèges d'espèces inféodés à ces écosystèmes ont rapidement décliné à travers l'Europe (Thomas *et al.*, 1994 ; Lindborg & Eriksson, 2004). La survie de ces espèces a été conditionnée par leur capacité à coloniser des habitats de substitution tels que les dépendances des infrastructures linéaires (Munguira and Thomas, 1992) ou certains sites postindustriels (Frochot & Godreau, 1995, Eyre *et al.*, 2003). De la même manière, les carrières peuvent créer des zones de substitution pour ces écosystèmes en régression (Benes *et al.*, 2003, Novak & Konvicka, 2006).

Le rôle de substitution joué par les carrières peut s'illustrer au travers l'exemple du Crapaud calamite (*Bufo calamita*). Cette espèce est inféodée aux milieux pionniers tels que l'on retrouve au niveau des lits mineurs de rivières non canalisées ou des prairies humides extensives (Fig. 3). Suite aux modifications d'usage des sols, ces milieux sont devenus rares à l'état naturel, alors que les carrières ont pu recréer des milieux semblables d'un point de vue fonctionnel (Fig. 3). En réponse aux modifications du paysage, les carrières ont été peu à peu colonisées par les populations de *B. calamita*, jusqu'à constituer aujourd'hui l'habitat majoritaire de cette espèce en Estonie (45 % des habitats en 2000, Rannap *et al.*, 2007).



Figure 3 : A droite, deux exemples d'habitats du Crapaud calamite en milieu naturel : en haut, les bancs de sables et mares temporaires issus du fonctionnement hydrique naturel des cours d'eau ; en bas, les prairies humides pâturées extensivement ; à gauche, des milieux semblables issus de l'exploitation des carrières : en haut, extraction de sables et gravier en carrière alluvionnaire ; en bas, réaménagement de prairie humide en carrière alluvionnaire.

3. Les carrières face à l'enjeu de la connectivité

Les carrières jouent donc un rôle antinomique en termes de conservation par leur capacité à détruire et recréer des habitats. Ce rôle relativement bien décrit à l'échelle du site (voir ci-dessus) est néanmoins méconnu lorsqu'on se place à l'échelle du paysage.

Si l'on considère une carrière ponctuelle, comment prédire son effet sur la connectivité locale ? Cet effet pourrait être caractérisé en termes de fragmentation pour les espèces inféodées au milieu initialement perturbé et/ou sensibles aux milieux pionniers nouvellement créés (e.g. espèces forestières). Néanmoins, il est difficile *a priori* de connaître cet effet pour deux raisons : (1) la perturbation restera ponctuelle dans l'espace et le temps (contrairement aux infrastructures linéaires par exemple) et (2) la carrière est toujours constituée d'une diversité d'habitats pouvant compenser les surfaces perturbées. Sous un autre point de vue, cet effet pourrait être caractérisé en termes de création de connectivité pour les espèces inféodées aux milieux nouvellement créés (e.g. espèces pionnières). Néanmoins, ce gain de connectivité potentiel reste difficile à évaluer car (1) les milieux créés ne sont pas forcément écologiquement équivalents aux milieux naturels leur ressemblant et (2) le rôle attracteur des carrières peut favoriser un effet de puits au vu du risque de mortalité important sur les sites en activité (e.g par les activités de terrassement, le mouvement des engins,...). Par exemple, les ornières ont déjà été observées comme jouant un rôle de piège mortel pour les amphibiens lors des périodes de reproduction (Esnouf & Tommasino, 2012).

Cette question relève d'une toute autre complexité à l'échelle de plusieurs carrières. En effet, l'activité d'extraction se concentre au niveau des gisements, et peut ainsi être à l'origine d'un véritable mitage ou au contraire d'un réseau en pas japonais selon le point de vue, en particulier dans les vallées alluviales des grands bassins sédimentaires (Fig. 4) mais aussi au niveau des carrières de roches massives des plateaux sédimentaires ou des massifs anciens ou récents. Ainsi, de quelle manière l'accumulation spatiale de sites influence-t-elle la connectivité du paysage ? L'effet sera-t-il transparent, fragmentant, ou au contraire jouera-t-il en faveur d'un gain de connectivité ? Enfin, un réseau structurel de carrières peut-il constituer un véritable réseau fonctionnel ?



Figure 4 : L'effet des carrières sur la connectivité peut être envisagé à l'échelle du site ponctuel (e.g. carrières de roches massives, à gauche) ou à l'échelle du réseau de sites (e.g. carrières alluvionnaires réaménagées en plan d'eau, à droite).

Si ces questions restent ouvertes dans le domaine scientifique, elles doivent aujourd'hui être traitées par les bureaux d'étude dans le cadre de la mise en œuvre des SRCE (cf. chapitre II.E.3.). La complexité de la question ne permet pas, aujourd'hui, d'aboutir à des conclusions scientifiquement satisfaisantes. L'urgence des délais, le manque de moyens et de connaissances en matière de dispersion favorisent en effet le recours par les bureaux d'étude aux approches d'analyse structurelle de la connectivité et au dire d'expert. Ce constat appelle à la mise en œuvre de programmes de recherche dédiés, permettant d'évaluer précisément l'effet des carrières sur la connectivité.

IV. Une thèse pour évaluer l'effet des carrières sur la connectivité

A. Objectifs de la thèse

1. Contexte général

Le projet de cette présente thèse est profondément inscrit dans le contexte de la mise en œuvre de la Trame Verte et Bleue. Cherchant à maîtriser l'impact des activités de carrières au regard de la TVB, l'Union Nationale des Producteurs de Granulats (UNPG), i.e. l'organisation professionnelle regroupant les entreprises d'extraction du granulat, et le bureau d'études ENCEM ont initié un projet de recherche visant à évaluer l'effet des carrières sur la connectivité. Ce sujet a été traduit en questions scientifiques dans le cadre de la thèse, et a nécessité la construction d'une méthodologie « sur mesure ».

2. Objectifs et hypothèses

Cette thèse a pour principal objectif d'évaluer l'effet des carrières sur la connectivité du paysage. Nous avons vu que l'effet des carrières sur la connectivité du paysage pouvait être positif ou négatif en fonction de l'espèce considérée. Afin de tester et quantifier ces deux effets potentiels, la thèse cherchera donc à tester les impacts des carrières sur la connectivité de deux espèces à exigences écologiques contrastées. Outre le test de l'existence-même d'un effet en termes de fragmentation ou d'amélioration de la connectivité, il revient à déterminer quels paramètres spécifiques à la carrière jouent sur cet effet : surface, densité, nature des réaménagements ? Enfin, puisque l'effet d'un élément du paysage n'est pas absolu mais relatif au contexte paysager, cette thèse visera à quantifier l'effet des carrières sur la connectivité relativement aux autres usages du sol. Parallèlement aux précédents objectifs centrés sur la question de la carrière, cette thèse cherchera également à identifier et développer des outils méthodologiques adaptés à la quantification de l'effet d'un élément paysager ponctuel sur la connectivité.

Le test des deux effets potentiels des carrières sur la connectivité, i.e. gain ou perte de fonctionnalité, nous oblige à poser des hypothèses que nous testerons. L'activité des carrières se caractérise par le remplacement de l'habitat initial par un milieu pionnier temporaire, peu végétalisé et à dominante minérale qui présente un caractère temporaire (les milieux pionniers ainsi créés évoluent vite, en particulier pour carrières alluvionnaires, ils sont remplacés par des milieux herbacés puis arbustifs et enfin arborés dans la plupart des cas. Nous supposons donc que l'installation d'une carrière peut constituer une fragmentation, au moins temporaire, pour les espèces non adaptées à ces milieux pionniers. Les milieux forestiers peuvent être considérés comme l'extrême opposé des milieux pionniers en termes de qualité d'habitat (température, nourriture, risque de prédation...). Par hypothèse, l'effet de la carrière est donc supposé défavorable pour la dispersion des espèces inféodées au milieu forestier. Au contraire, nous émettons l'hypothèse que cet effet est favorable pour les espèces de milieu pionnier.

Du point de vue du paysage, les carrières constituent des activités ponctuelles dans le temps et l'espace. De plus, un site en activité est toujours composé d'une large diversité d'habitats. Ainsi, nous supposons que les carrières ne constitueront jamais une barrière totale aux déplacements.

B. Choix méthodologiques généraux

1. Méthode de suivi de la dispersion

A la différence de nombreux usages du sol (e.g. routes, urbanisation, champs labourés...), les carrières ne sont pas un objet normalisé : chaque site diffère en termes d'historique d'exploitation et de réaménagement. Afin de pouvoir être généralisées, les conclusions tirées de la thèse doivent donc se fonder sur un large spectre de sites et en intégrer l'historique. La nécessité d'un outil de suivi répliquable sur un grand nombre de sites et intégrant les composantes historiques du paysage ont abouti au choix de la méthode génétique. Outre la réponse aux deux contraintes précitées, la génétique présente de très nombreux intérêts méthodologiques décrits dans le chapitre II.C.2.

2. Modèle d'étude

De nos hypothèses de travail découle la recherche de deux espèces à exigences écologiques contrastées, notamment au moment de la dispersion, l'une affectionnant les milieux forestiers tandis que l'autre sera spécialiste des milieux pionniers. Afin d'évaluer l'effet de la carrière à l'échelle du paysage, les capacités de dispersion de l'espèce doivent être cohérentes avec l'étendue de la carrière (i.e. 1-3 km).

Le choix des amphibiens se révèle particulièrement adapté à ces critères méthodologiques. D'une part, ce taxon rassemble des espèces adaptées à des milieux diversifiés, notamment pionniers et forestiers (Denton & Beebee, 1994). Leur distance de dispersion moyenne correspond dans la grande majorité à l'échelle d'un site de carrière (Smith & Green, 2005). Enfin, les amphibiens sont particulièrement sensibles à la fragmentation du paysage en raison des processus de migration saisonnière entre leurs habitats terrestres et aquatiques (Pope *et al.*, 2000). La perte d'habitat et la fragmentation constituent à ce titre la principale cause d'extinction pour ce taxon (Stuart *et al.*, 2004 ; Cushman, 2006).

Le choix du Crapaud calamite (*Bufo calamita* ; Laurenti, 1768) s'est imposé en tant qu'espèce spécialisée des milieux pionniers. Endémique d'Europe centrale et de l'Ouest, cet amphibien affectionne les habitats peu végétalisés tels que les milieux dunaires, prairies rases, landes et zones d'érosion liées à la divagation des cours d'eau (Denton, 1991; Beebee, 1983; Romero & Real, 1996). La disparition progressive de ces milieux à l'état naturel a poussé le Crapaud calamite à coloniser des habitats d'origine anthropiques telles que les carrières (Rannap *et al.*, 2007). Les sols sableux lui sont davantage favorables en raison de sa capacité à s'enterrer pour réduire le risque de dessiccation (Denton & Beebee, 1994). Afin d'éviter la compétition, la reproduction a lieu dans des mares temporaires oligotrophes. Une forte fidélité au site de reproduction a pu être observée (Sinsch, 1992, 1997; Denton & Beebee, 1993). Des distances de dispersion ont été enregistrées jusqu'à 4 km (Smith & Green, 2005), les événements de dispersion étant réalisés essentiellement par les juvéniles (Sinsch, 1997). Les capacités de déplacements sont les plus efficaces en milieu ouvert, permettant une meilleure capacité de perception et donc de chasse (Stevens *et al.*, 2006). Il semblerait néanmoins que les zones boisées puissent être utilisées par les juvéniles lors de leurs déplacements (Stevens *et al.*, 2006), sans que cette observation ait pu être confirmée par d'autres études. Le temps de génération est évalué à 3 ans (Rowe *et al.*, 2000). Le déclin global des populations de *B. calamita* est principalement lié à la régression des habitats pionniers (Beebee, 1977 ; Rannap *et al.*, 2007).

Le choix du Crapaud calamite comme espèce pionnière conduit vers le choix d'une espèce forestière comparable en termes de capacités de dispersion, i.e. se déplaçant uniquement en milieu terrestre et avec des distances de dispersion équivalentes. Le Crapaud commun (*Bufo bufo* ; Linnaeus, 1758) répond à ces critères. Très largement répandu à travers l'Europe, cet amphibien est observé dans un large panel d'habitats terrestres. Néanmoins, *B. bufo* sélectionne préférentiellement le milieu forestier comme habitat et milieu de dispersion (Denton, 1991; Denton and Beebee, 1994; Hartel *et al.*, 2008; Janin *et al.*, 2009). De plus, il est particulièrement sensible aux milieux secs, ouverts et à dominante minérale où une forte mortalité a pu être observée (Denton and Beebee, 1991, Denton

and Beebee, 1994). Cette aversion pour les milieux ouverts a été confirmée à travers l'Europe (Romero & Real, 1996). Sa reproduction est davantage conditionnée au contexte paysager qu'à la qualité de la mare, soulignant de cette façon le comportement de dispersion sélectif de cette espèce (Scribner *et al.*, 2001; Hartel *et al.*, 2008). Des distances maximales de dispersion ont été observées jusqu'à plus de 3 km (Smith & Green, 2005), tandis que les migrations saisonnières sont de l'ordre de 50 à 1600 m (Glandt, 1986; Sinsch, 1988). De même que pour le Crapaud calamite, les adultes présentent une forte fidélité au site (de 79 à 96 % des adultes retournent dans la mare utilisée l'année précédente; Reading *et al.*, 1991). Cette forte philopatrie souligne l'importance du stade juvénile dans les événements de dispersion (jusqu'à 20% des juvéniles peuvent quitter leur mare d'origine, Schlupp & Podlousky, 1994; Cooke & Oldham, 1995). Le temps de génération est d'environ 3 ans (Halley *et al.*, 1996).

Outre l'intérêt de ces deux espèces au regard de nos critères méthodologiques, leur large répartition sur le territoire français ainsi que l'existence de marqueurs microsatellites déjà développés (*B. bufo* : Brede *et al.*, 2001; *B. calamita* : Rowe *et al.*, 1997; Rowe *et al.*, 2001; Rogell *et al.*, 2005) en font des espèces particulièrement adaptées à une approche de génétique du paysage.

3. Choix des sites d'étude

En raison de la large diversité des sites de carrières en termes de structure et de composition, il est indispensable d'évaluer l'effet des carrières sur des aires d'études regroupant des structures et des compositions variées. Le principal paramètre structurel à évaluer est sans aucun doute la surface impactée directement par la carrière (i.e. surfaces en extraction et réaménagées). L'influence de ce paramètre peut être testée par l'étude de réseaux de carrières de surfaces variables. Sur la question de la composition, différents modes d'extraction (i.e. roches meubles/roches massives) et de réaménagement doivent être pris en compte. Enfin, puisque l'effet d'un élément du paysage spécifique sur la connectivité dépend fortement du contexte paysager (Rayfield *et al.*, 2010), notre étude ne saurait se focaliser sur une unique aire d'étude. Cette aire d'étude doit être suffisamment large pour que l'échantillonnage ne soit pas centré sur une unique carrière, auquel cas l'influence réelle du paysage sera difficilement détectée (Oyler-McCance *et al.*, 2013).

Sur la base de ces objectifs théoriques, le choix des sites d'étude a dû se confronter aux contraintes pratiques : (1) présence des deux espèces cibles, de répartition et effectifs satisfaisants, (2) absence de barrière majeure aux déplacements séparant les points d'échantillonnages (e.g. zone urbaine dense, infrastructure linéaire...) et (3) proximité logistique de Paris. Des réseaux témoins (i.e. sans carrière) réunissant les deux espèces cibles n'ont pu être trouvés.

Sur la base de ces critères, nous avons pu sélectionner *a priori* 7 aires d'étude. Elles sont caractérisées par une dominante rurale, une topographie relativement plate et une altitude modeste (ca. 10-140m). Du nord au sud :

- (1) Anneville (A), en Seine-Maritime, présente un réseau dense de carrières alluvionnaires situé au cœur d'une boucle de Seine normande. Le paysage présente des proportions relativement équilibrées d'espace prairial, agricole et forestier.
- (2) Poses-Bouafles (P), dans l'Eure, inclut une vaste zone d'extraction alluvionnaire regroupant 4 boucles séparées par la Seine. Les deux rives sont considérées comme deux réseaux distincts. Le paysage est composé de coteaux forestiers et de plaines agricoles.
- (3) Guernes (G), dans les Yvelines, est une zone bordant la Seine en aval de Paris, et englobant une boucle de Seine exploitée en alluvionnaire ainsi que des coteaux exploités en roches massives (i.e. à destination de l'industrie du ciment). Le paysage est semblable à celui de Poses-Bouafles.
- (4) La Bassée (Ba), en Seine-et-Marne, constitue une vaste zone d'expansion des crues de la Seine. Cette aire à dominante rurale concentre une grande part des exploitations de matériaux alluvionnaires de l'Île-de-France.
- (5) Larchant (L), en Seine-et-Marne, est situé à la limite sud de la forêt de Fontainebleau, où se côtoient un important massif forestier et une vaste zone d'agriculture intensive. L'activité d'extraction concerne des roches meubles (sables siliceux de Fontainebleau pour l'industrie) et s'organise selon un chapelet peu dense de carrières.
- (6) Voves (V), en Eure-et-Loir, est situé en plein cœur de Beauce, et par conséquent présente un paysage essentiellement agricole. Les carrières de roche massive (calcaires de Beauce) y forment un réseau en pas japonais peu dense mais étendu.
- (7) Bonnée (B), dans le Loiret, englobe une vaste zone longeant la Loire à l'Est d'Orléans. Le paysage est composé de forêts et espaces agricoles en proportions équilibrées. Les carrières alluvionnaires y sont réparties en chapelets étendus.

L'espace de divagation de la Seine ayant été contrôlé de longue date par chenalisation, les aires d'études longeant la Seine sont dépourvues de dépôts alluviaux naturels. Au contraire, la Loire présente de nombreux bancs de sable et d'annexes fluviales, offrant de larges zones pionnières naturelles. En raison d'un échantillonnage insuffisant, l'aire de la Bassée a dû être abandonnée, réduisant à 6 le nombre final d'aires d'études. Leur description détaillée est présentée et cartographiée par le tableau 2 et la figure 5.

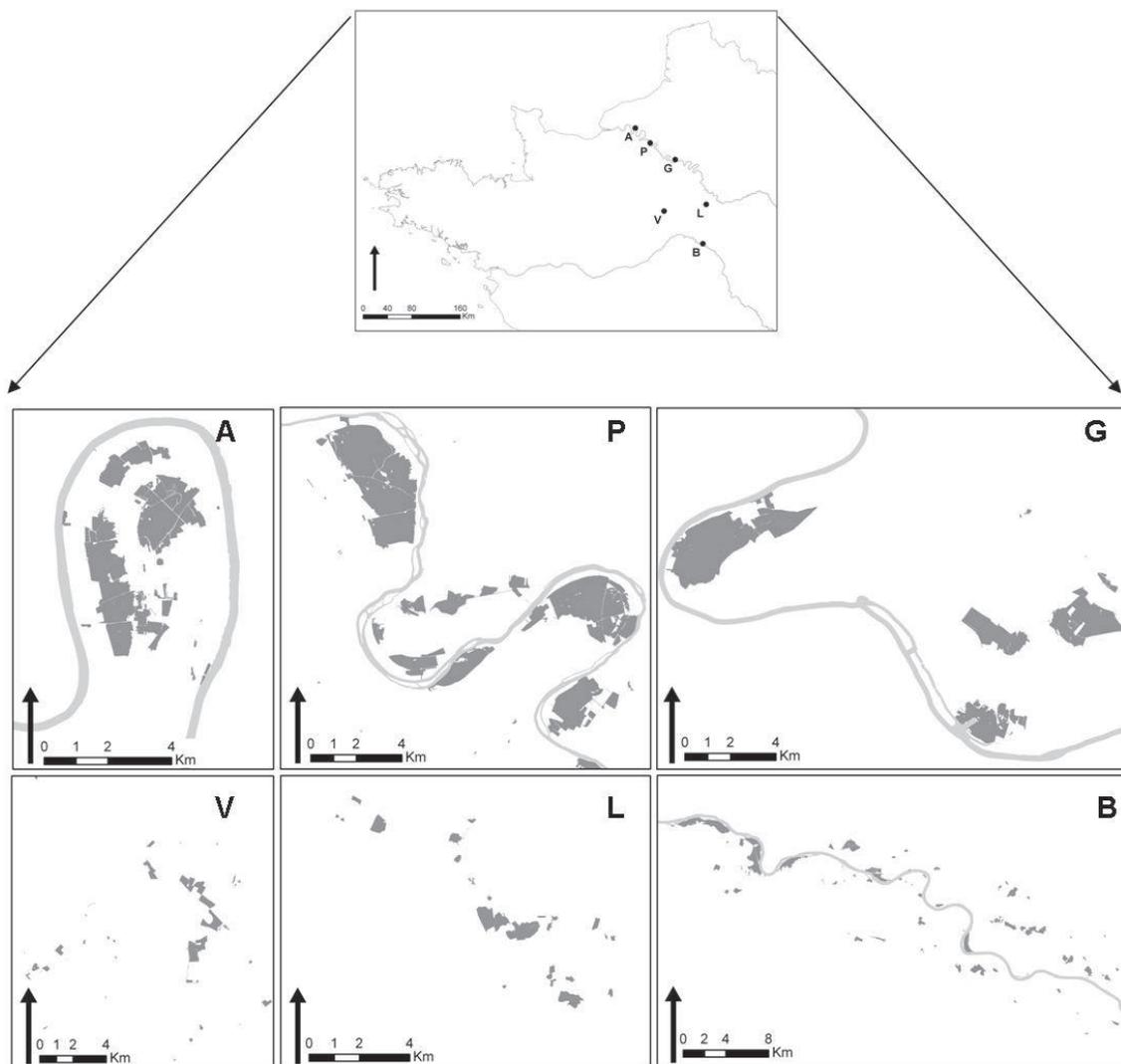


Figure 5 : Localisation des 6 aires d'études A, B, G, L, P et V ainsi que la configuration des réseaux de carrières en grisé.

Tableau 2 : description détaillée des sites d'étude. Surf: surface totale (km²); Long : longueur maximale (km); Larg : largeur minimale ; Fo, Agr, He, Urb : proportion de zones forestières, agricoles, herbacées et urbaines. Ca : surface des carrières (sites actifs et réaménagés) en 2011.

Aire	Surf (km ²)	Long (km)	Larg (km)	Fo (%)	Agr (%)	He (%)	Urb (%)	Ca ha (%)
A	48.1	10.9	5.4	33.5	18.1	16.7	8.9	1068.9 (22.3)
B	439.9	50.7	11.3	25.9	42.2	9.0	12.0	1661.9 (3.8)
G	107.9	17.1	9.7	32.8	34.2	6.7	13.0	997.1 (9.2)
L	262.1	23.3	13.0	27.1	65.6	1.8	3.2	295.1 (1.1)
P	233.9	21.5	18.3	30.8	33.1	6.6	12.0	2955.9 (12.6)
V	440.1	29.9	19,9	5.0	89.3	0.8	0.3	455.2 (1.0)

4. Echantillonnage et création de la base de données génétiques

Loin d'être exhaustif, l'échantillonnage vise essentiellement à constituer un maillage de populations englobant le réseau de carrières. Durant le printemps et le début de l'été 2011 et 2012, des œufs fécondés et têtards des deux espèces ont été prélevés au niveau des sites de reproduction respectifs,

sur site de carrière ou dans son environnement proche. Afin de minimiser les effets de parentés, les œufs ont été prélevés à partir de pontes distinctes, et les têtards à partir de différentes mares. En effet, une femelle ne donne généralement qu'une ponte par an (Denton & Beebee, 1996; Hitchings & Beebee, 1998), et la ponte est fécondée par un seul mâle (Banks *et al.*, 1994; Hitchings & Beebee, 1998). Les fragments de pontes ont été ensuite transférés en salle d'élevage du Muséum national sur le site de Brunoy (Essonne) afin d'obtenir l'éclosion des têtards à température maintenue constante à 20°C. Une fois atteint 1 cm de long, les têtards ont été euthanasiés et stockés à température ambiante dans une solution d'éthanol à 70 % (conformément aux arrêtés préfectoraux donnant dérogation à la destruction d'espèces protégées).

L'ADN a été ensuite extrait et génotypé sur la base de respectivement 10 microsatellites pour le Crapaud calamite (Rowe *et al.*, 1997; Rowe *et al.*, 2001; Rogell *et al.*, 2005) et 11 pour le Crapaud commun (Brede *et al.*, 2001). Le détail des protocoles est détaillé en Partie II. Une ultime analyse de parenté (Wang, 2004) a enfin été effectuée afin de retirer d'éventuels frères et sœurs de la base de données.

L'étape d'échantillonnage a permis la collecte de 1083 *B. bufo* et 957 *B. calamita*. L'analyse de parenté a réduit la base de données finale à 982 *B. bufo* et 735 *B. calamita*, répartis respectivement dans 51 et 39 mares (cf. Partie II). Les effectifs varient de 5 à 41 individus par population, correspondant à une moyenne de 19 individus par population.

5. Cartographie de l'occupation du sol et de son historique

La composition du paysage a été décrite selon une typologie en 19 classes d'occupation du sol regroupant les principaux regroupements typologiques d'occupation du sol du paysage intra et extra-carrières (Tab. 3). Afin de prendre en compte l'effet de l'évolution du paysage sur les processus génétiques observés, le paysage a été cartographié à 3 années distinctes séparées par environ 10 générations pour les deux espèces étudiées : années 1940 (1946-1949), années 1970 (1969-1974) et années 2000 (2003-2013) (Annexe II). L'année précise dépend de la disponibilité des données pour chaque aire d'étude (cf. Partie II). Chaque élément du paysage a été digitalisé par photo-interprétation à partir de photographies aériennes. Concernant les deux premières années (i.e. années 1940 et 1970), la cartographie a été effectuée à partir de photos en noir et blanc, d'échelle variant du 1:25000 au 1:30000 et d'une résolution de 40 cm (IGN, BD Prises de vues aériennes ©). Les paysages récents ont été décrits à partir de photographies aériennes couleurs à l'échelle 1:5000 et d'une résolution de 50 cm (IGN, BD Ortho ©).

Tableau 3 : Typologie des classes d'occupation du sol considérées dans le cadre de la thèse.

Classe d'occupation du sol	Description
<i>Paysage hors carrières</i>	
sol nu	zones sans végétation en milieu naturel et chemins de terre battue
herbacé	prairies, landes herbacées et gazon
agricole	champs labourés et zones de maraîchage
réseau ferré	-
route mineure	routes de faible trafic routier (<5000 véhicules/jours)
route majeure	routes de fort trafic routier (>5000 véhicules/jours)
urbain	toutes zones urbaines, décharges et chantiers
eau fermée	étangs, marais, fosses en eau et cours d'eau de largeur limitée (<10 m).
fleuve	grands fleuves français : Seine, Loire
boisement dense	boisements continus de ligneux > 3 m
boisement arbustif	boisements continus à dominante arbustive < 3 m
<i>Carrières</i>	
sol nu	zones sans végétation, issues de l'extraction ou du réaménagement, installation de traitement, stocks et voirie non minéralisée
herbacé	prairies, landes herbacées et gazon spontanés ou réaménagés
agricole	champs labourés et zones de maraîchage réaménagés
route	routes minéralisées sur site en activité ou réaménagement
urbain	Réaménagements urbains, décharges et routes
eau fermée	marais, fosses en eau et cours d'eau de largeur limitée (<10 m) réaménagés, plans d'eau en extraction ou réaménagés
boisement dense	boisements continus de ligneux

C. Analyses menées dans le cadre de la thèse

En vue de répondre à la question principale, i.e. donner une évaluation de l'effet des carrières sur la connectivité du paysage à travers l'exemple de deux espèces cibles, nous avons mené une démarche en trois principales étapes. Ces étapes sont détaillées au travers des trois chapitres suivants rédigés sous forme d'articles.

Au sein du Chapitre II, nous proposons d'évaluer l'effet des surfaces des différents éléments du paysage, et en particulier des carrières, sur la diversité génétique des populations de *B. bufo* et *B. calamita*. La diversité génétique constitue une mesure indirecte de la démographie d'une population et des flux de gènes la traversant. Cette métrique permet ainsi d'évaluer la qualité des éléments du paysage en termes d'habitat et de corridor. Par cette première étape, nous espérons tirer des premiers éléments de compréhension des interactions entre l'exploitation des carrières et la connectivité des populations de *B. bufo* et *B. calamita*.

Au sein du Chapitre III, nous développons une nouvelle méthode de calibration des valeurs de résistances au déplacement. L'estimation des valeurs de résistance pour chacune des occupations du sol permet d'obtenir une quantification précise du rôle joué par les carrières relativement aux autres éléments du paysage. Afin de s'affranchir du recours au dire d'expert, nous envisageons une méthode de calibration exhaustive intégrant les derniers outils proposés par la communauté scientifique : modélisation des déplacements par la théorie des circuits, modèle mixtes spécifiques intégrant l'effet « population » et algorithmes de chaînes de Markov Monte Carlo (MCMC). Cette méthode est illustrée avec l'exemple du *B. calamita* sur l'aire d'étude V.

Au sein du Chapitre IV, nous appliquons notre méthode de calibration de résistances à nos deux espèces cibles sur l'ensemble des 6 aires d'études. Cette dernière étape permettra d'évaluer le rôle des carrières sur la connectivité relativement aux autres usages du sol, et en fonction de la nature du paysage dans lequel elles s'inscrivent.

A partir de l'ensemble de ces travaux, le chapitre V visera à tirer les principaux enseignements de la thèse, ses limites et perspectives. Il sera également le lieu d'une réflexion sur les applications de ces travaux au service de la conservation de la connectivité à l'échelle des réseaux de carrières et leur condition d'intégration au sein d'une Trame Verte et Bleue fonctionnelle.

Références

- Adriaenssens F, Chardon JP, De Blust G, Swinnen E, Villalba S, Gulinck H, Matthysen E (2003) The application of 'leastresistance' modeling as a functional landscape model. *Landsc Urban Plan* 64:233–247
- Anderson CD, Epperson BK, Fortin M-J et al. (2010) Considering spatial and temporal scale in landscape-genetic studies of gene flow. *Molecular Ecology*, 19, 3565 – 3575.
- Andreassen HP, Halle S, Ims RA (1996) Optimal width of movement corridors for root voles: not too narrow and not too wide. *Journal of Applied Ecology*, 33, 63-70.
- Angelone S & Holderegger R (2009) Population genetics suggests effectiveness of habitat connectivity measures for the European tree frog in Switzerland. *Journal of Applied Ecology*. 46 : 879-887.
- Antolin M, Savage L, Eisen R (2006). Landscape features influence genetic structure of black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*). *Landscape Ecol* 21: 867–875.
- Amsallem J, M Deshayes et M Bonneville (2010) Analyse comparative de méthodes d'élaboration de trames vertes et bleues nationales et régionales. *Sciences Eaux & Territoires* 3 : 40-45.
- Banks B, Beebee TJC, Cooke AS (1994) Conservation of the Natterjack toad *Bufo calamita* in Britain over the period 1970–1990 in relation to site protection and other factors. *Biological Conservation*, 67, 111–118.
- Baguette M Et Van Dyck H (2007) Landscape connectivity and animal behavior: functional grain as a key determinant for dispersal. *Landscape Ecol* (2007) 22:1117–1129.
- Baguette M, Blanchet S, Legrand D, Stevens VM et Camille Turlure (2013) Individual dispersal, landscape connectivity and ecological networks. *Biol. Rev.* (2012), pp. 000–000.
- Ball, I. R., Possingham, H. P. & Watts, M. E. (2009). Marxan and relatives: software for spatial conservation prioritization. In *Spatial Conservation Prioritization: Quantitative Methods and Computational Tools* (eds A. Moilanen, K. A. Wilson and H. P. Possingham), pp. 185–195. Oxford University Press, Oxford.
- Barbujani, G. and Sokal, R. (1989) Zones of sharp genetic change in Europe are also linguistic boundaries. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 1816–1819
- Barnaud G. et Le Bloch F. 1998. *Entre Terre et Eau, Agir pour les zones humides*, Dossier d'information. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement, Paris, France.
- Baum KA, Haynes KJ, Dilleuth FP, et JT Cronin (2004) The matrix enhances the effect of corridors and stepping stones. *Ecology*, 85(10) 2671–2676
- Beebee TJC (1977) Environmental change as a cause of natterjack toad (*Bufo calamita*) declines in Britain. *Biological Conservation* 11 : 87-102
- Beebee TJC (1983) *The Natterjack Toad*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Benes JI, Kepka P et Konvika M (2003) Limestone Quarries as Refuges for European Xerophilous Butterflies. *Conservation Biology*, 17 : 1058–1069.
- Berhe, A. A. 2007. The contribution of landmines to land degradation. *Land Degradation & Development* 18: 1–15. DOI: 10.1002/ldr.754
- Beier, P., Spencer, W., Baldwin, R. F. & MCrae, B. H. (2011). Toward best practices for developing regional connectivity maps. *Conservation Biology* 25, 879–892.
- Bellamy PE, Rothery P, Hinsley SA (2003) Synchrony of woodland bird populations: the effect of landscape structure. *Ecography*, 26, 338-348.
- Benett G et Mulongoy KJ (2006) Review of experience with ecological networks, corridors and buffer zones. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal, Technical Series n°.23, 100 pp.
- Berthoud G, Lechartoer S et P Latty (2001) *Projet de réseau écologique départemental de l'Isère*. 74 pp.
- Blair C, Jiménez Arcos VH, Mendez de la Cruz FR, Murphy RW (2013) Landscape Genetics of Leaf-Toed Geckos in the Tropical Dry Forest of Northern Mexico. *PLoS ONE* 8(2): e57433. doi:10.1371/journal.pone.0057433
- Billot C, Engel CR, Rousvoal S, Kloareg B et Valero M (2003) Current patterns, habitat discontinuities and population genetic structure: the case of the kelp *Laminaria digitata* in the English Channel. *Marine Ecology Progress Series*, 253, 111–121.
- Bonte, D., Van Dyck, H., Bullock, J. M., Coulon, A., Delgado, M., Gibbs, M., Lehouck, V., Matthysen, E., Mustin, K., Saastamoinen, M., Schtickzelle, N., Stevens, V. M., Vandewoestijne, S., Baguette, M., Barton, K., Benton, T. G., Chaput-Bardy, A., Clobert, J., Dytham, C., Hovestadt, T., Meier, C. M., Palmer, S., Turlure, C. & Travis, J. M. J. et al. (2012). Costs of dispersal. *Biological Reviews* 87, 290–312.
- Bowler, D. E. & Benton, T. G. (2005). Causes and consequences of animal dispersal strategies: relating individual behaviour to spatial dynamics. *Biological Reviews* 80, 205–225.

- Bowne DR, Peles JD et GW Barrett (1999) Effects of landscape spatial structure on movement patterns of the hispid cotton rat (*Sigmodon hispidus*). *Landscape Ecology* 14:53–65
- Bowne DR et Bownes MA (2004) Interpatch movements in spatially structured populations: a literature review. *Landscape Ecology* 19:1–20.
- Brede EG, Rowe G, Trojanowski J and Beebee TJC (2001). Polymerase chain reaction primers for microsatellite loci in the common toad *Bufo bufo*. *Molecular Ecology Notes* 1, 308–310.
- Brown, J. A. & Kodric-Brown, A. (1977). Turnover rates in insular biogeography: effect of immigration on extinction. *Ecology* 58, 445–449.
- Broquet T, Yearsley J, Hirzel AH, Goudet J et Perrin N (2009) Inferring recent migration rates from individual genotypes. *Molecular Ecology* 18, 1048–1060
- Burel F et J Baudry (2003) *Landscape Ecology: Concepts, Methods, and Applications*. Science Publishers
- Butcher PA, McNee SA et Krauss SL (2009) Genetic impacts of habitat loss on the rare ironstone endemic *Tetratheca paynterae* subsp. *Paynterae Conserv Genet* (2009) 10:1735–1746.
- Bzdon, G. 2008. Gravel pits as habitat islands: floristic diversity and vegetation analysis. *Polish Journal of Ecology* 56:239-250.
- Calabrese JM et Fagan WF (2004) A comparison-shopper's guide to connectivity metrics. *Front Ecol Environ* 2(10): 529–536.
- Cardinale BJ, Duffy JE, Gonzalez A, Hooper DU, Perrings C, Venail P, Narwani A, Mace GM, Tilman D, Wardle DA, Kinzig AP, Daily GC, Loreau M, Grace JB, Larigauderie A, Srivastava D, Naeem S. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* 486:59–67.
- Caro, T. M., Eadie, J. & Sih, A. (2005). Use of substitute species in conservation biology. *Conservation Biology* 19, 1821–1826.
- Carroll C, Noss RF, Paquet PC, Schumaker NH (2004) Extinction debt of protected areas in developing landscapes. *Conservation Biology*, 18, 1110-1120.
- Centre de ressources Trame Verte et Bleue, 02/01/2014 <http://www.trameverteetbleue.fr/>
- Clarke RT, Rothery P, Raybould AF (2002) Confidence limits for regression relationships between distance matrices: estimating gene flow with distance. *Journal of Agricultural Biological and Environmental Statistics*, 7, 361–372.
- Clements R, Sodhi NS, Schiltuizen M, et KLNG Peter (2006) Limestone Karsts of Southeast Asia: Imperiled Arks of Biodiversity. *BioScience* 56 : 733-742
- Clergeau P et F Burel (1997) The role of spatio-temporal patch connectivity at the landscape level: an example in a bird distribution. *Landscape and urban planning*. 38:37-43
- Clobert, J., Le Galliard, J. F., Cote, J., Meylan, S. & Massot, M. (2009). Informed dispersal, heterogeneity in animal dispersal syndromes and the dynamics of spatially structured populations. *Ecology Letters* 12, 197–209.
- Collinge SK et Forman RTT (1998) A conceptual model of land conversion processes – predictions and evidence from a microlandscape experiment with grassland insects. – *Oikos* 82: 66–84
- Comolet-Tirman J (2010) Méthodologie de sélection des espèces déterminantes TVB pour l'avifaune. Document de travail du MNHN, février 2010
- COMOP « Trame verte et bleue » (2009) Guide 2 : Appui méthodologique à l'élaboration régionale de la Trame Verte et Bleue.
- Concepcion ED, Diaz M et RA Baquero (2008) Effects of landscape complexity on the ecological effectiveness of agri-environment schemes. *Landscape Ecol* 23:135–148
- Cooke A.S. and Oldham R.S. 1995. Establishment of populations of the common frog, *Rana temporaria*, and common toad, *Bufo bufo*, in a newly created reserve following translocation. *Herpetological Journal* 5: 173–180.
- Coulon A, Cosson JF, Angibault JM, Cargnelutti B, Galan M, Morellet N, Petit E, Aulagnier S et Hewison AJM (2004) Landscape connectivity influences gene flow in a roe deer population inhabiting a fragmented landscape: an individual- based approach. *Mol. Ecol.* 13: 2841–2850.
- Cushman SA, McKelvey KS, Hayden J, Schwartz MK (2006) Gene flow in complex landscapes: testing multiple hypotheses with causal modeling. *American Naturalist*, 168, 486-499.
- Cushman SA (2006) Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus. *Biological Conservation* 128: 231-240.
- Cushman SA, Landguth EL (2010) Scale dependent inference in landscape genetics. *Landscape Ecology*, 25, 967–979.
- Crooks KR, Sanjayan M (2006) Connectivity conservation: maintaining connections for nature. In: *Connectivity conservation* (eds. Crooks KR, Sanjayan M), pp. 1-20. Cambridge University Press, New York, USA.
- Delattre, T., Burel, F., Humeau, A., Stevens, V. M., Vernon, P. & Baguette, M. (2010). Dispersal mood revealed by shifts from routine to direct flights in the meadow brown butterfly *Maniola jurtina*. *Oikos* 119, 1900–1908.
- Delattre T, Baguette M, Burel F, Stevens VM, Quenol H et P Vernon, P (2013) Interactive effects of landscape and weather on dispersal. *Oikos*. 122: 1576-1585
- Denton J.S. 1991. The terrestrial ecology of the natterjack *Bufo calamita* and the common toad, *Bufo bufo*. PhD thesis, University of Sussex.

- Denton JS, Beebee TJC (1993) Reproductive strategies in a female biased population of Natterjack toads, *Bufo calamita*. *Animal Behaviour*, 46, 1169–1175.
- Denton J. S. and T. Beebee 1994. The basis of niche separation during terrestrial life between two species of toad *Bufo bufo* and *Bufo calamita*: competition or specialisation? *Oecologia* 97:390-398.
- Dias P (1996). Sources and sinks in population biology. *Trends in Ecology & Evolution* 11 (8), 326–330.
- Diniz-Filho JAF, Telles MPC (2002) Spatial autocorrelation analysis and the identification of operational units for conservation in continuous populations. *Conservation Biology*, 16, 924–935.
- Duchesne P, Turgeon J (2012) FLOCK Provides Reliable Solutions to the "Number of Populations" Problem *Journal of Heredity* 2012
- Duffy JE. 2009. Why biodiversity is important to the functioning of real-world ecosystems. *Front Ecol Environ* 7:437–44
- Edwards SV & Beerli P (2010) Perspective: Gene divergence, population divergence, and the variance in coalescence time in phylogeographic studies. *Evolution*, 54 : 1839–1854
- Epps CW, Wehausen JD, Bleich VC, Torres SG et Nrashares JS (2007) Optimizing dispersal and corridor models using landscape genetics. *Journal of Applied Ecology* 44 , 714–724
- Esnouf S et J Tommasino (2012) Déclinaison régionale du plan national d'actions Sonneur à ventre jaune en Auvergne 2013- 2017. Conservatoire d'espaces naturels d'Auvergne, DREAL Auvergne. 65p.
- Etherington TR, Holland EP (2013) Least-resistance path length versus accumulated-resistance as connectivity measures. *Landscape Ecol* (2013) 28:1223–1229
- Ewers, R. M. & Didham, R. K. (2006). Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. *Biological Reviews* 81, 117–142.
- Driezen K, Adriaensen F, Rondinini C, Doncaster CP, Matthysen E (2007) Evaluating least-cost model predictions with empirical dispersal data: a case-study using radiotracking data of hedgehogs (*Erinaceus europaeus*). *Ecological Modelling*, 209, 314-322.
- Epps CW, Wehausen JD, Bleich VC, Torres VG et JS Brashares (2007) Optimizing dispersal and corridor models using landscape genetics. *Journal of Applied Ecology* 2007 44 , 714–724
- Epps CW, Wasser SK, Keim JL, Mutayobas BM and Brashares JS (2013) Quantifying past and present connectivity illuminates a rapidly changing landscape for the African elephant. *Molecular Ecology* 22, 1574–1588
- Eyre MD, Luff ML, Woodward JC. 2003. Beetles (Coleoptera) on brownfield sites in England: An important conservation resource? *Journal of Insect Conservation* 7: 223–231. DOI: 10.1023/B:JICO.0000021020.66549.1e
- Fagan, W. F. & Holmes, E. E. (2006). Quantifying the extinction vortex. *Ecology Letters* 9, 51–60.
- Faubet, P. & Gaggiotti, O. E. (2008). A new bayesian method to identify the environmental factors that influence recent migration. *Genetics* 178, 1491–1504.
- Ferreras P (2001) Landscape structure and asymmetrical inter-patch connectivity in a metapopulation of the endangered Iberian lynx. *Biological Conservation*, 100, 125-136.
- Fahrig, L. (2003). Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34, 487–515.
- Fischer, J., and D. B. Lindenmayer. 2002. The conservation value of paddock trees for birds in a variegated landscape in southern New South Wales. 2. Paddock trees as stepping stones. *Biodiversity and Conservation* 11:833–849.
- Fischer J et Lindenmayer DB (2007) Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Glob Ecol Biogeogr* 16:265– 280.
- Foley, J. A., DeFries, R., Asner, G. P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S. R., Chapin, F. S., Coe, M. T., Daily, G. C., Gibbs, H. K., Helkowski, J. H., Holloway, T., Howard, E. A., Kucharik, C. J., Monfreda, C., Patz, J. A., Prentice, I. C., Ramankutty, N., & Snyder, P. K. et al. (2005). Global consequences of land use. *Science* 309, 570–574.
- Forman et Godron (1986) *Landscape ecology*. Wiley & sons.
- Frain M (1991) Approche phytosociologique de la dynamique des végétations primaires sur roches artificiellement dénudées en Auvergne, Velay et Limousin. Thèse de l'Université de Clermont-Ferrand II, 151 p.
- Frantz AC, Tigel Pourtois J, Heuertz M, Schley L, Flamand MC, Krier A, Bertouille S, Chaumont F et T Burke (2006) Genetic structure and assignment tests demonstrate illegal translocation of red deer (*Cervus elaphus*) into a continuous population. 15 (11) : 3191–3203
- Frochot B et Godreau V (1995) Intérêt écologique des carrières, terrils et mines. *Natures-Sciences-Sociétés, Hors-série* : 66-76.
- Frochot B (1993) Intérêt ornithologique des carrières sèches, objectifs et conditions de réaménagements. Actes des journées techniques AFIE, 7-8 oct. 1993, «Les pratiques du génie écologique - L'aménagement et la réhabilitation écologique des carrières sèches» : 45-51.
- Funk WC, Blouin MS, Corn PS, Maxell BA, Pilliod DS, Amish S et al. (2005). Population structure of Columbia spotted frogs (*Rana luteiventris*) is strongly affected by the landscape. *Mol Ecol* 14: 483–496.
- Gardner RH (2001). *Scaling Relations in Experimental Ecology*. Columbia University Press: New York.

- Gauffre B, Estoup A, Bretagnolle V et JF Cosson (2008) Spatial genetic structure of a small rodent in a heterogeneous landscape. *Molecular Ecology* 17, 4619–4629
- Gerbeaud-Maulin F et Long M (2008) La fragmentation des milieux naturels – Etat de l’art en la matière d’évaluation de la fragmentation des milieux naturels. Rapport Direction Régionale de l’Environnement Provence Alpes Côte d’Azur 73 pp.
- Gilpin, M. & Soule, M. E. (1986). Minimum viable populations: processes of species extinction. In *Conservation Biology. The Science of Scarcity and Diversity* (ed. M. E. Soule), pp. 19–34. Sinauer, Sunderland.
- Gilpin, M. E. 1980. The role of stepping-stone islands. *Theoretical Population Biology* 17:247–253.
- Glandt, D. 1986. Die saisonalen wanderungen der mitteleuropaischer amphibien. *Bonn. zool. Beitr.* 37. 3: 211–228.
- Gonzalez A, Mouquet N, Loreau M. 2009. Biodiversity as spatial insurance: the effects of habitat fragmentation and dispersal on ecosystem functioning. In: Naeem S, Bunker DE, Hector A, Loreau M, Perrings C, Eds. *Biodiversity, ecosystem functioning, and human wellbeing*. New York: Oxford University Press. p 134–46.
- Grimm V, Railsback SF (2005) *Individual-based modeling and ecology*. Princeton University Press, Princeton
- Guillot G, Renaud S, Ledevin R, Michaux J, Claude A (2012) Unifying Model for the Analysis of Phenotypic, Genetic and Geographic Data. *System Biol* 61:897–911
- Guillot, G. and F. Rousset, 2013. Dismantling the Mantel tests. *Methods in Ecology and Evolution* 4:336–344.
- Haddad, N. M. 2000. Corridor length and patch colonization by a butterfly, *Junonia coenia*. *Conservation Biology* 14: 738–745.
- Hagerty BE, Nussear KE, Esque TC, Tracy CR (2011) Making molehills out of mountains: landscape genetics of the Mojave desert tortoise. *Landscape Ecology*, 26, 267–280.
- Halley, J. W., Oldham, R. S. and Arntzen, J. W. 1996. Predicting the persistence of amphibian populations with the help of a spatial model. – *J. Appl. Ecol.* 33: 455–470.
- Hamilton, W. D. & Mayr, R. M. 1977 Dispersal in stable habitats. *Nature* 269, 578–581.
- Hanski, I. 1999. *Metapopulation ecology*. Oxford Univ. Press.
- Hanski, I. and Kuussaari, M. 1995. Butterfly metapopulation dynamics. In: Cappuccino, N. and Price, P. W. (eds), *Population dynamics: new approaches and synthesis*. Academic Press, pp. 149–171.
- Hanski, I. et al. 1995. Metapopulation persistence of an endangered butterfly in a fragmented landscape. *Oikos* 72: 21–28.
- Hanski, I. & Simberloff, D. (1997). The metapopulation approach, its history, conceptual domain, and application to conservation. In *Metapopulation Biology. Ecology, Genetics, and Evolution* (eds I. Hanski and M. Gilpin), pp. 5–26. Academic Press, San Diego.
- Harrison, S. and Taylor, A. D. 1997. Empirical evidence for metapopulation dynamics. In: Hanski, I. and Gilpin, M. (eds), *Metapopulation biology: ecology, genetics and evolution*. Academic Press, p. 512.
- Hartel T, Nemes S, Demeter L and Oellerer K (2008) Pond and landscape characteristics - which is more important for common toads (*Bufo bufo*)? A case study from central Romania. *Applied Herpetology* 5 (1) 1–12.
- Hassall C, Thompson DJ (2012) Study design and mark-recapture estimates of dispersal: a case study with the endangered damselfly *Coenagrion mercuriale*. *Journal of Insect Conservation*, 16, 111–120.
- Haynes KJ, Cronin JT (2006) Interpatch movement and edge effects: the role of behavioral responses to the landscape matrix. *Oikos* 113:43–54.
- Hilty JA, Lidicker WZ et Merenlender AM (2006) *Corridor ecology*. Island Press, 323 pp.
- Hitchings SP et Beebee TJC (1998) Loss of genetic diversity and fitness in Common toad (*Bufo bufo*) populations isolated by inimical habitat. *T. evol. Boil.* 11 : 269–283.
- Hoehn P, Tscharrntke T, Tylianakis JM, Steffan-Dewenter I. 2008. Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield. *Proc Biol Sci* 275:2283–91.
- Holt RD. 1993. Ecology at the mesoscale: the influence of regional processes on local communities. In: Ricklefs RE, Schluter D, Eds. *Species diversity in ecological communities*. Chicago: University of Chicago Press. p 77–88.
- Holzhauser SIJ, Ekschmitt K, Sander AC, Dauber J, Wolters V (2006) Effect of historic landscape change on the genetic structure of the bush-cricket *Metrioptera roeseli*. *Landscape Ecology*, 21, 891–899.
- Horskins K, Mather PB et Wilson JC (2006) Corridors and connectivity: when use and function do not equate. *Landscape Ecology*, 21, 641–655.
- Janin A., J. P. Léna, N. Ray, C. Delacourt, P. Allemand and P. Joly 2009. Assessing landscape connectivity with calibrated cost-distance modelling: predicting common toad distribution in a context of spreading agriculture. *Journal of Applied Ecology* 46 :833–841
- Jombart T, Devillard S, Dufour AS et Pontier D (2008) Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. *Heredity* (2008) 101, 92–103
- Jongman RHG et Kristiansen IB (2002) *Approches nationales et régionales pour les réseaux écologiques en Europe*. Rapport Conseil de l’Europe. 96 pp.

- Jordan F, Magura T, Tothmeresz B, Vasas V, Kodobocz V (2007) Carabids (Coleoptera: Carabidae) in a forest patchwork: a connectivity analysis of the Bereg Plain landscape graph. *Landscape Ecology*, 22, 1527-1539.
- Jonsen I et Taylor PD (2000) Fine-scale movement behaviors on calopterygid damselflies are influenced by landscape structure: an experimental manipulation. *Oikos* 88: 553–562.
- Keller I et CR Largiadèr (2003) Recent habitat fragmentation caused by major roads leads to reduction of gene flow and loss of genetic variability in ground beetles
- Keyghobadi N, Roland J et Strobeck C (2005) Genetic differentiation and gene flow among populations of the alpine butterfly, *Parnassius smintheus*, vary with landscape connectivity. *Molecular ecology* 14 : 1897-1909.
- Klug PE, Wisely SM, With KA (2011) Population genetic structure and landscape connectivity of the Eastern Yellowbelly Racer (*Coluber constrictor flaviventris*) in the contiguous tallgrass prairie of northeastern Kansas, USA. *Landscape Ecol* 26:281–294
- Kool JT, Moilanen A et EA Treml (2013) Population connectivity: recent advances and new perspectives. *Landscape Ecol* 28:165–185
- Koscinski D, Yates AG, Handford P, Lougheed SC (2009) Effects of landscape and history on diversification of a montane, stream-breeding amphibian. *Journal of Biogeography*, 36, 255-265.
- Kovacs J.C. 2001 Le patrimoine écologique des zones humides issues de l'exploitation des carrières. Etude Ecosphère- Comité Nationale de la Charte Environnement de l'UNPG. 9 septembre 2001.
- Kremen C, Williams NM, Aizen MA, Gemmill-Herren B, LeBuhn G, Minckley R, Packer L, Potts SG, Roulston T, Steffan- Dewenter I, Vazquez DP, Winfree R, Adams L, Crone EE, Greenleaf SS, Keitt TH, Klein A-M, Regetz J, Ricketts TH. 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecol Lett* 10:299–314.
- Laffitte P et Saunier C (2007) Les apports de la science et de la technologie au développement durable, Tome II : La biodiversité : l'autre choc ? L'autre chance ? Rapport fait au nom de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques n° 131 (2007-2008).
- Lameed GA and Ayodele AE (2010) Effect of quarrying activity on biodiversity: Case study of Ogbere site, Ogun State Nigeria. *African Journal of Environmental Science and Technology* 4 : 740-750
- Landguth EL, Cushman SA, Schwartz MK, et al. (2010) Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Molecular Ecology*, 19, 4179-4191.
- Lawler, J. J., Aukema, J. E., Grant, J. B., Halpern, B. S., Kareiva, P., Nelson, C. R., Ohleth, K., Olden, J. D., Schlaepfer, M. A., Silliman, B. R. & Zaradic, P. (2006). Conservation science: a 20-year report card. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4, 473–480.
- Le Corre JB (2009) Prendre en compte la biodiversité dans l'aménagement du territoire : la mise en place de la Trame Verte et Bleue. Rapport AgroParisTech – ENGREF, Master Développement local et Aménagement du territoire, 93 pp.
- Legendre P, Legendre L (1998) Numerical ecology. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Legendre, P. and M.-J. Fortin, 2010. Comparison of the Mantel test and alternative approaches for detecting complex multivariate relationships in the spatial analysis of genetic data. *Molecular Ecology Resources* 10:831 -844.
- Levins, R. 1969. Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 15: 237_/240.
- Levins, R. 1970. Extinction. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 15: 75_/107.
- Lindborg R, Eriksson O. 2004. Historical landscape connectivity affects present plant species diversity. *Ecology* 85: 1840–1845.
- Loveland TR et Hutcheson HL (1995) Monitoring changes in landscapes from satellite imagery. In *Our living resources. A report to the nation on the distribution, abundance and health of U.S. plants, animals and ecosystems*, eds. LaRoe ET, Farris GS, Puckett CE, Doran PD et Mac MJ, 468_473. Washington, DC : U.S. Department of the Interior National Biological Service.
- Maiorano L, Falcucci A, Garton EO, Boitani L (2007) Contribution of the natura 2000 network to biodiversity conservation in Italy. *Conservation Biology*, 21, 1433-1444.
- Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends Ecol Evol* 18: 189–197.
- Manel S & Holderegger R (2013) Ten years of landscape genetics. *Trends in Ecology & Evolution* xx (2013) 1–8
- Manly BF (1994) *Multivariate Statistical Methods. A primer*. Second edition Chapman & Hall, London, 1994
- Mantel N (1967) Detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27, 209-220.
- McGarigal, K., and B.J. Marks. 1995. FRAGSTATS: spatial pattern analysis program for quantifying landscape structure. Gen. Tech. Report PNW-GTR-351, USDA Forest Service, Pacific Northwest Research Station, Portland, OR.
- McRae, B. H. (2006). Isolation by resistance. *Evolution* 60, 1551–1561.
- McRae BH, Beier P (2007) Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 104, 19885–19890.

- MEEDDM (2004) Stratégie Nationale pour la Biodiversité : enjeux, finalité, orientations. Rapport MEEDDM, 49 pp.
- Meirmans, P. G., 2012. The trouble with isolation by distance. *Molecular Ecology* 21:2839-2846.
- Merriam G (1984) Connectivity: a fundamental ecological characteristic of landscape pattern. – In: Brandt, J. and Agger, P. (eds), Proceedings of the 1st international seminar on methodology in landscape ecological research and planning. Roskilde Univ., Denmark, pp. 5–15.
- Meeuwig MH, Guy CS, Kalinowski ST, Fredenberg WA (2010) Landscape influences on genetic differentiation among bull trout populations in a stream-lake network. *Molecular Ecology*, 19, 3620–3633.
- Michels E, Cottenie K, Neys L et al. (2001) Geographical and genetic distances among zooplankton populations in a set of interconnected ponds: a plea for using GIS modeling of the effective geographical distance. *Molecular Ecology*, 10, 1929–1938.
- Miller K, Chang E, et Johnson N (2001) Defining Common Ground for the Mesoamerican Biological Corridor. Washington, DC: World Resources Institute.
- Mitchell MGE, Bennett EM et A Gonzalez (2013) Linking Landscape Connectivity and Ecosystem Service Provision: Current Knowledge and Research Gaps. *Ecosystems* 16: 894–908
- MNHN (2010) Listes d'espèces déterminantes Trame Verte et Bleue – Modalités d'élaboration. Document de travail du 15 mars 2010. 12 pp.
- Moilanen A et Hanski I (1998) Metapopulation dynamics : Effects of Habitat Quality and Landscape structure. *Ecology* 79 : 2503-2515.
- Moilanen, A. (2007). Landscape zonation, benefit functions and target-based planning. Unifying reserve selection strategies. *Biological Conservation* 134, 571–579.
- Monmonier, M. (1973) Maximum-difference barriers: an alternative numerical regionalization method. *Geog. Anal.* 3, 245–261
- Morris, W. F. & Doak, D. F. (2002). *Quantitative Conservation Biology*. Sinauer, Sunderland.
- Mitton JB (1995) Enzyme heterozygosity and development stability. *Acta theriologica*, Suppl 3 : 33-54.
- Munguira ML, Thomas JA. 1992. Use of road verges by butterfly and burnet populations, and the effect of roads on adult dispersal and mortality. *Journal of Applied Ecology* 29: 316–329. DOI: 10.2307/2404501
- Newmark WD (1987) A land-bridge Island perspective on mammalian extinctions in Western American Parks. *Nature* 325 : 430-432.
- Newmark WD (1995) Extinction of mammal population in Western North-American national parks. *Conservation Biology* 9 : 512-526.
- Noss RF (1992) The Wildlands Project: Land Conservation Strategy. *Wild Earth* (special issue): 10–25.
- Novak J, Prach K. 2003. Vegetation succession in basalt quarries: Pattern on a landscape scale. *Applied Vegetation Science* 6: 111–116.
- Novak, J. and M. Konvicka. 2006. Proximity of valuable habitats affects succession patterns in abandoned quarries. *Ecol. Eng.* 26: 113-122.
- Ockinger E, Smith HG (2008) Do corridors promote dispersal in grassland butterflies and other insects? *Landscape Ecology*, 23, 27-40.
- Ostlie WR, Schneider RE, Aldrich JM, Faust TM, McKim RLB et Chaplin SJ (1997) The status of biodiversity in the Great Plains. Arlington, VA: The Nature Conservancy.
- Oyler-McCance, S.J., B.C. Fedy, and E.L. Landguth (2013) Sample design effects in landscape genetics. *Conservation Genetics* 14:275–285.
- Palmer SCF, Coulon A et JM Travis (2010) Introducing a 'stochastic movement simulator' for estimating habitat connectivity. *Methods in Ecology & Evolution* doi: 10.1111/j.2041-210X.2010.00073.x
- Pascual-Hortal, L. and Saura, S. 2006. Comparison and development of new graph-based landscape connectivity indices: Towards the prioritization of habitat patches and corridors for conservation. – *Landscape Ecol.* 21: 959–967.
- Pavlack DC, Goldizen AW, Prentis PJ, Nicholls JA, Lowe AJ (2009) A landscape genetics approach for quantifying the relative influence of historic and contemporary habitat heterogeneity on the genetic connectivity of a rainforest bird. *Molecular Ecology*, 18, 2945-2960.
- Pereira, H. M., Leadley, P. W., Proença, V., Alkemade, R., Scharlemann, J. P. W., Fernandez Manjarrés, J. F., Araújo, M. B., Balvanera, P., Biggs, R., Cheung, W. W. L., Chini, L., Cooper, H. D., Gilman, E. L., Guénette, S., Hurtt, G. C., Huntington, H. P., Mace, G. M., Oberdorff, T., Revenga, C., Rodrigues, P., Scholes, R. J., Sumaila, U. R., & Walpole, M. et al. (2010). Scenarios for global biodiversity in the 21st century. *Science* 330, 1496–1501.
- Petren K (2013) The evolution of landscape genetics. *Evolution* 67-12: 3383–3385
- Pickett, S. T. A. & White, P. S. (1985). *The Ecology of Natural Disturbances and Patch Dynamics*. Academic Press, New York.
- Pinto N, Keitt TH (2009) Beyond the least-cost path: evaluating corridor redundancy using a graphtheoretic approach. *Landscape Ecology*, 24, 253-266.
- Pilliod DS, Peterson CR, Ritson PI (2002) Seasonal migration of Columbia spotted frogs (*Rana luteiventris*) among complementary resources in a high mountain basin. *Canadian Journal of Zoology*, 80, 1849–1862.
- Pope SE, Fahrig L et Merriam NG (2000) Landscape complementation and metapopulation effects on leopard frog populations. *Ecology*, 81, 2498–2508.

- Quélenec T (2001) Le Grand Corbeau (*Corvus corax*) en Bretagne. *Alauda*, 69 : 19-24.
- Ricketts TH (2001) The matrix matters: effective isolation in fragmented landscapes. *American Naturalist*, 158, 87-99.
- Rogell B, Gyllenstrand N and Höglund J (2005) Six polymorphic microsatellite loci in the natterjack toad *Bufo calamita*. *Mol Ecol Notes* 5:639–640
- Romero J. and R. Real 1996. Macroenvironmental factors as ultimate determinants of distribution of common toad and natterjack toad in the south of Spain. *Ecography* 19: 305-312.
- Rowe G, Beebee TJC and Burke T (1997) PCR primers for polymorphic microsatellite loci in the anuran amphibian *Bufo calamita*. *Mol Ecol* 6:401–402
- Rowe G, Beebee TJC and Burke T (2000) A microsatellite analysis of natterjack toad, *Bufo calamita*, metapopulations. *Oikos* 88: 641–651.
- Rowe G, Beebee TJC and Burke T (2001) A further four polymorphic microsatellite loci in the natterjack toad *Bufo calamita*. *Conserv Genet* 1:371–372
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genet* 155:945–959
- Rannap, R., A. Lohmus, and K. Jakobson 2007. Consequences of coastal meadow degradation: The case of the natterjack toad (*Bufo calamita*) in Estonia. *Wetlands* 27:390-398.
- Ray N, Lehmann A, Joly P (2002) Modeling spatial distribution of amphibian populations: a GIS approach based on habitat matrix permeability. *Biodiversity and Conservation*, 11, 2143–2165.
- Rayfield B, Fortin MJ et A Fall (2010) The sensitivity of least-cost habitat graphs to relative cost surface values. *Landscape Ecol* 25:519–532
- Reading, C. J., J. Loman, and T. Madsen. 1991. Breeding pond fidelity in the common toad, *Bufo bufo*. *Journal of the Zoological Society of London* 225:201–211
- Rehounková K et Prach K (2006) Spontaneous vegetation succession in disused gravel-sand pits: role of local site and landscape factors. *Journal of Vegetation Science*, 17, 583–590.
- Rockstrom, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, A., Chapin, F. S., Lambin, E. F., Lenton, T. M., Scheffer, M., Folke, C., Schellnhuber, H. J., Nykvist, B., de Wit, C. A., Hughes, T., van der Leeuw, S., Rodhe, H., Sorlin, S., Snyder, P. K., Costanza, R., Svedin, U., Falkenmark, M., Karlberg, L., Corell, R. W., Fabry, V. J., Hansen, J., Walker, B. Liverman, D., Richardson, K., Crutzen, P., & Foley, J. A. et al. (2009). A safe operating space for humanity. *Nature* 461, 472–475.
- Rodrigues ASL, Andelman SJ, Bakarr MI, Boitani L, Brooks TM, Cowling RM, Fishpool et al. (2004) Effectiveness of the global protected area network in representing species diversity. *Nature* 428 : 640 : 643.
- Ronce O (2007) How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 38, 231-253.
- Samson F & Knopf F (1994) Prairie conservation in North America. *BioScience* 44 : 418-421.
- Sawyer, S. C., Epps, C. W. & Brashares, J. S. (2011). Placing linkages among fragmented habitats: do least-cost models reflect how animals use landscapes? *Journal of Applied Ecology* 48, 668–678.
- Schtickzelle, N., Joiris, A., Van Dyck, H. & Baguette, M. (2007). Quantitative analysis of changes in movement behaviour within and outside habitat in a specialist butterfly. *BMC Evolutionary Biology* 7, 4.
- Schlotterer C (2000) Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma* 109 : 365-71.
- Schlupp I and Podlousky R 1994. Changes in breeding site fidelity: a combined study of conservation and behaviour in the common toad *Bufo bufo*. *Biological Conservation* 69: 285–291.
- Schoville SD, Lam AW et Roderick GK (2012) A range-wide genetic bottleneck overwhelms contemporary landscape factors and local abundance in shaping genetic patterns of an alpine butterfly (Lepidoptera: Pieridae: *Colias behrii*). *Molecular Ecology* 21, 4242–4256
- Schulz F., Wiegand G. 2000. Development options of natural habitats in a post-mining landscape. *Land Degradation & Development* 11: 99–110.
- Schwartz, M., Luikart, G., McKelvey, K. & Cushman, S. (2010). Landscape genomics: a brief perspective. In *Spatial Complexity, Informatics, and Wildlife Conservation* (eds F. Huettmann and S. Cushman), pp. 165–174. Springer-Verlag, Berlin.
- Scribner KT, Arntzen JW, Cruddace N, Oldham RS and Burke T (2001). Environmental correlates of toad abundance and population genetic diversity. *Biological Conservation* 98 : 201-210.
- Selkoe KA, Watson JR, White C, et al. (2010) Taking the chaos out of genetic patchiness: seascape genetics reveals ecological and oceanographic drivers of genetic patterns in three temperate reef species. *Molecular Ecology*, 19, 3708-3726.
- Seymour M, Rasanen K, Holderegger R and Kristjansson, BK (2013) Connectivity in a pond system influences migration and genetic structure in threespine stickleback. *Ecology and Evolution* 2013; 3(3): 492–502
- Shirk AJ, Wallin DO, Cushman SA, Rica CG, Warheit KI (2010) Inferring landscape effects on gene flow: a new model selection framework. *Mol Ecol* 19:3603– 3619

- Simmons, J. M., P. Sunnucks, A. C. Taylor, and R. van der Ree. 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.
- Sinsch, U. (1989). Migratory behaviour of the common toad (*Bufo bufo*) and the natterjack toad (*Bufo calamita*). *Amphibians and Roads* (ed. T.E.S. Langton), pp. 113–125. *ACOPolymer Products*, London.
- Sinsch, U. 1992. Structure and dynamic of a natterjack toad metapopulation (*Bufo calamita*). *Oecologia* 90:489-499.
- Sinsch U (1997) Postmetamorphic dispersal and recruitment of first breeders in a *Bufo calamita* metapopulation. *Oecologia*, 112, 42–47.
- Sjögren Gulve, P. and Ray, C. 1996. Using logistic regression to model metapopulation dynamics: large scale forestry extirpates the pool frog. / In: McCullough, D. R. (ed.), *Metapopulations and wildlife conservation*. Island Press, pp. 111_/128.
- Smith MA, Green DM (2005) Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography*, 28, 110–128.
- Smouse, P., Long, J. & Sokal, R. (1986). Multiple Regression and Correlation Extensions of the Mantel Test of Matrix Correspondence. *Systematic Zoology*, 35, 627{632.
- Sordello R, Amsallem J et V DUBus (2012). Trame verte et bleue - Suivi et évaluation - Faisabilité d'utiliser l'outil génétique. Muséum national d'histoire naturelle (MNHN) - Service du Patrimoine naturel (SPN) & Institut National de Recherche en Sciences et Technologies pour l'environnement et l'Agriculture (IRSTEA) - UMR TETIS. 34 pages.
- Sork, V. L. & Waits, L. (2010). Contributions of landscape genetics – approaches, insights, and future potential. *Molecular Ecology* 19, 3489–3495.
- Spear SF, Balkenhol N, Fortin MJ, McRae BH, Scribner K (2010) Use of resistance surfaces for landscape genetic studies: considerations for parameterization and analysis. *Mol Ecol* 19:3576–3591
- Stamps JA, Buechner M et Krishnan VV (1987) The effects of edge permeability and habitat geometry on emigration from patches of habitat. *American Naturalist* 129: 533–552.
- Stevens VM, Polus E, Wesselingh RA, Schtickzelle N, Baguette M (2004) Quantifying functional connectivity: experimental evidence for patch-speciWc resistance in the natterjack toad (*Bufo calamita*). *Landsc Ecol* 19:829–842
- Stevens VM, Leboulengé E, Wesselingh RA et Baguette M (2006) Quantifying functional connectivity: experimental assessment of boundary permeability for the natterjack toad (*Bufo calamita*). *Oecologia* 150:161–171.
- Stevens VM, Turlure C et M Baguette (2013) A meta-analysis of dispersal in butterflies. *Biol. Rev.* (2010), pp. 000–000.
- Storfer, A., , Murphy, M., Evans, J., Goldberg, C., Robinson, S., Spear, S., Dezzani, R., Delmelle, E., Vierling, L. & Waits, L. (2007). Putting the "landscape" in landscape genetics. *Heredity*, 98, 128-142.
- Storfer A, Murphy MA, Spear SF, Holderegger R, Waits LP (2010) Landscape genetics: where are we now? *Molecular Ecology*, 19, 3496–3514.
- STRA-CO (2003) Conseil pour la Stratégie Paneuropéenne de la Diversité Biologique et Paysagère. 7ème réunion, Palais des Nations, Genève, 30-31 janvier 2003.
- Strasburg JL (2006) Conservation biology – roads and genetic connectivity. *Nature*, 440, 875–876.
- Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues ASL, Fischman DL et Waller RW (2004) Status and trends of amphibian declines and extinction worldwide. *Science* 306, 1783-1786.
- Swift, T. L. & Hannon, S. J. (2010). Critical thresholds associated with habitat loss: a review of the concepts, evidence, and applications. *Biological Reviews* 85, 35–53.
- Syndicat Mixte du SCoT du Pays de Brocéliande, Le Schéma de Cohérence Territoriale - Guide pratique, 2008
- Tatoni T (2010) Définition des enjeux et pressions du territoire au démarrage de l'expérimentation du projet PACA. Journée de restitution de l'appel à projet Trame Verte et Bleue, 30 juin 2010.
- Taylor et al. (1993) Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos* 68, 571-573.
- Thomas JA. 1993. Holocene climatic change and warm man-made refugia may explain why a sixth of British butterflies inhabit unnatural early-successional habitats. *Ecography* 16: 278–284. DOI: 10.1111/j.1600-0587.1993.tb00217.x
- Thomas JA, Morris MG, Hamblin C. 1994. Patterns, mechanisms and rates of extinction among invertebrates in the United-Kingdom. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 344: 47–54. DOI: 10.1098/rstb.1994.0050
- Tischendorf L et Fahrig L (2000) On the usage and measurement of landscape connectivity. *Oikos* 90: 7–19.
- Tropek R. and M. Konvicka 2008. Can quarries supplement rare xeric habitats in a piedmont region? Spiders of the Blanksi les Mts, Czech Republic. *Land Degrad. Develop.* 19: 104–114
- Tscharntke T, Klein A-M, Kruess A, Steffan-Dewenter I, Thies C. 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity—ecosystem service management. *Ecol Lett* 8:857–74.
- Turchin P (1991) Translating foraging movements in heterogeneous environments into the spatial distribution of foragers. *Ecology*, 72 : 1253-1266

- Turlure, C., Baguette, M., Stevens, V. M. & Maes, D. (2011). Species- and sex-specific adjustments of movement behavior to landscape heterogeneity in butterflies. *Behavioral Ecology* 22, 967–975.
- Turner (1989) Landscape ecology: the effect of pattern on process. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20, 171-197.
- UNICEM (2012) *Statistiques 2012*. 47 pp.
- Van Loon EE, Cleary DFR and Fauvelot C (2007) ARES: software to compare allelic richness between uneven samples. *Mol. Ecol. Notes*, 7, 579–582.
- Van Strien M, Keller D, Holderegger R (2012) A new analytical approach to landscape genetic modeling: least-resistance transect analysis and linear mixed models. *Molecular Ecology*, 21, 4010–4023
- Van Swaay CAM. 2002. The importance of calcareous grasslands for butterflies in Europe. *Biological Conservation* 104: 315–318. DOI: 10.1016/S0006-3207(02)00235-5
- Vekemans, X. and O. Hardy, 2004. New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology* 13:921-935.
- Voetzel, D., M. Rohaut and M. Arbion 2008. *Potentialités écologiques des carrières de roches massives*. Etude UNPG, 304 pages.
- Vos CC, Antonisse-De Jong AG, Goedhart PW et al. (2001) Genetic similarity as a measure for connectivity between fragmented populations of the moor frog (*Rana arvalis*). *Heredity* 86 : 598-608
- Weckworth BV, Musiani M, DeCesare NJ, McDevitt AD, Hebblewhite M et Mariani S (2013) Preferred habitat and effective population size drive landscape genetic patterns in an endangered species. *Proc R Soc B* 280: 20131756
- Whitlock MC, McCauley DE (1999) Indirect measures of gene flow and migration: $F_{ST} \approx 1/(4Nm+1)$. *Heredity*, 82, 117-125.
- Wiens JA, Schooley RL et Weeks RD (1997) Patchy landscapes and animal movements: Do beetles percolate? *Oikos* 78: 257–264.
- With KA (1994) Ontogenic shifts in how grasshoppers interact with landscape structure – an analysis of movement pattern. *Functional Ecology* 8: 477–485.
- Winfree R, Dushoff J, Crone EE et al. (2005) Testing simple indices of habitat proximity. *Am Nat* 165:707–717
- Wright, S. (1931). Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16, 97–159.
- Wright S (1943) Isolement by distance. *Genetics*, 28, 114-138.
- Yang R-C (2004) A likelihood-based approach to estimating and testing for isolation by distance. *Evolution*, 58, 1839-1845.
- Zeller KA, McGarigal K, Whiteley AR (2012). Estimating landscape resistance to movement: a review. *Landsc Ecol*;27(6):777 – 97

Partie II

Impact des carrières sur la diversité génétique : une étude à différentes échelles temporelles et dans différents contextes paysagers

I. Démarche

La diversité génétique constitue non seulement une des composantes de la biodiversité, mais est également un indicateur de la connectivité d'un paysage (Dixo *et al.*, 2009). D'une part, la diversité génétique est corrélée à la démographie d'une population donnée (Soulé, 1976; Frankham, 1996). Elle reflète ainsi la qualité d'un habitat en tant que support de l'ensemble du cycle de vie de l'espèce considérée (de Vere *et al.*, 2009). D'autre part, la diversité est étroitement liée aux échanges génétiques entre les différents dèmes (Frankham, 1996). Par conséquent, un paysage très fragmenté accueillera des populations isolées caractérisées par une faible diversité génétique. Au contraire, un paysage fonctionnel favorisera la connexion entre les différents dèmes bénéficiant de flux intenses, et donc d'une plus grande diversité génétique.

A l'échelle d'une population ou d'un individu, la recherche de corrélations entre la diversité génétique et les descripteurs du paysage environnant permet d'identifier quelles caractéristiques du paysage (i.e. structure ou configuration) influencent la démographie et la connectivité locale (Dixo *et al.*, 2009). Dans ce chapitre, nous étudions de quelle manière la diversité génétique à l'échelle de la population est à la fois influencée par des variables de composition, i.e. les différentes natures d'occupation du sol, et des variables de configuration, i.e. les surfaces de ces occupations du sol. Le rôle des carrières est ainsi testé relativement aux autres éléments du paysage.

Pour répondre à ces objectifs, différents écueils méthodologiques doivent être surmontés. Tout d'abord, la diversité génétique est étroitement corrélée à la taille de l'échantillon (Stout & Vandermeer, 1975). La comparaison de valeurs de diversités génétiques entre des échantillons de tailles inégales requiert donc l'utilisation de méthodes spécifiques. Largement utilisée, la méthode de raréfaction réduit la taille des échantillons à l'effectif minimal échantillonné (Kalinowski, 2004). Afin d'éviter la perte d'information liée à cette approche, nous préférons utiliser une méthode qui au contraire extrapole les tailles d'échantillons (Van Loon, 2007). Deuxièmement, il est difficile de connaître *a priori* l'échelle temporelle adaptée à l'évaluation de l'effet du paysage sur la diversité génétique (Holzhauer *et al.*, 2006). Dans ce cadre, nous testons les variables paysagères à trois intervalles de temps distincts : années 1940, années 1970 et années 2000. Enfin, notre échantillonnage est réparti en différentes aires d'études présentant des autocorrélations spatiales propres à chaque aire, i.e. les diversités génétiques des populations appartenant à la même aire d'étude seront davantage corrélées entre elles qu'avec les populations issues de différentes aires d'étude (en raison des histoires démographiques spécifiques et du paysage propre à chaque aire d'étude). L'intégration des spécificités de chaque aire d'étude dans un unique modèle requiert donc l'utilisation de modèles à effets mixtes (Zuur *et al.*, 2009), appliqués dans ce présent chapitre.

II. Article : Impact of quarrying on genetic diversity: an approach across landscapes and over time.

Théo Flavenot¹, Simon Fellous², Jawad Abdelkrim^{1,3}, Michel Baguette^{4,5} and Aurélie Coulon^{1,6}

1: Centre d'Ecologie et des Sciences de la COnservation, UMR 7204 MNHN-CNRS-UPMC
55 rue Buffon
75005 Paris, France

2: CBGP UMR 1062, INRA,
Montpellier, France

3: OMSI, UMR 2700 MNHN-CNRS-UPMC
43 rue Cuvier
75005 Paris, France

4: Institut Systématique, Evolution, Biodiversité, UMR 7205 MNHN
57, rue Cuvier
75231 Paris Cedex 05, France

5: Station d'écologie expérimentale du CNRS à Moulis, USR 2936 CNRS
2 route du CNRS
09200 Moulis, France

6: Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, UMR 5175
1919 route de Mende
34293 Montpellier 5, France

Soumission à Conservation Genetics le 10 octobre 2013.

ABSTRACT

Land conversion is one of the major global changes that threaten long-term viability of populations. As many industrial activities, quarrying highly modifies land cover, destroying previous habitats but also creating new conditions suspected to support functioning and connectivity of pioneer species. Using a multi-landscape and -temporal approach, we assessed the impact of quarrying on the genetic diversity of two amphibians with contrasted ecological constraints: the common toad (*Bufo bufo*), a species favouring densely vegetated environments; and the natterjack toad (*Bufo calamita*), a species favouring pioneer environments. The study was conducted in six areas exhibiting various landscapes, of ca. 250 km² each. Mixed effect models were used to determine which landscape features affect the genetic diversity of the two species. These analyses were performed at three time points (1940s, 1970s and 2000s). Genetic diversity of *B. bufo* was found to increase with semi-wooded and herbaceous areas surface, and decrease with surface of roads and urbanized areas. Genetic diversity of *B. calamita* increased with bare ground and quarries surface, and decreased with densely wooded areas surface. We found no effect of quarrying on *B. bufo*, unlike for *B. calamita* which genetic diversity was favoured by quarrying at all three time-scales tested. Despite having similar generation times, *B. bufo*'s diversity was best explained by 1940's landscape and that of *B. calamita* by 2000's landscape. This study enlightens the genetic conservation value of active and rehabilitated quarries for pioneer species and the possible delays between landscape changes and their effects on the populations of some, but not all, species.

KEYWORDS

Landscape genetics, Bufo bufo, Bufo calamita, reconciliation ecology, land conversion, biodiversity.

Introduction

Genetic diversity is one of the fundamental levels of biodiversity. It influences a number of ecological processes (Hugues *et al.*, 2008) and provides the raw material that allows species to adapt to changing environmental conditions (Frankham *et al.*, 2010). Genetic diversity is therefore especially important in the context of adaptation to global changes. Besides mutational processes, genetic diversity depends mainly on population size (Soulé, 1976; Frankham, 1996) and gene flow (Leimu *et al.*, 2006): decrease in population size results in lower genetic diversity through enhanced genetic drift, whereas incoming gene flow is a source of genetic variability. Genetic diversity thus encapsulates both population demography and landscape connectivity, the main processes by which anthropogenic land conversion may affect population functioning and viability.

Anthropogenic land cover conversion is currently acknowledged as one of the major drivers of genetic erosion worldwide. Through habitat loss and fragmentation, land conversion reduces overall habitat availability and favours the isolation of suitable patches (Wilcox & Murphy, 1985; Hanski, 1999; Fahrig, 2003). This leads to decreased environment quality and loss of landscape connectivity (i.e. the degree to which a landscape facilitates or impedes movements among resource patches; Taylor *et al.*, 1993). In Europe, intensive anthropogenic land conversion is mainly driven by urbanization, development of transportation infrastructures, intensive farming and logging (Martino & Fritz, 2008). While the impact on genetic diversity of many of those activities has been extensively studied (e.g. urbanization: Blanchong *et al.*, 2013; infrastructure transportation: Epps *et al.*, 2005; forestry: Dixo *et al.*, 2009) others remain unknown, as is the case for quarrying activities.

Quarrying, the industrial extraction of mineral materials used in construction, impacts small surfaces at the regional scale (e.g. less than 1% of French national territory, Barnaud & Le Bloch, 1998), but high activity concentration can result in severe modifications of land cover at the local scale (e.g. valleys). Extracting activity results in the replacement of the original ecosystems by bare soil, with increased dust, noise and traffic, and may by this way degrade the local environment (Clements *et al.*, 2006; Berhe, 2007; Lameed & Ayodele, 2010). Resulting topsoil is generally thin, nutrient-poor and compacted: successional processes cannot proceed and are stuck at early stages of colonization. Interestingly, though, these profound alterations result in the creation of xeric and pioneer habitats. Artificial walls, bottom, barren terraces, installation plants and stocks have been observed to attract specialist species in every taxa: invertebrates (Brandle *et al.*, 2000; Benes *et al.*, 2003), amphibians (Rannap *et al.*, 2007), birds (Kovacs, 2001; Voetzel *et al.*, 2008) and flora (Novak & Konvicka, 2006). In addition, operating gravel-pits often generate mosaics of waterbodies that spread on dozens of kilometres and have been observed to play as refuge for threatened freshwater fauna and flora

(Santoul *et al.*, 2000, 2009). Also, after exploitation, portions of quarrying sites are rehabilitated (for environmental, visual and safety reasons) into a large panel of ecosystems including heathlands, wetlands or forests (Schulz & Wiegleb, 2000; Bzdon, 2008; Tropek & Konvicka, 2008). This diversity of specific ecosystems gives quarries a high potential for biodiversity conservation. Nonetheless, the effects of quarries on genetic diversity have not been investigated yet and remain unclear: on the one hand quarrying could be detrimental to species sensitive to industrial impact by increasing the fragmentation of their habitat, while, on the other hand, it could benefit pioneer species through creation of new habitat and enhanced connectivity. In this study, we assessed the effects of quarries on genetic diversity, relatively to the effects of other landscape features, in two amphibian species with contrasted ecology.

Whereas land conversion potentially threatens every taxa, amphibians constitute undoubtedly one of the most impacted ones (Cushman, 2006; Hof *et al.*, 2011). This sensitivity is mainly due to poor dispersal capacity (Sinsch, 1990; Smith & Green, 2005), specific habitat requirements (Karraker & Gibbs, 2009), and complex life cycle involving spatially distinct breeding and foraging habitats (Pope *et al.*, 2000). Our two study species are the natterjack toad (*Bufo calamita*), a specialist of pioneer habitats, and (2) the common toad (*Bufo bufo*), which favours densely vegetated environments. To provide a complete diagnostic of the effect of particular landscape elements on population functioning, it is highly recommended to use comparative approaches involving species with distinct biological requirements, multiple landscapes and taking land use history into account (Holzhauer *et al.*, 2006; Zellmer & Knowles, 2009; Golberg & Waits, 2010). We hence conducted our study in six distinct sites in France, characterized by contrasted landscapes in terms of land use and quarrying activity. We also used several temporal representations of the landscape (i.e. mid 1940s, 1970s and 2000s), to account for potential delays in the effects of landscape changes and their effects on genetic diversity. We predicted quarries to have a negative impact on the genetic diversity of the species favouring forests (*B. bufo*), and a positive effect on the pioneer natterjack toad (*B. calamita*).

Material and methods

STUDY SPECIES

The common toad (*B. bufo*) is a widespread anuran in Europe. It can be observed in a large panel of terrestrial habitats as hedgerows, pastures or suburban gardens, but shows preference for forests, both for home-ranging and for dispersal (Denton, 1991; Denton and Beebee, 1994; Hartel *et al.*, 2008; Janin *et al.*, 2009). High mortality has been observed in open and sandy areas such as those encountered in active quarries (Denton and Beebee, 1991, Denton and Beebee, 1994), illustrating its vulnerability to arid and poorly-vegetated habitats (Romero & Real, 1996). Breeding is more conditioned by landscape quality than pond quality and configuration (Scribner *et al.*, 2001; Hartel *et al.*, 2008). If dispersal distances have been recorded up to 3 km (Smith & Green, 2005), migration distances usually fall within 50–1600 m (Glandt, 1986; Sinsch, 1988). Adults exhibit high site fidelity (79-96 % of adults return to the pond they used the previous year; Reading *et al.*, 1991), suggesting that dispersal events are mainly due to juveniles (up to 20% of the toadlets disperse away from their native pond, Schlupp & Podloucky, 1994; Cooke & Oldham, 1995). Generation time is around 3 years (Halley *et al.*, 1996).

The natterjack toad (*B. calamita*) is an endemic species of central and Western Europe that shows strong specialisation to poorly-vegetated habitats such as coastal meadows, dunes or heathlands. Breeding occurs in shallow ephemeral ponds with low nutrient levels (Denton, 1991; Beebee, 1983; Romero & Real, 1996). Sandy soils are preferred because of the possibility to dig burrows, which decreases the risk of desiccation (Denton & Beebee, 1994). This species also exhibits high fidelity to breeding areas (Sinsch, 1992, 1997; Denton & Beebee, 1993), and most dispersal events seem to be performed by juveniles (Sinsch, 1997). Higher movement speed and distance by toadlets have been observed on open habitat (Stevens *et al.*, 2004), where perception and hunting are more efficient than in densely-vegetated conditions (Denton & Beebee, 1994). However, forests seem to be preferentially used by toadlets for dispersal (Stevens *et al.*, 2006). The range of dispersal distances is a bit larger than that of *B. bufo*, as maximum distances of up to 4 km were most often recorded (Smith & Green, 2005) and occasionally up to 12 km (Sinsch *et al.*, 2012). Generation time is thought to be around 3 years (Rowe *et al.*, 2000). The overall decline of natterjack populations across Europe is largely due to the dramatic loss of breeding habitat, which forces this species to colonize substitution environments such as quarries, construction sites or port areas (Eggert & Miaud, 2004; Stevens *et al.*, 2006; Rannap *et al.*, 2007).

STUDY SITES

The study was carried out in 6 sites located in northern France and showing contrasted landscapes and quarry densities (Fig. 1 and supplementary material S1). All sites have rural landscapes with relatively low human densities. They also exhibit similar overall flat topography, with low average elevations (ca. 10-140m). The northernmost sites – Anneville (A), Poses-Bouafles (P) and Guernes (G) – are spread across the Seine river valley, where balanced proportions of forests and farmland characterize the landscape. The Seine has a channelized riverbed. The site of Larchant (L) is located in the southern limit of the wide forested continuum of Fontainebleau and the beginning of the open-field plateau of the Beauce. In the very center of the Beauce, Voves (V) shows a homogeneous open-field landscape. The southernmost site Bonnee (B) is located in the Loire valley, characterised by balanced proportions of forests, farmlands but also semi natural heathlands on the banks (a result of non-channelized riverbeds).

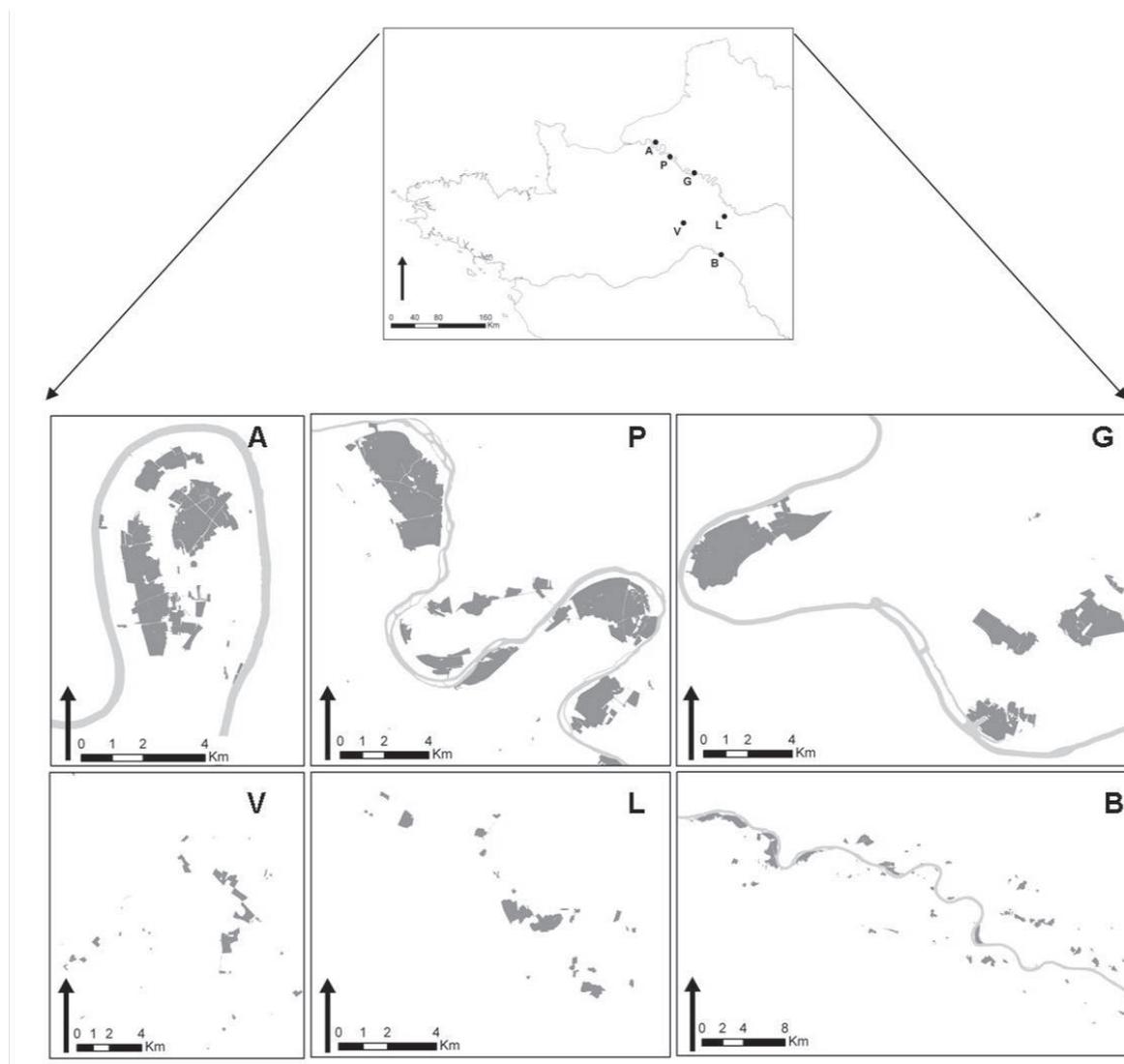


Figure 1: Location of the 6 sites (A, B, G, L, P and V) and distribution of the quarries (in grey) within each site.

SAMPLING

Fertilized eggs and larvae were sampled during the springs of 2011 and 2012. To minimize sib-effect, eggs were collected from distinct clutches, and when possible larvae were sampled in separate ponds: females of both species generally lay one single undivided clutch every year (Denton & Beebee, 1996; Hitchings & Beebee, 1998) that is fertilized by one single male (Banks *et al.*, 1994; Hitchings & Beebee, 1998). Once collected, clutch fragments were reared in the laboratory at 20°C until tadpoles were larger than 1 cm. Individuals were euthanized and stored in 70 % ethanol at room temperature.

GENETIC DATA COLLECTION

DNA was extracted from tissue samples using the NucleoSpin® 96 Tissue Kit (Macherey-Nagel) following an automated processing on a robotic platform epMotion 5075 (Eppendorf). Fifteen species-specific microsatellite markers were tested for *B. bufo* (Brede *et al.*, 2001) and Eighteen for *B. calamita* (Rowe *et al.*, 1997; Rowe *et al.*, 2001; Rogell *et al.*, 2005). Five PCR procedures were required (see details in supplementary material S2). After extensive tests with different PCR protocols, eleven markers were eventually retained for *B. bufo* and thirteen for *B. calamita* (supplementary materials S2). The samples were genotyped using an ABI PRISM 3130 automated sequencer (Applied Biosystems). Allele sizes were screened relative to standard marker LIZ 500 (Applied Biosystems) using GeneMapper v4.0 (Applied Biosystems).

Genetic data quality was controlled following Carlsson *et al.* (2004). Each run of 96 PCRs included eight positive controls with known genotypes to control for potential contamination and electrophoresis conditions. Genotypes were checked for high null allele frequencies, stuttering and large allelic dropout with MICRO-CHECKER v2.23 (Van Oosterhout *et al.*, 2004). The first check showed strong evidence for null alleles at four loci for *B. bufo* (Bufo_15, Bufo_39, Bufo_62, Bufo_65) concerning four of our sites and two loci for *B. calamita* (Cala_12, Cala_3a) for all sites. After re-amplification of all homozygotes, only loci Bufo_15 for *B. bufo* and Cala_12 & Cala_3a for *B. calamita* showed evidence for null alleles in more than two sites. These loci were removed from the analyses. Linkage disequilibrium between all pairs of loci was tested using GENEPOP v4.2 (Raymond & Rousset, 1995; Rousset, 2008). Markov chain parameters included a dememorization step of 10 000 iterations followed by 1000 batches of 10 000 iterations each. We accounted for multiple comparisons by calculating the P values adjusted for FDR (False Discovery Rate) with the R function `fdrtool` for R v2.13 (R Core Development Team, 2013).

Because full siblings could remain in the samples despite our cautious sampling procedure, we used COLONY v2.0 (Wang, 2004) within each sampled pond to completely avoid sib-effect. Following Wang (2004)'s recommendations, each analysis was performed three times using the same information, with different seed numbers in order to avoid convergence problems commonly observed with maximum-likelihood estimation. We obtained identical family structures in all cases.

STANDARD POPULATION GENETIC ANALYSES

Mean numbers of alleles per locus (N_a), numbers of effective alleles (N_e), allele frequencies, observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosities were calculated using GENALEX v6.5 (Peakall & Smouse, 2005). Deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were evaluated using GENEPOP v4.2 (Rousset, 2008). Significance levels were calculated with the Markov chain method, with 10 000 dememorization steps, and 100 batches with 5000 iterations per batch. F_{IS} , global F_{ST} , and their statistical significance (Weir & Cockerham, 1984) were calculated in FSTAT v2.9 (Goudet, 1995).

ANALYSIS OF THE GENETIC STRUCTURE OF THE TWO SPECIES

We first assessed the genetic structure of our dataset, in order to verify the relevance of performing the genetic diversity analyses at the scale of each site. We carried out Bayesian clustering analyses implemented in STRUCTURE v2.3 (Pritchard et al., 2000). Because the assignment of individuals has been shown to be sensitive to small sample sizes (Evanno et al., 2005), ponds with less than 10 individuals were not included in those analyses. For each data set, we performed 10 replicate runs with a burn-in of 150 000 Markov chain Monte Carlo (MCMC) iterations followed by 10^6 iterations for values of K ranging from 1 to 10. We used the admixture model with correlated allele frequencies and the locprior option (Hubisz et al., 2009). This model uses the sampling location information to constrain the prior distribution for each individual's population assignment. Locprior option tends to outperform classical models when actual structure is weak, and shows robustness to misdetection of wrong structures correlated with the sampling location (Hubisz et al., 2009 ; Hoffman et al., 2011; Moura et al., 2012). The most likely values of K were determined using the Evanno et al. (2005) method implemented in the program STRUCTURE HARVESTER (Earl & vonHoldt, 2012). We used CLUMPP v1.1 (Jakobsson & Rosenberg, 2007) to find optimal alignments of our 10 replicate cluster analyses. DISTRUCT v1.1 (Rosenberg, 2004) was finally used for cluster visualization. Cluster outputs were compared for validation with results obtained with GENELAND v4.0 (Guillot et al., 2012) and FLOCK v2.0 (Duchesne & Turgeon, 2012). Detailed procedures for those two programs are described in supplementary material S3.

EFFECT OF LANDSCAPE COMPOSITION ON GENETIC DIVERSITY

We investigated which landscape features – with a special emphasis on quarries - affect the genetic diversity of the two study species. Genetic diversity was assessed through the allelic richness within each pond. It was estimated with the ARES package (Van loon, 2007) implemented in R v2.6 (R Core Team, 2013). ARES counteracts the bias due to the strong dependence between genetic diversity and sample size by estimating allelic richness from accumulation curves. The curves estimate the expected number of unique alleles in a population for a given sample of individuals with 95% confidence bounds. This method would be more powerful than the intensively used rarefaction approach because it uses all valuable information from the original genetic data set. The number of bootstrap runs performed to calculate confidence bounds was set to 200. The accumulation curves were calculated for a maximum number of individuals of 100. After visual inspection of the graphs, sample size was set to $n=15$ for *B. bufo* and $n=6$ for *B. calamita*, which allowed us to extrapolate estimates before the curve asymptotes as recommended by Colwell et al. (2004).

In order to assess the spatial scale at which landscape effects on genetic diversity had to be investigated, spatial autocorrelation analyses were performed. Such analyses assess the degree of genetic similarity among individuals separated by varying geographic distances. Significant autocorrelation at a distance class means that individuals separated by distances included in that class are more genetically similar than expected by chance. Visual inspection of correlograms (graphs of autocorrelation coefficients for the different distance classes) hence allows the detection of the spatial scale at which gene flow occurs, and hence the most appropriate scale for the analysis of landscape effects on genetic structure. These analyses were performed with GENALEX v6.5 (Peakall & Smouse, 2005) with 1 km distance classes (the finest scale with sufficient sample size). Tests for statistical significance were performed using 1000 random permutations and bootstrap estimates.

Next, given the results of the autocorrelation analysis, we estimated the surface of 18 different classes of land cover within 2km buffers around each pond (the buffer size was based on the results of the autocorrelation analysis, see Results) (Table 1). Those classes represented the major natural and anthropogenic features composing the study landscapes, and especially quarries. We estimated the total surface of quarries as well as the different types of elements within their perimeter of activities (different types of working, peripheral and rehabilitated areas). To account for potential delays in landscape changes and their effects on genetics, we estimated landscape composition around the ponds at three distinct time intervals separated by ca. 10 generations for both species: mid 1940s (1946-1949), 1970s (1969 to 1974) and 2000s (2003-2013) (the years varied slightly among sites depending on land cover data availability, see supplementary material S1).

To estimate their area within the buffers around ponds, the landscape features were digitized by visual analysis based on black and white aerial photographs ranging from 1:25000 to 1:30000 scale and a resolution of 40 cm for the first two time points (IGN, BD Prises de vues aériennes ©), and real-colour geographically corrected aerial photographs at a 1:5000 scale and a resolution of 50 cm for the most recent one (IGN, BD Ortho ©). Opposite riverfronts were not included for Loire and Seine valleys since large rivers can be considered as a complete barrier for toads (Janin *et al.*, 2009).

Linear mixed effect models were used to quantify the contribution of quarrying and of the rest of the surrounding landscape on genetic diversity of both *B. bufo* and *B. calamita*. Mixed effect models allow dealing with nested and pseudo-replicated data such as those from sample sites exhibiting spatial autocorrelation. In our case, allelic richness in ponds from the same site are expected to be closer to each other than they are with ponds from other sites (i.e. spatial pseudo-replication). Instead of building separately one model for each site, mixed effects models allow working on the whole data set and include this spatial autocorrelation. We treated the surfaces of the 18 land cover classes as fixed factors and the sampling location as a random factor. Following Zuur *et al.* (2009), we used top-down model selection with Maximum Likelihood based AIC model comparison and Restricted Maximum Likelihood model validation. Log transformation and square-root transformation of the explanatory factors were used when necessary. Final validation was based on visual observation of the model residuals. All models were fitted using the nlme package (Pinheiro & Bates, 2000) implemented in R v15.3.0 (R Core Team, 2013).

Table 1 Land cover classes used in this study.

Class	Description
<i>Landscape outside quarries</i>	
Bare ground	Natural non-vegetated areas and dirt tracks
Herbaceous	Meadows, heaths and lawns
Farmland	Ploughed land and market gardening areas
Railroad	Railroads
Roads	Mineralized roads
Urban	Densely urbanized and residential areas, landfills and working areas
Wetlands	Marshlands, streams, lakes and pond systems
Woodland - dense	Densely forested areas
Woodland - medium	Shrubby areas, semi-wooded moors, forested parks and orchards
<i>Landscape within quarries</i>	
Quarry	Total area modified by quarrying
Bare ground	Non-vegetated working and rehabilitated areas, extractive zones, treatment plants, aggregate stocks and tracks
Herbaceous	Spontaneous and rehabilitated herbaceous areas, meadows, heaths and lawns
Farmland	Rehabilitated ploughed lands and market gardening area
Railroad	Rehabilitated railroads
Roads	Rehabilitated mineralized roads
Urban	Rehabilitated densely urbanized and residential areas, landfills and working areas
Wetlands	Rehabilitated marshlands, streams, lakes and pond systems, extractive lakes and tailing ponds
Woodland	Spontaneous and rehabilitated densely forested areas, shrubby areas, semi-wooded moors, forested parks and orchards

Results

In total, 1083 *B. bufo* and 957 *B. calamita* were sampled. Due to the lack of breeding ponds, the V area was not successfully sampled for *B. bufo* nor the G and L areas for *B. calamita*. COLONY analyses resulted in the removal of 101 sibs for *B. bufo* and 222 sibs for *B. calamita*. Our final data set was hence made of the genotypes of 982 *B. bufo* individuals and 735 *B. calamita* individuals, distributed in respectively 51 and 39 ponds, with sample sizes ranging from 5 to 41 individuals per pond, and averaging 19 individuals per pond for both *B. bufo* and *B. calamita* (Supplementary material S4). Within sites, distances between nearest neighbour ponds ranged from 0.3 km to 5.2 km for *B. bufo*, and from 0.5 km to 8.4 km for *B. calamita*; the maximum distance between ponds from the same site was 41.6 km for *B. bufo* and 43.4 km for *B. calamita*.

STANDARD POPULATION GENETICS ANALYSES

The mean number of alleles per locus across sample sites ranged respectively from 13.4 to 18.2 for *B. bufo* and from 5.9 to 8.9 for *B. calamita* (Table 2).

No pair of loci showed significant linkage disequilibrium after correction of P values for multiple comparisons (all $P > 0.05$, results not shown). Significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were found for one to six loci in each area, and overall loci in each area, except in A for *B. bufo* (results not shown). This disequilibrium is most likely due to Wahlund effects due to substructure in the dataset (as shown below) and moderate frequencies of null alleles which remained for two loci in two areas (Bbuf μ 39 and Bbuf μ 65 in A and B, frequencies <0.097). F_{ST} levels were similar in the two species except in site P, where genetic differentiation was particularly high ($F_{ST} = 0.135$) for *B. calamita* but remained low for *B. bufo* ($F_{ST} = 0.025$) (Table 2).

Table 2 Summary statistics of genetic diversity within sample sites. N is the sample size, N_a the mean average number of alleles, N_e the average effective number of alleles, H_o the observed heterozygosity, H_e the expected heterozygosity, F_{IS} the inbreeding coefficient and associated significance of Hardy-Weinberg deviation (*: $P < 0.05$; ns: not significant), and A_r the averaged allelic richness corrected for sample size.

Site	N	N_a	N_e	H_o	H_e	F_{ST}	F_{IS}	A_r
<i>B. bufo</i>								
A	135	13.4	6.74	0.727	0.780	0.045	0.071 *	74.21
B	302	18.2	7.39	0.746	0.818	0.057	0.090 *	82.60
G	156	14.0	6.43	0.727	0.756	0.022	0.042 *	73.54
L	168	16.0	6.76	0.775	0.776	0.020	0.005 *	80.32
P	219	16.3	6.36	0.744	0.775	0.025	0.064 *	75.23
<i>B. calamita</i>								
A	185	5.9	3.13	0.579	0.583	0.035	0.009 ns	37.96
B	274	8.9	3.18	0.608	0.632	0.037	0.039 *	40.93
P	130	6.7	3.37	0.543	0.623	0.135	0.132 *	36.11
V	146	7.3	3.55	0.620	0.632	0.045	0.023 *	40.83

ANALYSIS OF THE GENETIC STRUCTURE OF THE TWO SPECIES

The deltaK criterion showed for both species the existence of a first structuration into two clusters (Supplementary material S5), matching the limits of the main river drainages: A, G, L and P for the Seine, and B and V for the Loire (not shown). A second level of structure was detected, where each cluster matched the sites (five clusters for *B. bufo* and four for *B. calamita*) (Supplementary material S5, Fig. 2). Our sites can hence be considered as effective genetic units for further analyses.

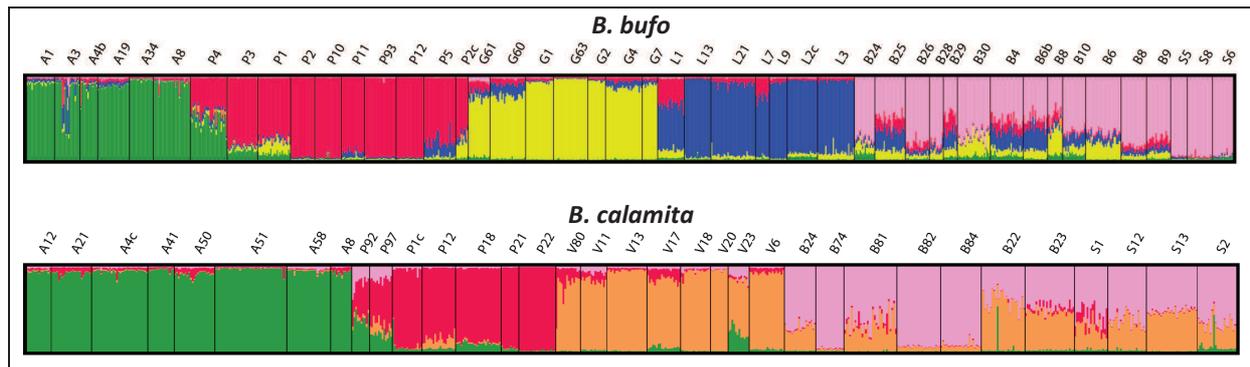


Figure 2: STRUCTURE bar plots at respectively $K = 5$ and $K = 4$ for *B. bufo* and *B. calamita*, showing the assignment of individuals to the K genetic clusters. Each bar symbolizes an individual, partitioned into K coloured components which represent the individual estimated membership coefficients in the K clusters. The individuals are ranked by ponds and ponds are separated by black lines. Pond names starting with the same letter belong to the same site.

EFFECT OF LANDSCAPE COMPOSITION ON GENETIC DIVERSITY

The corrected allelic richness per pond averaged per sample site ranged respectively from 73.5 to 82.6 for *B. bufo* and from 36.1 to 40.9 for *B. calamita* (Table 2). For both species, the sites located throughout the Seine valley (i.e. A, G, P) showed the lowest number of alleles (Table 2). Autocorrelograms revealed significant spatial correlation among genotypes for geographic distances lower than 2 km for both species in all but 1 site (Fig. 3): in P, r -values remained positively significant up to 3 km for *B. bufo* and 4 km for *B. calamita*. Based on those results, we chose a buffer size of 2 km for the genetic diversity analyses.

For *B. bufo*, genetic diversity was best explained by landscape at the oldest time point. The best model, based on the 1940s landscape, included three landscape features: the surfaces of densely wooded areas and herbaceous areas, both positively correlated with allelic richness, and the proportion of road areas, negatively correlated with allelic richness (Table 3 & Fig. 4). For the 1970s landscape, model selection retained three landscape features as well: the surfaces of semi-wooded areas and herbaceous areas showed positive relationship with allelic richness whereas urbanized areas were negatively correlated. The negative effect of urbanization seems to be effective for urbanized areas higher than ca. 76 ha (i.e. > 8.7). The final model for the 2000s landscapes only included wetland surfaces, a factor that was not significant in the 1940s and 1970s models.

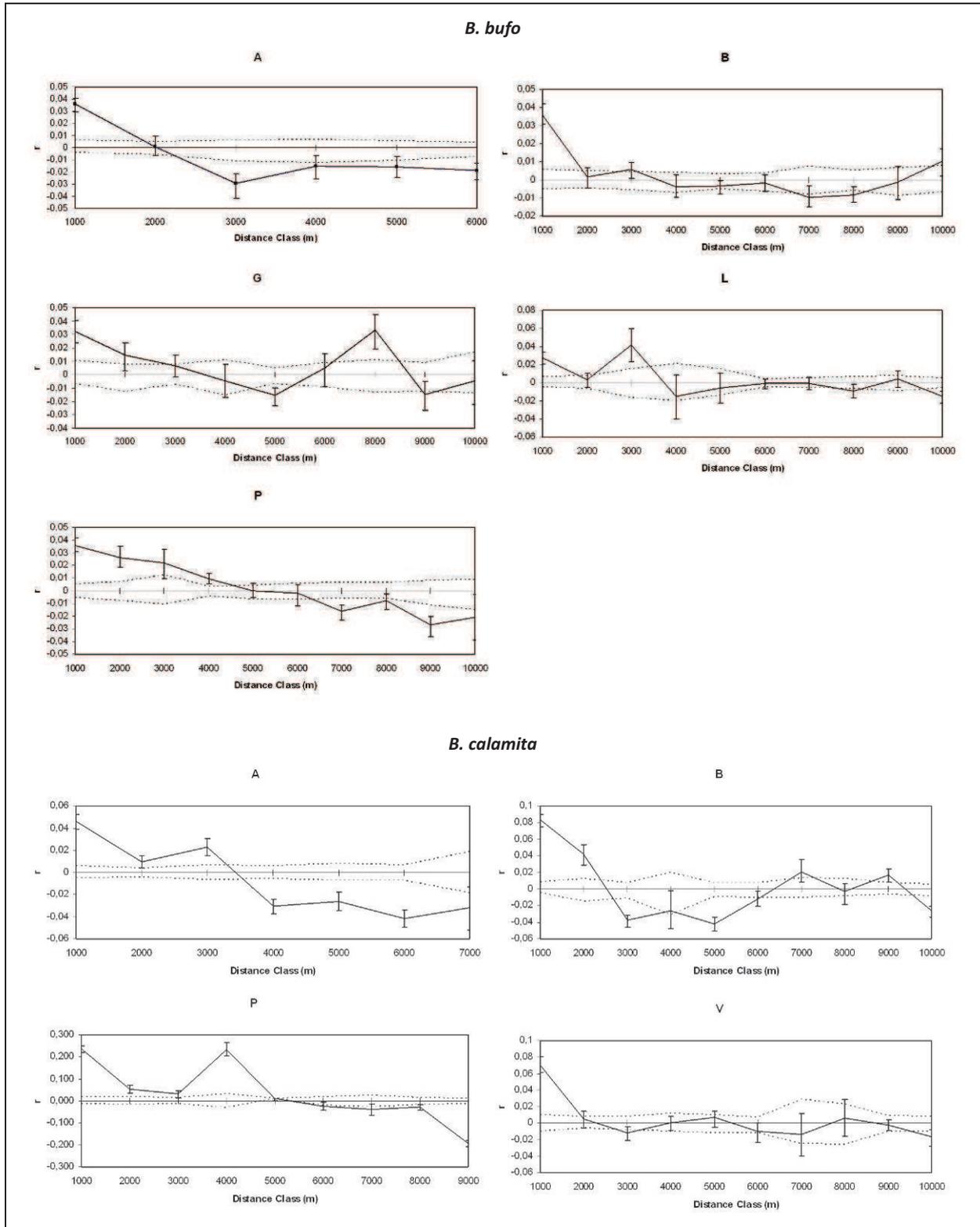


Figure 3: Correlograms showing genetic similarity among individuals (r) in relation to the distance among them, based on a distance class size of 1 km, for *B. bufo* and *B. calamita*, in each site. Dashed lines represent 95% confidence intervals of the null hypothesis ($r=0$) and error bars represent the 95% confidence limits of r .

For *B. calamita*, the 2000s landscape best explained its current genetic diversity. The final model included three landscape features: the surface of densely wooded areas, negatively correlated with allelic richness, and the surfaces of bare ground and of quarries, positively correlated with allelic richness (Table 3 & Fig. 4). Bare ground was marginally non-significant in the 2000's model, though. The models for 1940s and 1970s included the same variables, except for the surface of dense woodlands, which was not kept in the 1970s model.

For both species and for each tree time points, graphs depicting the significant relationships between land cover and genetic diversity are presented in Supplementary Material S6.

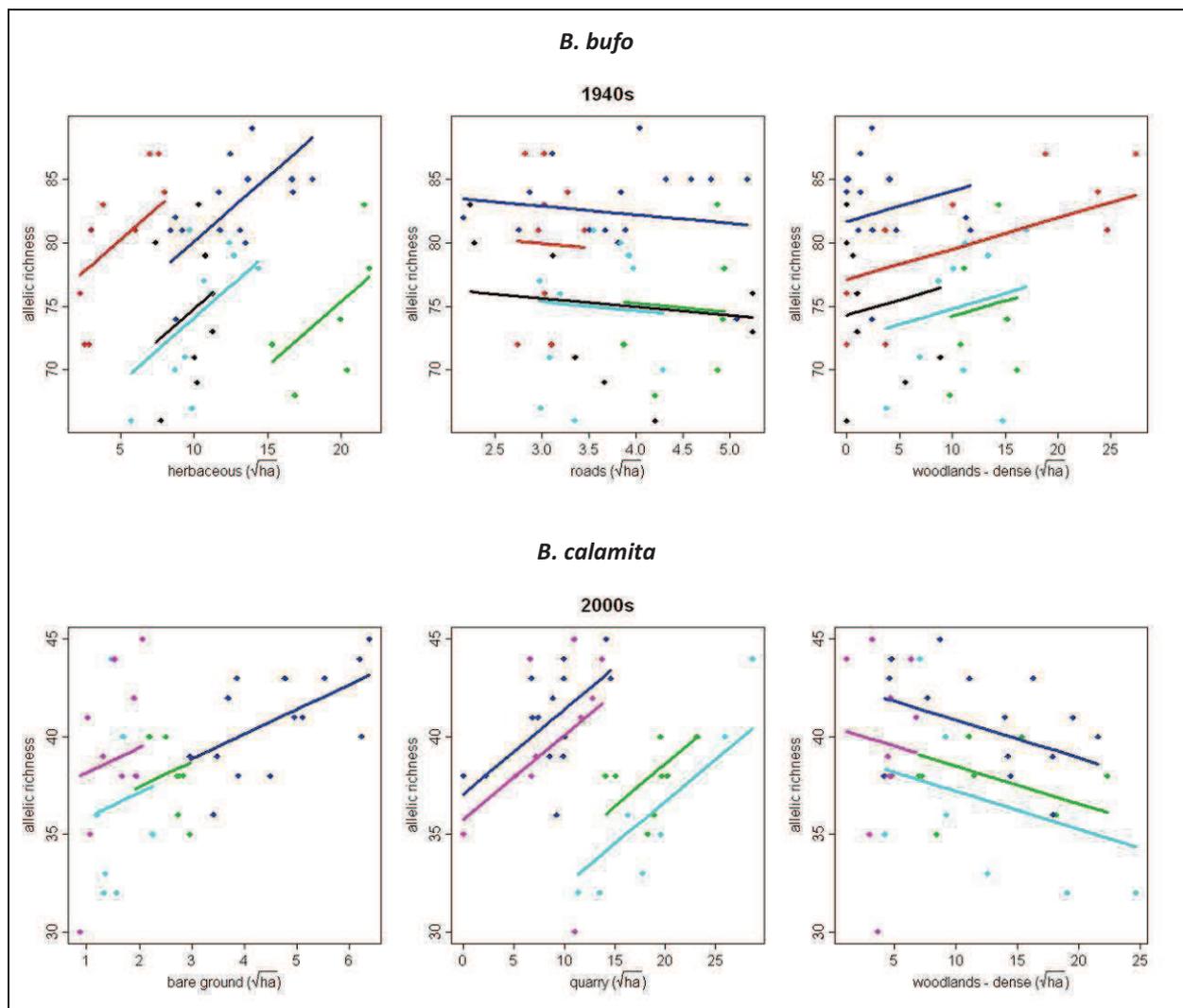


Figure 4: Relationship between allelic richness and the surfaces of land cover (square-rooted ha) that were selected in linear mixed models, for *B. bufo* (1940s) and *B. calamita* (2000s). Landscape variables were square rooted. Each site is represented with a distinct colour (A: green, B: deep blue; G: dark; L: red; P: turquoise and V: pink). Lines: fitted values for each site.

Table 3: Landscape variables selected in the final model of allelic richness of *B. bufo* and *B. calamita* with corresponding AIC, estimates and REML fitted P-values. Variable names as in Table 1.

Time scale	AIC	Landscape variables	Estimate	P-value
<i>B. bufo</i>				
1940s	286.9	Herbaceous	1.28493	<0.001
		Roads	-2.33231	0.0073
		Woodland - dense	0.23057	0.0213
1970s	288.8	Herbaceous	0.94343	<0.001
		Urban	-0.82906	0.0018
		Woodland - medium	0.73850	0.0034
2000s	298.3	Wetlands	0.84495	0.0063
<i>B. calamita</i>				
1940s	191.0	Bare ground	0.98413	0.0085
		Quarry	1.22629	<0.001
		Woodland - dense	-0.19684	0.0451
1970s	187.4	Bare ground	1.395288	0.0043
		Quarry	0.601288	<0.001
2000s	184.2	Bare ground	0.74776	0.0958
		Quarry	0.46055	<0.001
		Woodland - dense	-0.14100	0.0316

Discussion

Genetic diversity mostly depends on effective population size and incoming gene flow (Frankham *et al.*, 2010). Focusing on genetic diversity hence allows a good diagnostic of environmental quality (through its effects on population sizes) and landscape connectivity (through gene flow).

DIFFERENT LANDSCAPE FEATURES AFFECT *B. BUFO* AND *B. CALAMITA*

Our results matched well the known habitat preferences of *B. bufo*. In this species, population connectivity is usually thought to be positively affected by forest cover and herbaceous land and negatively affected by mineralized areas. Indeed, the first two elements have been recognized as the species habitats for home-ranging and dispersal (Denton, 1991; Denton and Beebee, 1994; Scribner *et al.*, 2001; Hartel *et al.*, 2008; Janin *et al.*, 2009), whereas high proportions of artificial land have been known to act as a barrier to its movements (Hitchings & Beebee, 1998). In our analyses, a positive influence of densely and semi wooded areas was found in the 1940s and 1970s models, respectively. A negative influence of mineralized areas was detected through the effect of roads in the 1940s model and the effect of urbanization in the 1970s model. In addition to resistance to movements of the mineralized surfaces, roads and urban areas support car traffic that could cause dramatic *B. bufo* mortality during dispersal and seasonal migration (Beebee, 2013). Although roads with low traffic are excellent hunting places, with warmer temperatures at night than in the surroundings, only their negative effect predominated in our analyses.

While wetlands have been observed to sometimes enhance the connectivity among *B. bufo* populations (Piha et al., 2007), the statistical signal of that landscape element in the 2000s models is probably an artefact rather than a truly influential factor. In particular for the site L, the two ponds L3 and L21 are suspected to have an overproportional effect in the models because their high genetic diversity values stand out from the others (Supplementary Material S6). The leverage calculation for both ponds confirmed the suspected artifactual influence (i.e. for $i = 1$, n populations, $h_i > 4/n$). This would explain why wetlands appeared as significant when they were the only factor in the model, as was the case for the 2000s models (wetlands were also significant if they were the only factor in the 1940s and 1970s model (1940s: $p=0.0166$, AIC = 299.86; 1970s: $p=0.0039$, AIC = 297.14) but were not retained in the final 1970's model). To our surprise, quarrying areas had no significant influence on genetic diversity, despite the fact that they account for both high vehicle traffic and surfaces of bare ground. This result is further discussed two paragraphs below.

Our results also matched our expectations based on the biology of *B. calamita*: genetic diversity was negatively affected by densely wooded areas, and positively affected by the bare grounds and quarries. It is interesting to note that, unlike for *B. bufo*, exactly the same landscape variables were retained in the final models of the 1940's, 1970's and 2000's. This could be due to the fact that those landscape elements have moved very little over time. Indeed, both densely wooded and bare ground classes correspond to spatially restricted areas that underwent little land use changes in those regions. This is because dense woodlands are either protected or belong to private forests. Bare ground soil was especially large and influential in the B site (Fig. 4), where alluvial deposits of the Loire river create large perdurable sandy habitats.

Our study sheds light on the influence of quarries on fragmentation and biodiversity maintenance. Quarries had no deleterious effects on *B. bufo* genetic diversity. This may be because (1) the quarrying area was relatively small in the 1940s and 1970s (i.e. mean quarrying area within 2km buffers < 5 ha in the 1940s and < 65 ha in the 1970s), and as a result the land conversion impact of quarrying may have been too limited to be detected at these time points. Alternatively, (2) quarries may have provided suitable habitats, favouring both demographic and gene flow processes, that would have compensated the potential negative effects quarries bare soil on *B. bufo* of. Indeed, in 1940s and 1970s the amount of open and mineralized areas, which are unsuitable for *B. bufo*, represented less than 51 % of the total quarry areas, while the rest consisted of a mosaic of habitats suitable for home-ranging and dispersal (e.g. wetlands, grassland, shrubby and dense woodlands).

Besides, quarries also provide breeding habitat in rehabilitated and active extractive lakes when close to a forested corridor with vegetated banks. 65 % of our sampled ponds were located in rehabilitated extractive lakes, which represents 28 % of the total quarry area in 1970s.

In the case of *B. calamita*, quarries were positively correlated with genetic diversity in all models. This supports our hypothesis that quarries can constitute pioneer environments that favour *B. calamita*, in particular through enhanced home-ranging and breeding (Kovacs, 2001; Voetzel et al., 2008). Unfortunately, we were unable to identify the type of within-quarry habitat that enhances *B. calamita* genetic diversity. This may be due to the quick turnover of land use inside quarries. Indeed, in our sites the combined processes of extraction and rehabilitation often caused more than 10 ha/year of land use transfer, which accounts for 10% to 100% or more of the original quarry. Consequently, the three time points we used did not allow capturing the dynamics of land use change, and therefore identify all effects associated with landscape composition within quarries.

TEMPORAL SCALE OF LANDSCAPE EFFECTS ON GENETIC DIVERSITY

The time scale at which landscape composition affects species genetic composition is an important question in landscape genetic studies. Our analyses showed that the 1940s landscape best explained *B. bufo* genetic diversity whereas the 2000s one was the most predictive for *B. calamita*. Because we carefully chose two target species with similar generation times, that discrepancy suggests distinct sensitiveness to landscape changes according to species-specific habitat preferences. For *B. bufo*, our results suggest that landscape changed faster than genetic composition between the last two time points (i.e. 1970s-2000s). Indeed, land conversion rates were highest during this period. For example, herbaceous areas near the ponds reduced by 21 % (i.e. 85 ha) between the 1970s and the 2000s while they only increased by 7% (i.e. 8 ha) between the two prior time points. Urban areas increased in similar rates for both time intervals, i.e. by 49% (i.e. 37 ha) between the 1970s and the 2000s and by 44 % (i.e. 20 ha) between the 1940s to the 1970s, but newly urbanized surfaces were doubled between the last two time points.

Breeding and dispersal of our second focal species, *B. calamita*, are mainly conditioned by the availability of pioneer habitats. In our sites, the total surface of bare soil has increased by 192 % since the 1940s. Quarries account in average for 60 % of the total amount of bare soil in 1970s and 2000s, and up to 83 % in particular sampling areas (i.e. P). This overrepresentation of quarries in terms of pioneer habitats makes *B. calamita* gene flow strongly dependent on quarrying activities. The 2000s time scale accounted for the largest amount of quarrying, and hence explained best *B. calamita* genetic diversity. Again, these conclusions underline the importance of time scale in landscape genetic studies, as highlighted by several authors before (e.g. Orsini et al., 2008; Epps et al., 2013).

QUARRIES CAN COUNTERACT NATURAL HABITAT LOSSES FOR PIONEER SPECIES

We showed here that quarrying can favour the genetic diversity of a pioneer species, *B. calamita*, and therefore increase the viability of its populations. This underlines the substitution role of quarries as home-ranging, breeding and dispersal habitat for this species. This role may become essential in areas where natural habitats have largely been replaced, such as valleys with channelized riverbeds and intensive anthropogenic land use. That may for example be the case in the Seine basin: quarries support 71 % of existing breeding sites of *B. calamita* while natural habitat only accounts for 11%. Our results further support the idea that quarries may also be beneficial in less disturbed sites such as the site B from the Loire basin (Fig. 4). Hence, quarries do not only represent a “second-choice” for *B. calamita* but may also play a role when natural habitat is available. Interestingly, *B. calamita* breeding in quarries mainly occurs in active zones despite additional mortality of juveniles and adults due to truck movement, stock transfer, dust emission and aggregate extraction. Actually, active sites represented 70 % of the ponds in which we were able to collect *B. calamita*. They thus support large populations that participate to gene flow. The extreme conditions encountered in operating quarries may drastically reduce competition and predation risks. In particular, they would be sufficient to stop colonization by competitors such as *B. bufo* (Denton & Beebee, 1994). But extractive activity could generate strong selection pressures on *B. calamita* that would necessitate its adaptation. The positive effect of quarrying on *B. calamita* genetic diversity may facilitate such adaptation, mitigating demographic decline. Large genetic diversity would favour evolutionary rescue and thus population survival (Gonzalez et al., 2012).

Similar to *B. calamita*, numerous endangered species have been observed to seek refuge in active quarries (e.g. plants: *Lythrum thymifolium*; invertebrates: *Oxygastra curtisii*; birds: *Burhinus oedicnemus*; reptiles: *Lacerta lepida* or amphibians: *Bombina variegata* (Voetzel et al., 2008)). These are generally ruderal species occurring in early successional stages, and competitively weak species living in nutrient-poor habitats. Quarries, by providing good-quality habitat and, sometimes, favouring genetic diversity and adaptation, may play a role in helping species deal with global change. However, conservation strategies also have to focus on other groups of species likely to be negatively impacted by quarrying. Our results based on *B. bufo* genetic diversity suggest that this impact could be mitigated if habitats of different nature were maintained at intermediate proportions. This paradox advocates for further research to understand the consequences of quarrying effects on community composition, dynamics and evolution.

Conclusion

On the basis on neutral genetic diversity analyses, we first confirmed the habitat preferences for our two focal species: *B. bufo* was associated with wooded and herbaceous environments and *B. calamita* appeared a pioneer species. Landscape change seemed to operate at different time scales on these species, confirming that the reconstruction of the landscape history is essential before any inference. Our results suggest new insights on genetic conservation and quarrying long-term management. (1) Since *B. bufo* did not seem to suffer from quarries surface, we suspect that within-quarries habitat diversity is sufficient to mitigate potential negative effects of quarries bare soil and disturbance. (2) We found a positive effect of quarries on *B. calamita* genetic diversity; this may contribute to the *B. calamita* adaptation to anthropogenic stresses linked to operations in active sites. (3) Long-term conservation strategies of endangered pioneer species may take into account the positive influence of this industrial activity, in particular if revegetation in rehabilitation measures is moderate.

Acknowledgments

We are indebted to Bernard Frochot, Jean-Claude Lefeuvre, Pierre Joly, Stéphanie Manel, Steve Palmer, Virginie Stevens and Justin Travis for helpful comments for this work. We are also grateful to technical helps of Khaldia Akkari, Marielle Perroz for sample data collection, to Hugo Anest, Karen Cheurlot, Emeline Hudik, Basile Hurault, Jérémy Gauthier, Emilie Klam, Angeline Lesueur, Michael Pereira, Jennifer Thomas and Nicolas Zilbermann for field work, to Jeffrey Carbillet, Louise Keszler, Lise Lallemand, Jérôme Lin, Flore Loyer and Solène Sacré for GIS work, and to Florian Lesage, Josie Lambourdière and Jose Utge for genetic data collection. All molecular analyses were supported by the 'Service de Systématique Moléculaire' of the Muséum National d'Histoire Naturelle (UMS 2700; OMSI). We thank Julio Pedraza-Acosta (UMS 2700; OMSI) for providing high-performance computing facilities. We finally thank the French National Union of Aggregates and the participating quarrying companies which have led us to sample operating sites in the person of Yves Adam and Christian Béranger, and the engineering office ENCEM in the person of Olivier Verdier, Johan Gourvil and Pascal Maurel for technical information about quarry ecology.

References

- Banks B, Beebee TJC, Cooke AS (1994) Conservation of the Natterjack toad *Bufo calamita* in Britain over the period 1970–1990 in relation to site protection and other factors. *Biological Conservation*, 67, 111–118.
- Barnaud G and Le Bloch F (1998) *Entre Terre et Eau, Agir pour les zones humides, Dossier d'information*. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement, Paris, France.
- Beebee TJC (1983) *The Natterjack Toad*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Beebee TJC (2013) Effects of Road Mortality and Mitigation Measures on Amphibian Populations. *Conservation Biology* 27(4) : 657-668
- Belkhir, K. et al . (1996–2004) GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la Génétique des populations. Laboratoire Genome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France. URL: <http://www.genetix.univmontp2.fr/genetix/intro.htm>.
- Benes J, Kepka P and Konvicka M (2003) Limestone Quarries as Refuges for European Xerophilous Butterflies. *Conservation Biology*, 17(4) : 1058–1069.
- Berhe AA (2007) The contribution of landmines to land degradation. *Land Degradation & Development* 18: 1–15. DOI: 10.1002/ldr.754
- Blanchong JA, Sorin AB and Scribner KT (2013) Genetic diversity and population structure in urban white-tailed deer. *Journal of wildlife management* 77 (4): 855-862
- Brandle M, Durka W and Altmöös M (2000). Diversity of surface dwelling beetle assemblages in open-cast lignite mines in Central Germany. *Biodiversity and Conservation* 9: 1297–1311.
- Brede EG, Rowe G, Trojanowski J and Beebee TJC (2001). Polymerase chain reaction primers for microsatellite loci in the common toad *Bufo bufo*. *Molecular Ecology Notes* 1, 308–310.
- Bzdon, G (2008) Gravel pits as habitat islands: floristic diversity and vegetation analysis. *Polish Journal of Ecology* 56:239-250.
- Carlsson J, McDowell JR, Diaz-Jaimes P, Carlsson JEL, Boles SB, Gold JR, and Graves JE (2004) Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology* 13:3345-3356.
- Clements R, Sodhi NS, Schilthuizen M, et al. (2006) Limestone Karsts of Southeast Asia: Imperiled Arks of Biodiversity. *BioScience* 56 : 733-742
- Colwell RK, Mao CX and Chang J (2004). Interpolating, extrapolating, and comparing incidence-based species accumulation curves. *Ecology*, 85, 2717–2727.
- Cooke AS and Oldham RS (1995) Establishment of populations of the common frog, *Rana temporaria*, and common toad, *Bufo bufo*, in a newly created reserve following translocation. *Herpetological Journal* 5: 173–180.
- Cushman SA (2006) Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biological Conservation* 128:231-240.
- De Vere N, Jongejans E, Plowman A and E Williams (2009) Population size and habitat quality affect genetic diversity and fitness in the clonal herb, *Cirsium dissectum*. *Oecologia* 159:59-68
- Denton JS (1991) *The terrestrial ecology of the natterjack *Bufo calamita* and the common toad, *Bufo bufo**. PhD thesis, University of Sussex.
- Denton J and Beebee TJC (1991) Terrestrial ecology of the natterjack toad *Bufo calamita*. In: Korsós Z. and Kiss I. (eds). *Proceedings of the Sixth Ordinary General Meeting*. S. E. H., Budapest, pp. 137-141.
- Denton JS, Beebee TJC (1993) Reproductive strategies in a female-biased population of Natterjack toads, *Bufo calamita*. *Animal Behaviour*, 46, 1169–1175.
- Denton JS and Beebee TJC (1994) The basis of niche separation during terrestrial life between two species of toad *Bufo bufo* and *Bufo calamita*: competition or specialisation? *Oecologia* 97:390-398.
- Denton JS and Beebee TJC (1996) Double clutching by natterjack toads *Bufo calamita* at a site in southern England. *Amphibia-Reptilia*, 17, 159–167.
- Dixo M, Metzger JP, Morgante JS, and Zamudio KR (2009) Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. *Biological Conservation* 142:1560-1569.
- Duchesne P and Turgeon J (2012) FLOCK Provides Reliable Solutions to the "Number of Populations" Problem *Journal of Heredity* 2012; doi: 10.1093/jhered/ess038
- Earl DA and vonHoldt BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* vol. 4 (2) pp. 359-361.
- Eggert C and Miaud C (2004) Estimation de la réussite du déplacement de populations de Crapaud calamite et Pélodyte ponctué dans le cadre de l'aménagement du Port Autonome du Havre Port 2000 - Bilan au terme de la 3ème année. LBPA Université de Savoie, Le Bourget du Lac. 55p.

- Epps CW, Palsoll PJ, Wehausen JD, Roderick GK, Ramey II RR, McCullough DR (2005). Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecol Lett* 8 : 1029–1038
- Epps CW, Wasser SK, Keim JL, Mutayoba BM and Brashares JS (2013) Quantifying past and present connectivity illuminates a rapidly changing landscape for the African elephant. *Molecular Ecology*: 22, 1574–1588
- Evanno G, Regnaut S and Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611–2620.
- Fahrig L (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 34, 487–515.
- Frankham R (1996), Relationship of Genetic Variation to Population Size in Wildlife. *Cons Biol* 10 :1500-1508
- Frankham R, Balou J and Briscoe D (2010) Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press, 618 pp.
- Glandt D (1986) Die saisonalen wanderungen der mitteleuropaischer amphibien. *Bonn. zool. Beitr.* 37. 3: 211 -228.
- Goldberg CS and Waits LP (2010) Comparative landscape genetics of two pond-breeding amphibian species in a highly modified agricultural landscape. *Molecular Ecology* 19 :3650–3663.
- Gonzalez A, Ronce O, Ferriere R and Hochberg ME (2012) Evolutionary rescue: an emerging focus at the intersection between ecology and evolution. *PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY B-BIOLOGICAL SCIENCES* Volume: 368 Issue: 1610
- Goudet J (1995) FSTAT (Version 1.2): a computer program to calculate F -statistics. *Journal of Heredity* 86 :485–486
- Guillot G, Renaud S, Ledevin R, Michaux J and Claude A (2012) Unifying Model for the Analysis of Phenotypic, Genetic and Geographic Data. *Systematic Biology*, 61(5) 897-911
- Halley JW, Oldham RS and Arntzen JW (1996) Predicting the persistence of amphibian populations with the help of a spatial model. – *J. Appl. Ecol.* 33: 455–470.
- Hanski I (1999) Metapopulation ecology. Oxford University Press, Oxford.
- Hartel T, Nemes S, Demeter L and Oellerer K (2008) Pond and landscape characteristics - which is more important for common toads (*Bufo bufo*)? A case study from central Romania. *Applied Herpetology* 5 (1) 1-12.
- Hitchings SP and Beebee JTC (1998) Loss of genetic diversity and fitness in Common Toad (*Bufo bufo*) populations isolated by inimical habitat. *J. evol. biol.* 11 (1998) 269-283
- Hof C, Araujo MB, Jetz W, and Rahbek C (2011) Additive threats from pathogens, climate and land-use change for global amphibian diversity. *Nature* 480:516-U137.
- Hoffman JJ, Peck LS, Linse K, and Clarke A (2011) Strong Population Genetic Structure in a Broadcast-Spawning Antarctic Marine Invertebrate *Journal of Heredity* 2011:102(1):55–66
- Holzhauser SIJ, Ekschmitt K, Sander A, Dauber J and Wolters V (2006) Effect of historic landscape change on the genetic structure of the bush-cricket *Metrioptera roeseli*. *Landscape Ecology* 21:891–899.
- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M and Pritchard JK (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources* 9, 1322–1332
- Hughes A. et al. (2008) Ecological consequences of genetic diversity. – *Ecol. Lett.* 11: 609 – 623.
- Jakobsson M and Rosenberg NA (2007) CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, Vol. 23 no. 14, pages 1801–1806.
- Janin A, Léna JP, Ray N, Delacourt D, Allemand P and Joly P (2009) Assessing landscape connectivity with calibrated cost-distance modelling: predicting common toad distribution in a context of spreading agriculture. *Journal of Applied Ecology* 46 :833–841
- Kalinowski ST (2004) Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling design. *Conservation Genetics*, 5, 539–543.
- Karraker N and Gibbs JP (2009) Amphibian production in forested landscapes in relation to wetland hydroperiod: a case study of vernal pools and beaver ponds. *Biological Conservation*, 142, 2293–2302.
- Kovacs JC (2001) Le patrimoine écologique des zones humides issues de l'exploitation des carrières. Etude Ecosphère- Comité Nationale de la Charte Environnement de l'UNPG. 9 septembre 2001.
- Lameed GA and Ayodele AE (2010) Effect of quarrying activity on biodiversity: Case study of Ogbere site, Ogun State Nigeria. *African Journal of Environmental Science and Technology* 4 : 740-750
- Leimu R, Mutikainen P, Koricheva J and Fischer M (2006) How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *Journal of Ecology* 2006 94 , 942–952
- van Loon EE, Cleary DFR and Fauvelot C (2007) ARES: software to compare allelic richness between uneven samples. *Mol. Ecol. Notes*, 7, 579–582.
- Martino L and Fritz M (2008) New insight into land cover and land use in Europe. *Eurostat* 33/2008.
- Moura AE, Natoli A, Rogan E and Hoelzel AR (2012) Atypical panmixia in a European dolphin species (*Delphinus delphis*): implications for the evolution of diversity across oceanic boundaries. *J. EVOL. BIOL.* 26 (2013) 63–75

- Novak J and Konvicka M (2006) Proximity of valuable habitats affects succession patterns in abandoned quarries. *Ecol. Eng.* 26: 113-122.
- Orsini L, Corander J, Alasentie A and Hanski I (2008) Genetic spatial structure in a butterfly metapopulations correlates better with past than present demographic structure. *Mol Ecol* 17:2629–2642
- Peakall R, Smouse P (2005) GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288–295.
- Peakall R, Ruibal M, Lindenmayer DB (2003) Spatial autocorrelation analysis offers new insights into gene flow in the Australian bush rat, *Rattus fuscipes*. *Evolution*, 57, 1182–1195.
- Peakall R, Smouse PE, and Huff DR (1995) Evolutionary implications of allozyme and RAPD variation in diploid populations of buffalograss *Buchloe dactyloides*. *Mol. Ecol.* 4: 135-147.
- Piha H, Luoto M and Merila J (2007) Amphibian occurrence is influenced by current and historic landscape characteristics. *Ecological Applications* 17: 2298–2309.
- Pinheiro JC. and Bates DM (2000). *Mixed-Effects Models in S and S-Plus*. Springer, London
- Pope SE, Fahrig L and Merriam NG (2000) Landscape complementation and metapopulation effects on leopard frog populations. *Ecology*, 81, 2498– 2508.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945–959.
- R Core Team (2013). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Rannap R, Lohmus A and Jakobson K (2007) Consequences of coastal meadow degradation: The case of the natterjack toad (*Bufo calamita*) in Estonia. *Wetlands* 27:390-398.
- Raymond M and Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Hered.* 86:248–249.
- Reading CJ, Loman J, and Madsen T (1991) Breeding pond fidelity in the common toad, *Bufo bufo*. *Journal of the Zoological Society of London* 225:201–211
- Rogell B, Gyllenstrand N and Höglund J (2005) Six polymorphic microsatellite loci in the natterjack toad *Bufo calamita*. *Mol Ecol Notes* 5:639–640
- Romero J and Real R (1996) Macroenvironmental factors as ultimate determinants of distribution of common toad and natterjack toad in the south of Spain. *Ecography* 19: 305-312.
- Rosenberg NA (2004) Distruct: a program for the graphical display of population structure, *Mol. Ecol. Notes* 4, 137-138
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F - statistics under isolation by distance. *Genetics* 145:1219 - 1228
- Rousset F (2008) Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour.* 8:103–106. Rozen S, Skaletsky HJ. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Krawetz S, Misener S, editors. *Bioinformatics methods and protocols: methods in molecular biology*. Totowa, NJ: Humana Press. p. 365–386.
- Rowe G, Beebee TJC and Burke T (1997) PCR primers for polymorphic microsatellite loci in the anuran amphibian *Bufo calamita*. *Mol Ecol* 6:401–402
- Rowe G, Beebee TJC and Burke T (2000) A microsatellite analysis of natterjack toad, *Bufo calamita*, metapopulations. *Oikos* 88: 641–651.
- Rowe G, Beebee TJC and Burke T (2001) A further four polymorphic microsatellite loci in the natterjack toad *Bufo calamita*. *Conserv Genet* 1:371–372
- Santoul F (2000) L'avifaune aquatique des gravières de la plaine alluviale de la Garonne, thèse, Université de Toulouse III.
- Santoul F, Gaujard A, Angélibert S, Mastrotillo S and Céréghino R (2009) Gravel pits support waterbird diversity in an urban landscape. *Hydrobiologia* 634:107–114.
- Schlupp I and Podlucky R (1994) Changes in breeding site fidelity: a combined study of conservation and behaviour in the common toad *Bufo bufo*. *Biological Conservation* 69: 285–291.
- Schulz F and Wiegand G (2000) Development options of natural habitats in a post-mining landscape. *Land Degradation & Development* 11: 99–110.
- Scribner KT, Arntzen JW, Cruddace N, Oldham RS and Burke T (2001). Environmental correlates of toad abundance and population genetic diversity. *Biological Conservation* 98 : 201-210.
- Sinsch U (1989). *Migratory behaviour of the common toad (Bufo bufo) and the natterjack toad (Bufo calamita)*. *Amphibians and Roads* (ed. T.E.S. Langton), pp. 113–125. *ACOPolymer Products*, London.
- Sinsch U (1990) Migration and orientation in anuran amphibians. *Ethology Ecology and Evolution*, 2, 65–79.
- Sinsch U (1992) Structure and dynamic of a Natterjack toad metapopulation (*Bufo calamita*). *Oecologia*, 90, 489–499.
- Sinsch U (1997) Postmetamorphic dispersal and recruitment of first breeders in a *Bufo calamita* metapopulation. *Oecologia*, 112, 42–47.

- Sinsch U, Oromi N, Miaud C, Denton J and Sanuy D (2012) Connectivity of local amphibian populations: modelling the migratory capacity of radiotracked natterjack toads. *Animal Conservation* 15(4): 388-396, DOI: 10.1111/j.1469-1795.2012.00527.x.
- Smith MA and Green DM (2005) Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* 28: 110-128.
- Smouse PE, and Peakall R (1999) Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Hereditas* 82:561-573.
- Soulé ME (1976) Allozyme variation, its determinants in space and time. Pages 60-77 in F. J. Ayala, editor. *Molecular evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Stevens VM, Polus E, Wesselingh RA, Schtickzelle N and Baguette M (2004) Quantifying functional connectivity: experimental evidence for patch-specific resistance in the natterjack toad (*Bufo calamita*). *Landscape Ecology* 19:829-842
- Stevens VM, Verkenne C, Vandewoestijne S, Wesselingh RA, and Baguette M (2006) Gene flow and functional connectivity in the natterjack toad. *Molecular Ecology* 15:2333-2344.
- Stout J, Vandermeer J (1975) Comparison of species richness for stream-inhabiting insects in tropical and midlatitude streams. *American Nature*, 109, 263-280.
- Taylor PD et al. (1993) Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos* 68, 571-573
- Tropek R and Konvicka M (2008) Can quarries supplement rare xeric habitats in a piedmont region? Spiders of the Blanksi les Mts, Czech Republic. *Land Degrad. Develop.* 19: 104-114
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Willis DPM and Shipley P (2004) Micro - Checker : software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4, 535-538.
- Voetzel D, Rohaut M and Arbion M (2008) Potentialités écologiques des carrières de roche massive. *Etude UNPG*, 304 pages.
- Wang J (2004) Sibship reconstruction from genetic data with typing errors. *Genetics*, 166, 1963-1979.
- Weir BS and Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Wilcox BA, and Murphy DD (1985) Conservation strategy – The effects of fragmentation on extinction. *American Naturalist* 125:879-887.
- Zellmer AJ and Knowles LL (2009) Disentangling the effects of historic vs. contemporary landscape structure on population genetic divergence. *Molecular Ecology* 18 :3593-3602.
- Zuur AF., Ieno EN, Walker NJ, Saveliev AA, and Smith GM (2009) *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Statistics for Biology and Health. Springer- Verlag, New York, New York, USA

Supplementary materials

S1: CHARACTERIZATION OF THE SITES

Table SI *Ss*: site name; *Sa*: site area (km²); *MI*: maximum length of the site (km); *Mw*: maximum width of the site (km); *Fo*, *Fa*, *Hh* and *Uz*: respectively, proportion of surfaces of forests, farmland (i.e. ploughed soils), herbaceous areas and urban areas in 2011; *Qu*: surfaces of quarries (operating and rehabilitated sites) in 2011 and corresponding proportion of site surface; *Years*: years used for land cover mapping.

<i>Ss</i>	<i>Sa</i> (km ²)	<i>MI</i> (km)	<i>Mw</i> (km)	<i>Fo</i> (%)	<i>Fa</i> (%)	<i>Hh</i> (%)	<i>Uz</i> (%)	<i>Qu</i> ha (%)	<i>Years</i>
A	48.1	10.9	5.4	33.5	18.1	16.7	8.9	1068.9 (22.3)	1947, 1972, 2008
B	439.9	50.7	11.3	25.9	42.2	9.0	12.0	1661.9 (3.8)	1949, 1968, 2006
G	107.9	17.1	9.7	32.8	34.2	6.7	13.0	997.1 (9.2)	1946, 1973, 2013
L	262.1	23.3	13.0	27.1	65.6	1.8	3.2	295.1 (1.1)	1949, 1969, 2003
P	233.9	21.5	18.3	30.8	33.1	6.6	12.0	2955.9 (12.6)	1946, 1973, 2005
V	440.1	29.9	19.9	5.0	89.3	0.8	0.3	455.2 (1.0)	1949, 1974, 2007

S2: PCR PROCEDURES AND MICROSATELLITE MARKERS

PCR procedures

For multiplexes, a standard PCR mix was prepared using Multiplex PCR Kit (Quiagen) with 1.25 μL pre-mix including selected markers (standard protocol unless noted in [Table S2](#): 5 μL of each 100 μM primer solution topped up with Tris-EDTA Buffer to 250 μL), 6.25 μL Type-it Multiplex PCR Master Mix, 1 μL DNA solution and the mix was topped up with distilled H₂O to 12.5 μL . For simplexes, a standard PCR mix was prepared using Simplex PCR Kit (Quiagen) with 0,3 μL 6.6 mM dNTP solution, 0.25 μL R-primer 10 μM , 0.1 μL F-primer 10 μM , 1 μL standard buffer, 1 μL 25mM MgCl₂, 0.2 μL Taq DNA polymerase (5u/ μl), 1 μL DNA solution and the mix was topped up with distilled H₂O to 10 μL . All PCRs were conducted in a thermocycler Mastercycler egradient (Eppendorf). Different PCR procedures had to be used for different microsatellite loci (see Table S2):

PCR procedure A: multiplex with initial denaturing (95 °C) 15 min, 35 cycles (94 °C 30 sec denature, annealing temp 60 sec, 72 °C extension 60 sec), and 60 °C 30 min final extension.

PCR procedure B: multiplex touch-down with initial denaturing (95 °C) 3 min, 2 cycles each decreasing 2 degrees (94 °C 20 sec denature, annealing temp 20 sec, 72 °C extension 30 sec) and 15 cycles for fifth and last step 94 °C 20 sec denature, annealing temp 20 sec, 72 °C extension 30 sec).

PCR procedure B': simplex touch-down following same procedure as for B.

PCR procedure C: simplex with initial denaturing (95 °C) 5 min, 5 cycles (95 °C 60 sec denature, annealing temp 30 sec, 72 °C extension 60 sec), 25 cycles (95 °C 60 sec denature, annealing temp 30 sec, 72 °C extension 60 sec) and 72 °C 30 min final extension.

PCR procedure D: simplex with initial denaturing (95 °C) 3 min, 7 cycles (94 °C 45 sec denature, annealing temp I 45 sec, 72 °C extension 20 sec), 30 cycles (94 °C 45 sec denature, annealing temp II 45 sec, 72 °C extension 20 sec) and 72 °C 15 min final extension.

Microsatellite markers

Table S2 Microsatellite markers for *B. bufo* and *B. calamita* used in this study and their associated PCR procedures. PCR procedure (Proc.; letters refer to the procedure names in the explanations provided above), annealing temperature in °C (Temp.), fluorescent Dye Label (Fluo.), multiplex primer concentration in µL ([primer]), type of PCR mix and genotyping panel code for the microsatellite markers. Total number of alleles (*A*), allele size range in bp (Range), expected heterozygosity (*He*) and fixation index (*F*) are presented for finally retained markers.

Marker	Proc	Temp.	Fluo.	[primer]	PCR Mix	Panel	<i>A</i>	Range	<i>He</i>	<i>F</i>
<i>B. bufo</i>										
<i>Bbufμ11</i> ^a	A	57	6-Fam	5	Standard	A2	28	88 - 140	0.877	0.076
<i>Bbufμ13</i> ^a	B	66	6-Fam	-	0,6 µL MgCL2	B2	27	142 - 211	0.893	0.053
<i>Bbufμ14</i> ^a	B	62	Pet	4	Standard	B2	10	191 - 209	0.664	0.051
<i>Bbufμ15</i> ^a	A	57	Vic	5	Standard	A2	-	-	-	-
<i>Bbufμ24</i> ^a	A	58	6-Fam	4	Standard	C2	15	125 - 155	0.757	0.049
<i>Bbufμ39</i> ^a	A	57	6-Fam	5	Standard	A2	12	180 - 200	0.614	0.099
<i>Bbufμ47</i> ^a	A	58	Vic	3	Standard	C2	31	132 - 228	0.756	0.067
<i>Bbufμ49</i> ^a	B	62	Ned	7	Standard	B2	35	146 - 232	0.943	0.082
<i>Bbufμ54</i> ^a	C	60	Pet	-	Standard	A2	16	162 - 192	0.823	0.089
<i>Bbufμ62</i> ^a	A	58	Ned	7	Standard	C2	21	164 - 216	0.805	0.081
<i>Bbufμ65</i> ^a	B	62	Vic	5	Standard	B2	40	141 - 231	0.950	0.126
<i>B. calamita</i>										
<i>Bcalμ1</i> ^b	A	58	6-Fam	5	Standard	A3	11	133 - 163	0.873	0.077
<i>Bcalμ2</i> ^b	A	58	Ned	4	Standard	B4	6	193 - 201	0.493	0.199
<i>Bcalμ3</i> ^b	C	55	6-Fam	-	0,6 µL MgCL2	B4	17	117 - 143	0.850	0.088
<i>Bcalμ5</i> ^b	A	58	6-Fam	5	Standard	A3	11	232 - 252	0.746	0.042
<i>Bcalμ6</i> ^b	D	44, 46	Pet	-	Standard	C5	7	162 - 180	0.708	0.090
<i>Bcalμ7</i> ^b	A	63	Ned	5	Standard	C5	7	146 - 168	0.365	0.106
<i>Bcalμ8</i> ^b	A	58	Pet	4	Standard	B4	18	164 - 200	0.708	0.090
<i>Bcalμ10</i> ^c	A	58	Vic	5	Standard	A3	9	147 - 165	0.742	0.111
<i>Bcalμ12</i> ^c	A	58	6-Fam	7	Standard	B4	-	-	-	-
<i>Buca1</i> ^d	C	58	Ned	-	Standard	A3	5	226 - 234	0.713	0.163
<i>Buca3</i> ^d	C	66	Vic	-	Standard	B4	-	-	-	-
<i>Buca5</i> ^d	A	58	Pet	5	Standard	A3	6	131 - 143	0.399	0.122
<i>Buca6</i> ^d	A	63	Vic	5	Standard	C5	9	227 - 251	0.686	0.125

^a Brede et al., 2001; ^b Rowe et al., 1997; ^c Rowe et al., 2000; ^d Rogell et al., 2005

S3: FLOCK AND GENELAND PROCEDURES

FLOCK v2.0 is a non-Bayesian algorithm using maximum-likelihood iterative allocation to provide admixture maps and define the appropriate number of genetic clusters. FLOCK was performed with a random initial partition of samples, 50 iterations (i.e. re-allocations) per run and 50 runs. Because we wanted the samples to be re-allocated as soon as there is a highest log-likelihood difference between populations, we chose a null log-likelihood difference threshold.

GENELAND v4.0 is a Bayesian algorithm which consists in clustering individual genotypes into K genetic groups, such that those groups minimize linkage and Hardy-Weinberg disequilibria. To infer K , 10 runs were performed for each species using 100 000 iterations, minimum number of population set to 1 and maximum number of populations set respectively to 51 and 39 for *B. bufo* and *B. calamita* (i.e. the respective numbers of ponds that were sampled). The amount of uncertainty attached to the spatial coordinates was considered as null. Maximum number of nuclei in the Poisson–Voronoi tessellation and maximum rate of the Poisson process used to generate the Voronoi cells were set to 50. For the assignment procedure, the length of the burn-in period was set to 20 000 iterations. For both procedures, we assumed allele frequencies to be independent among populations and therefore used the Dirichlet model. All operations were conducted using the Geneland package for R (Guillot et al., [2012](#)).

S4: SAMPLE SIZES AND STANDARD POPULATION GENETIC ANALYSES

Table S3 Sample sizes and standard population genetic analyses for each sampled pond, for *B. bufo* and *B. calamita*. Pond: pond name; n: number of individuals genotyped; Ar: allelic richness; He: expected heterozygotie; F_{IS} : inbreeding coefficient and associated significance of Hardy-Weinberg deviation.

<i>B. bufo</i>						<i>B. calamita</i>					
Site	Pond	n	Ar	He	F_{IS}	Site	Pond	n	Ar	He	F_{IS}
A	A1	22	72.0	0.728	0.012 (0.7665)	A	A4c	32	39.7	0.577	-0.072 (0.0157)
	A3	20	78.0	0.764	0.096 (0.0025)		A8	12	38.2	0.557	0.063 (0.7998)
	A4b	14	83.1	0.767	0.086 (0.1116)		A12	14	37.5	0.528	0.041 (0.8912)
	A8	29	74.4	0.757	-0.016 (0.3887)		A21	23	38.1	0.566	-0.026 (0.3070)
	A19	25	68.3	0.725	0.038 (0.3221)		A41	15	35.3	0.535	-0.083 (0.0378)
	A34	19	69.5	0.711	0.072 (0.1349)		A50	23	40.5	0.579	-0.048 (0.2179)
B	B4	26	83.6	0.785	0.039 (0.0158)	B	A58	25	36.2	0.532	-0.012 (0.1557)
	B6	19	81.7	0.765	0.098 (<0.001)		B22	25	42.1	0.640	0.011 (0.8917)
	B6b	28	80.9	0.774	0.036 (0.0047)		B23	28	43.4	0.628	-0.001 (0.8559)
	B8	12	85.2	0.733	0.098 (0.0029)		B24	18	40.8	0.595	0.107 (0.9029)
	B9	19	86.1	0.782	0.053 (0.0153)		B74	16	38.2	0.571	-0.064 (0.1521)
	B10	18	80.9	0.778	0.036 (0.2106)		B81	25	41.2	0.606	0.022 (0.9902)
	B24	16	80.1	0.776	0.054 (0.0290)		B82	23	36.3	0.533	0.044 (0.9388)
	B25	24	85.3	0.789	0.126 (<0.001)		B84	7	38.8	0.567	-0.045 (0.2891)
	B26	19	84.5	0.790	0.019 (0.1050)		B86	9	38.0	0.506	-0.002 (0.3682)
	B28	11	80.9	0.778	0.019 (0.1151)		B99	25	39.3	0.551	0.022 (0.7336)
	B29	11	88.5	0.771	0.104 (0.0031)		S1	19	44.9	0.642	0.036 (0.8707)
	B30	26	84.4	0.784	0.040 (0.0080)		S2	22	43.7	0.585	-0.001 (0.4290)
	S5	13	81.9	0.768	-0.017 (0.1896)		S12	22	42.9	0.610	-0.060 (0.3587)
	S6	6	80.9	0.722	0.077 (0.7146)		S13	29	42.9	0.613	0.003 (0.6250)
S8	20	74.0	0.758	0.038 (0.0226)							
G	G1	22	71.1	0.735	0.076 (0.0072)	P	P1c	17	36.3	0.561	0.048 (0.9247)
	G2	14	66.2	0.705	-0.006 (0.4884)		P12	19	32.3	0.493	-0.001 (0.5336)
	G4	30	79.4	0.744	0.026 (0.3320)		P18	25	33.7	0.536	0.060 (0.8727)
	G7	12	73.3	0.697	-0.045 (0.6545)		P21	10	33.5	0.485	-0.110 (0.0210)
	G8	7	66.6	0.626	0.026 (0.2291)		P22	21	31.8	0.503	-0.025 (0.1200)
	G60	28	79.8	0.723	0.030 (0.6674)		P65	8	29.6	0.442	0.038 (0.5845)
	G61	17	83.3	0.754	0.009 (0.3453)		P91	6	35.0	0.527	-0.061 (0.3067)
	G63	27	68.7	0.729	0.023 (0.0321)		P92	10	39.9	0.593	0.086 (0.9689)
L	L1	21	80.7	0.725	-0.053 (0.9382)	V	P97	13	44.0	0.633	0.004 (0.7291)
	L2	8	86.8	0.678	-0.040 (0.7209)		V6	20	42.2	0.622	0.002 (0.5001)
	L2c	24	83.4	0.746	-0.057 (0.9324)		V11	15	45.4	0.623	0.013 (0.5372)
	L3	29	87.3	0.771	-0.021 (0.0984)		V13	23	41.1	0.590	-0.023 (0.3953)
	L5	5	72.2	0.704	0.032 (0.3367)		V17	19	44.2	0.609	-0.040 (0.2736)
	L7	11	80.6	0.719	0.075 (0.0364)		V18	17	37.5	0.554	-0.013 (0.3982)
	L9	14	75.7	0.750	0.018 (0.4596)		V20	10	39.1	0.572	-0.062 (0.0598)
	L13	21	71.8	0.738	0.037 (0.1428)		V23	12	38.3	0.529	-0.001 (0.3215)
L21	35	84.4	0.766	-0.022 (0.1770)	V24	8	35.3	0.550	0.022 (0.5703)		
P	P1	26	77.7	0.737	0.013 (0.1562)	V80	14	44.3	0.636	0.026 (0.4815)	
	P2	19	71.4	0.724	0.060 (0.0450)						
	P2c	10	78.9	0.731	-0.112 (0.9793)						
	P3	24	80.2	0.748	-0.021 (0.9821)						
	P4	29	76.6	0.736	0.006 (0.1284)						
	P5	25	81.2	0.768	-0.011 (0.4662)						
	P10	21	66.8	0.736	0.086 (0.0078)						
	P11	18	65.6	0.722	0.052 (0.1056)						
	P12	22	69.6	0.740	0.065 (0.0448)						
	P93	25	75.9	0.760	0.016 (0.0295)						

S5: INFERENCE OF THE NUMBER OF GENETIC CLUSTERS

The appropriate number of genetic clusters estimated with STRUCTURE was determined using the delta K criterion provided by STRUCTURE HARVESTER. Based on the log-likelihood of the STRUCTURE model estimates $\ln P(D)$, the delta K is computed from the mean of the second order rate of change of the $\ln P(D)$ values of a given K divided by the standard deviation of $\ln P(D)$. The upper value of deltaK is reached for the most likely number of genetic clusters.

For *B. bufo*, a first peaking was reached for K=2 (Fig. S1), and a second peaking for K=5. These two structures correspond respectively to the limits of the main river drainages (i.e. Seine vs Loire) and to the 5 sites. The same pattern was observed for *B. calamita* with a first level of structuring for K=2 and a second level for K=4 (Fig. S1).

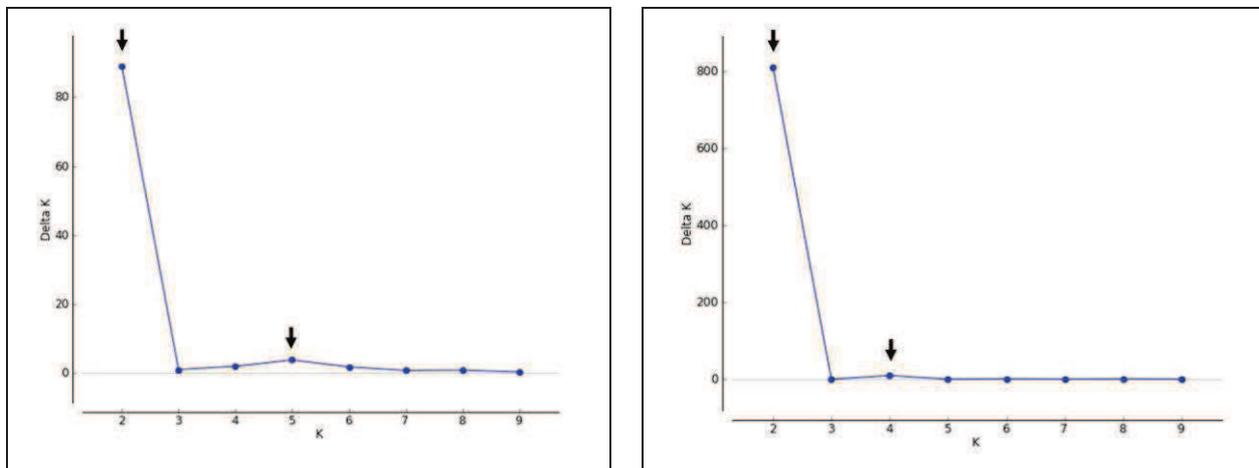


Fig. S1 Changes in delta K for the different values of K tested, for *B. bufo* (left panel) and *B. calamita* (right panel). Arrows indicate the two peaks of deltaK.

S6: RELATIONSHIP BETWEEN ALLELIC RICHNESS AND THE LANDSCAPE VARIABLES FOR THE TREE TIME INTERVALS

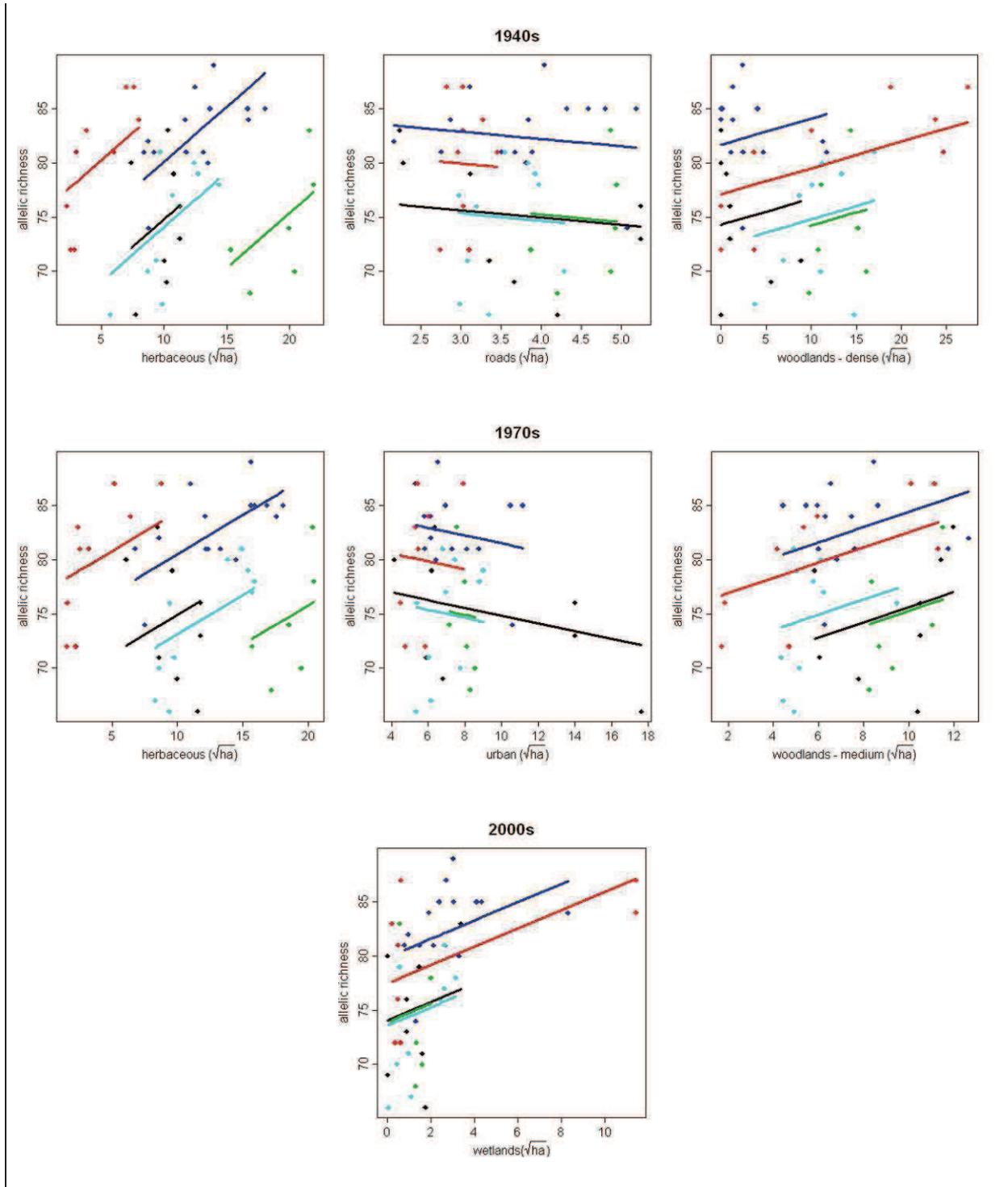


Fig. S3 Relationship between allelic richness of *B. bufo* and the landscape variables that were selected in linear mixed models, for the three time intervals. Landscape variables were square rooted. Each site is represented with a distinct colour (A: green, B: deep blue; G: dark; L: red; P: turquoise and V: pink). Lines: fitted values for each site.

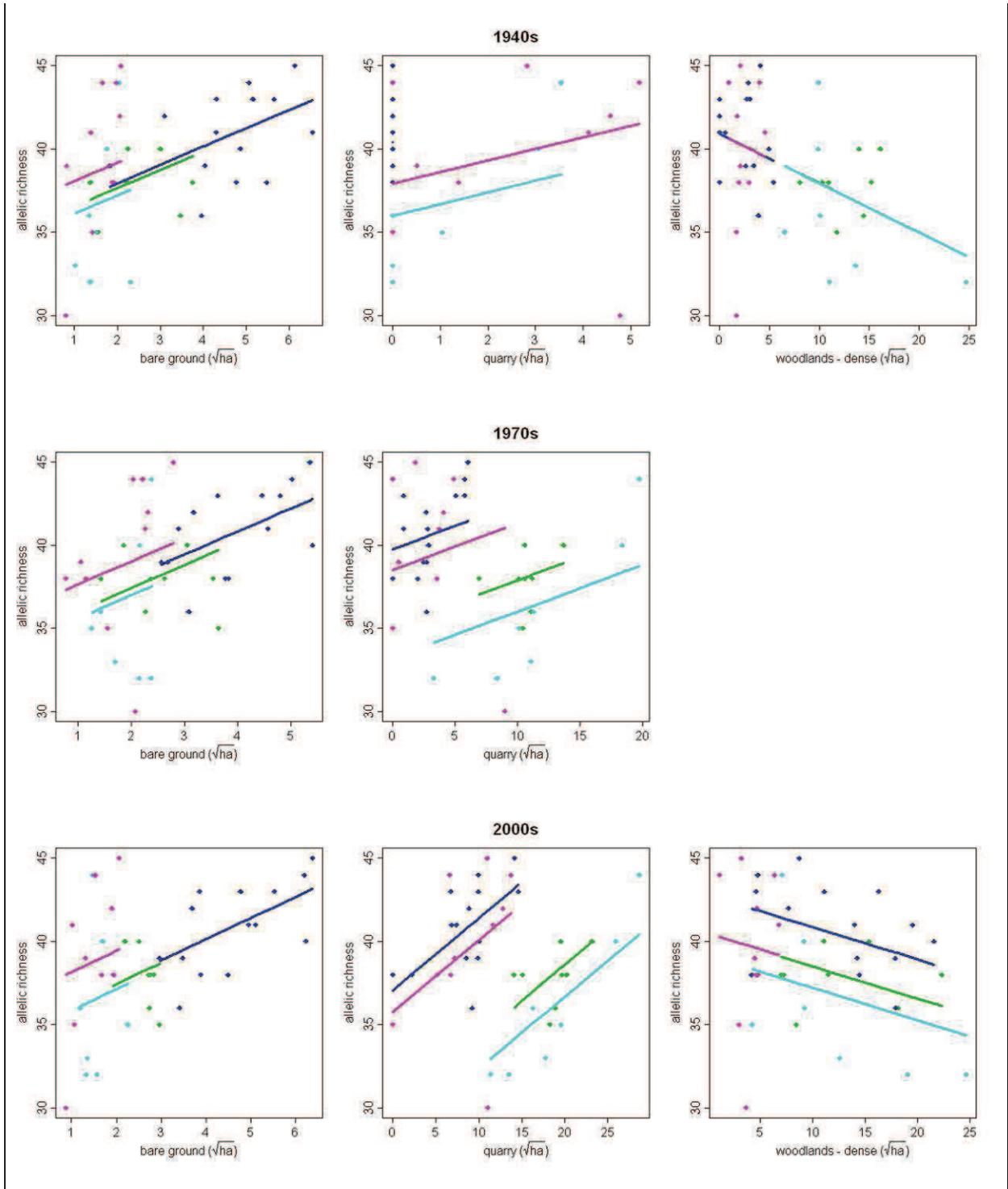


Fig. S4 Relationship between allelic richness of *B. calamita* and the landscape variables that were selected in linear mixed models, for all the three time intervals. Landscape variables were square rooted. Each site is represented with a distinct colour (A: green, B: deep blue; G: dark; L: red; P: turquoise and V: pink). Lines: fitted values for each site.

Partie III

Une nouvelle méthode de calibration de résistances pour évaluer la connectivité du paysage sans recours au dire d'expert

I. Démarche

La diversité génétique constitue une mesure indirecte des flux de gènes (Frankham *et al.*, 2010). Elle peut donc être utilisée en première approche pour évaluer la connectivité du paysage (Epps *et al.*, 2005). Au sein du chapitre précédent, cette métrique a pu donner une première estimation de l'effet des différents éléments du paysage, et notamment des carrières, sur la dispersion de *B. bufo* et *B. calamita*. Néanmoins, la diversité génétique ne saurait rendre compte à elle seule des phénomènes de dispersion car elle intègre d'autres processus majeurs tels que la démographie (Frankham *et al.*, 2010). Ainsi, une estimation plus fine de la connectivité requiert des méthodes estimant directement les flux de gènes entre les populations.

Pour ce faire, il est aujourd'hui possible d'estimer l'intensité des flux de gènes sur la base de métriques de différenciations génétiques (e.g. *FST* ; Rousset, 1997) ou des taux de migrations récents (e.g. Wilson & Rannala, 2003 ; Beerli & Felsenstein, 1999, 2001 ; Faubet & Gaggiotti, 2008). En dépit de son intérêt, l'approche « taux de migration » n'a pu aboutir à aucune estimation satisfaisante sur l'ensemble de notre échantillon (voir la Partie V pour une discussion sur ce sujet). Nous avons donc retenu la différenciation génétique comme indicateur des flux de gènes entre paires de populations.

A partir des différenciations génétiques, il est possible de quantifier la résistance des différents éléments d'un paysage à la dispersion (Zeller *et al.*, 2012). Sur une zone donnée, les cartes de résistances – appelées également cartes de coûts de déplacement, de friction, de rugosité ou de perméabilité - associent à chacun des éléments du paysage une valeur correspondant à la manière dont cet élément facilite ou empêche la dispersion d'un individu. Par définition, la résistance constitue donc une mesure directe de la connectivité. Elle est liée aux caractéristiques physiques de l'habitat, mais aussi à de nombreux autres paramètres tels que le risque de mortalité ou la disponibilité en nourriture (Heine *et al.*, 2003). Ainsi, une valeur de résistance élevée correspondra à une barrière aux évènements de dispersion et vice versa.

Si la résistance est une métrique particulièrement appréciée de l'écologie du paysage (Baguette *et al.*, 2013), sa quantification se heurte à trois principales questions : (1) Comment modéliser les déplacements des individus à partir d'une carte de résistances ? (2) Quel outil statistique permet de corrélérer les distances génétiques et les déplacements modélisés en contrôlant la non-indépendances de ces données ? (3) Comment estimer objectivement et *a posteriori* les valeurs de résistances sans recourir au dire d'expert ? Pour y répondre, nous développons dans ce chapitre une nouvelle méthode de calibration de résistances illustrée par l'exemple de *B. calamita* sur l'aire d'étude « V ».

II. Article : Bypassing expert-opinion in landscape connectivity assessment with a new resistance calibration method

Théo Flavenot¹, Jérôme Prunier², Pierre Joly³, Michel Baguette^{4,5}, Louise Keszler¹, Solène Sacré¹ and Aurélie Coulon^{1,6}

1: Centre d'Ecologie et des Sciences de la CONservation, UMR 7204 MNHN-CNRS-UPMC
55 rue Buffon
75005 Paris, France

2: Unité de Biochimie Physiologique, Institut des Sciences de la Vie, University of Louvain, Croix du Sud 2-20, B-1348, Louvain-la-Neuve, Belgium

3: Université Lyon 1, CNRS, UMR 5023 - LEHNA, Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés
Bât. Darwin C
F-69622 VILLEURBANNE Cedex France

4: Institut Systématique, Evolution, Biodiversité, UMR 7205 MNHN
57, rue Cuvier
75231 Paris Cedex 05, France

5: Station d'écologie expérimentale du CNRS à Moulis, USR 2936 CNRS
2 route du CNRS
09200 Moulis, France

6: Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, UMR 5175
1919 route de Mende
34293 Montpellier 5, France

Soumission prévue – Molecular Ecology Ressources – février 2014.

ABSTRACT

The most widely used methods to infer connectivity rely on estimates of the relative resistance to movements of each landscape element (i.e. cost surfaces). The lack of detailed knowledge on the species-specific interaction of dispersal movements with landscape components makes the inference of those resistance values a difficult task. In this study, we propose a new calibration procedure to estimate species-specific resistance to gene flow of the different elements composing a landscape, without expert-opinion prior. This procedure is based on the test of the whole space parameter of possible combinations of resistance values through a step-by-step procedure of increasing precision. Each combination of resistance values is used to compute circuit theory-based connectivity estimates among locations. The most accurate combination of resistance values is the one that generates the connectivity estimate that best explains genetic distances among locations. Mixed effect models and a MCMC procedure are used to assess the correlation between connectivity and genetic distances. We illustrate our method on a case study of 9 populations of *Bufo calamita*. Calibration was performed at three time points (1948, 1968 and 2012) to identify the appropriate time scale for analyses. Our calibration procedure reached the same optimal resistance combination as an alternative procedure, much more computationally intensive, based on the exhaustive test of all the possible combinations of values. It also performed better than another multivariate optimization method. A comparison of circuit theory and least-cost paths as connectivity estimates showed that the former performed much better than the latter.

KEYWORDS

Landscape permeability, Bufo calamita, connectivity, mixed effect model, gene flow, Cost/friction surface, circuit theory

Introduction

Movements of individuals among populations have strong impacts on (meta)population resilience, long term survival, and adaptation to global change (Frankham et al. 2010). As a result, conservation action plans are now focusing on the preservation and restoration of connectivity (the degree to which a landscape facilitates or impedes movements among resource patches, Taylor et al. 1993). To support decision making, a wide panel of tools that quantify landscape connectivity has been proposed in the past decade (Kool et al. 2013). Resistance surfaces (or friction maps) have appeared as a key element to assess connectivity (Baguette et al. 2013). In a GIS framework, resistances are assigned to each land cover class, reflecting the degree to which animal mobility is facilitated or impeded by the physical properties of these classes, and/or the relative preference exhibited by moving individuals for those different classes (Stevens et al., 2006), relative food availability or mortality risk (Heine et al. 2003). Currently, least-cost path (LCP) is the most widely used method to model connectivity based on resistance surfaces (Adriaensen et al. 2003). A LCP corresponds to the path that minimizes the cumulated resistances of the pixels crossed by an individual from a point A to a point B. The least costly the LCP among two locations, the highest the connectivity among them. Despite successful in predicting local landscape connectivity (e.g. Coulon et al. 2004), LCPs present severe limitations as they imply complete omniscience of the landscape and leave out the width and multiplicity of possible connexions between two locations (Sawyer 2011). The latter point motivated the development of alternative tools as circuit theory, also known as Isolation By Resistance or IBR (CIRCUITSCAPE; McRae 2006). Making an analogy between landscape and electrical circuits, circuit-theory considers each grid cell as a node, and links each pair of nodes with a resistor. The movement of animals within the circuit is considered as a one-amp current travelling throughout the resistors, and voltage is allowed to vary according to the resistance values assigned to each landscape feature. As a result, multiple pathways can be defined so that cumulative resistance among two locations decreases and connectivity increases when the number and width of the pathways among them increase (McRae, 2006). Circuit theory has been shown to successfully predict gene flow (McRae & Beier, 2007; Garroway et al., 2011), and also to outperform LCP predictions (Etherington et al., 2013). Whereas the resistance approach is appealing in its conceptual framework, the assignment of appropriate values to multiple land cover classes still remains a challenge (Zeller et al., 2012). The outdated view of a binary landscape mosaic only composed of suitable habitats and inhospitable matrix is now replaced by considering more complex landscapes (Murphy & Lovett-Doust, 2004). Such realistic landscapes are composed by a large variety of land cover classes that have to be assigned specific resistance values. Even if considering a limited range of resistances for each class, the computational time required to test the total number of possible combinations is prohibitive

because this number raises exponentially with the numbers of land cover classes and resistance values to be tested.

To overcome that calibration issue, many studies referred to expert opinion, i.e. assignment of resistance values based on personal knowledge of the species considered (Ray et al. 2002). Nevertheless, resistance values based on expert opinion are chosen *a priori* and subjective, which makes this approach frequently unreliable (Stevens et al. 2010). Resistance values have also been inferred from the statistical analysis of field monitoring of movements (CMR, telemetry) (Kool et al. 2013) or presence/absence data (Janin et al. 2009). Such methods are unfortunately very costly in time, staff and/or logistics and usually fail to assess juvenile dispersal (the most important type of movements to consider when assessing connectivity among populations). Other approaches have used controlled systems to experimentally assess resistance values (Stevens et al. 2004). Very useful when appreciating dispersal behaviour at the finest scale, such experimental designs hardly integrate complex landscape interactions at large spatial scales, nor can they be applied to every species. For those situations, landscape genetics seems to be most promising. In that approach, genetic distances indirectly estimate the “true” connectivity among populations or individuals, and are correlated with connectivity estimates based on one or more resistance surfaces. Here again, though, computational issues limited connectivity assessment to a restricted part of the full space of resistance values (Spear et al. 2010, Klug et al. 2010). Shirk et al. (2010) proposed a multivariate procedure that calibrates parameters one by one while keeping constant the others. However, such approach may fail to identify the optimal calibration by restricting algorithm search to a limited part of the space of resistance values. To our knowledge, only Wang et al. (2009) attempted to exhaustively determine resistance values by correlating 24 843 LCP connectivity scenarios with genetic data.

If Wang et al. (2009) and Shirk et al. (2010) opened new perspectives in terms of resistance calibration, great attention on the assessment of the correlations between genetic distances and connectivity estimates still has to be paid. The main issue remains the non-independence of the pairwise genetic and geographic distances. To overcome this problem, a permutation procedure was proposed by Mantel (1967) to estimate the significance level of the correlation between two distance matrices. Known as the Mantel test, this permutation procedure is easy to run, and consequently was rapidly generalized in landscape connectivity studies and causal modelling approaches (Shirk et al. 2010; Epps et al. 2013). Nevertheless, many authors raised statistical lacuna in its use (Castellano & Balletto 2002; Guillot & Rousset 2013). In particular, Mantel tests fail to take into account the non-independence of the data because spatial auto-correlation is still uncontrolled, which leads to erroneous estimates of significance levels (Guillot & Rousset 2013). Mixed effect models have been

proposed to specifically integrate the population effect as a random effect (Van Strien et al. 2012). However, mixed models have not yet been integrated into calibration procedures.

In this study, we propose a new calibration procedure based on genetic distances that integrates mixed models and explores the whole space of resistance combinations with reduced computational times compared to exhaustive approaches. Connectivity was estimated with circuit theory, but the use of other estimates based on friction maps is possible (e.g. least-cost path of individual-based models). Our procedure aims at assigning *a posteriori* resistance values to the land cover classes of a given landscape, hence avoiding the use of expert-based opinion. For illustration, we applied our approach to assess the effects of quarrying industry on connectivity in a pioneer species (the natterjack toad, *Bufo calamita*). Because quarrying creates both heavy disturbances (e.g. earthwork-induced land conversion, increased dust, noise and traffic) but also results in attractive habitats for pioneer species (Benes et al., 2003), *a priori* expectations about its resistance to movements of pioneer species are unclear. We hence used our procedure to quantify the resistance value of quarries relative to surrounding landscape features. We used several temporal representations of the landscape (1948, 1968 and 2012) to control for potential delays between landscape changes and gene flow. We compared the results of our calibration procedure with those of the exhaustive approach (i.e. test of all the possible combinations of resistance values), and those of the multivariate optimization method of Shirk et al. (2010). For several resistance combinations, we also compared the results of connectivity estimates based on circuit-theory and on least-cost paths.

Material and methods

CALIBRATION PROCEDURE

Principle

Our calibration procedure consists in scanning the whole space of possible combinations of resistances (but not all the possible combinations, see below) and selecting the combination that best explains pairwise genetic distance. The number of resistance combinations to test is decreased by an initial sensitivity analysis and a stepwise procedure of increasing calibration precision. The connectivity among locations (e.g. study sites) associated with each combination of resistance values is assessed using Circuitscape v3.5.8 (McRae, 2006). It should be noted that any other method of inference of connectivity based on a friction map could be used. We chose the pairwise mode so that resistances are calculated between all pairs of focal locations, and connections between pixels are allowed for every eight neighbours. To avoid assigning *a priori* a specific land cover class as a preferred habitat, sampling sites were considered as single discrete points.

Details of the calibration procedure

We here present our calibration method for 5 resistance values $r \in \{1, 25, 50, 75, 100\}$ and c distinct land cover classes.

In a given landscape, all existing land cover classes do not necessarily influence landscape connectivity, because of small surfaces or marginal localization. We hence performed a sensitivity analysis to identify the "non-influential" classes by running $5 \cdot c$ resistance combinations where each class is assigned, in turn, to each of the 5 resistance values while the others are kept to $r = 50$. Land cover classes are considered as "non-influential" when the changes in R^2_θ (see "Statistical analyses" for a definition of R^2_θ) associated with the different resistance values are lower than 1 %, i.e. all $|R^2_{\theta p} - R^2_{\theta q}| < 0.01$, with p and q the resistance values being tested, p and $q \in \{1, 25, 50, 75, 100\}$, and $p \neq q$. The "non-influential" classes are kept to an average constant resistance of 50 throughout the calibration procedure.

We then test the whole space of parameters for the remaining influential land cover classes following three calibration rounds of increasing precision. First, land cover classes were only assigned the extreme values, i.e. 1 or 100, which led only 2^c combinations to be tested. Second, classes that showed the highest R^2_θ when resistance was set to 1 (or 100) at the first step were assigned values 1 and 50 (or 50 and 100). 2^c combinations were tested at this step as well. Thirdly, we proceeded similarly to test the remaining resistance values 25 and 75, except that classes that obtained the value of 50 in the previous calibration round were assigned the values 25, 50 and 75. The number of combinations tested at this step varied between 2^c and 3^c . Then, because slightly influential class may have been assigned to a false extreme value during the first step, we tested an additional set of combinations than scanned the nearest resistance value for each class, so that all classes were allowed to be assigned to every value through the whole procedure. This step involved between 2^c and 3^c combinations. In total, we considered between 2^{c+3} and $2^{c+1} + 3^{c+1}$ resistance combinations. With this procedure, we ensured that only the global optimum would be reached because all optimal resistance combinations were scanned at each step. Once selected the optimal combination, we ran a last sensitivity analysis on the influential classes, where each of them was (one after the other) assigned the 5 possible resistance values while the other classes were kept at their optimal value and the other non-influential classes were kept at 50. For each land cover class, the resistance values that explained the total variance similarly as the optimal value, i.e. those for which $|R^2_\theta - R^2_{\theta max}| < 0.01$, were used to define the bounds of the final calibrated resistance values. The whole procedure was schematized by the [figure 1](#).

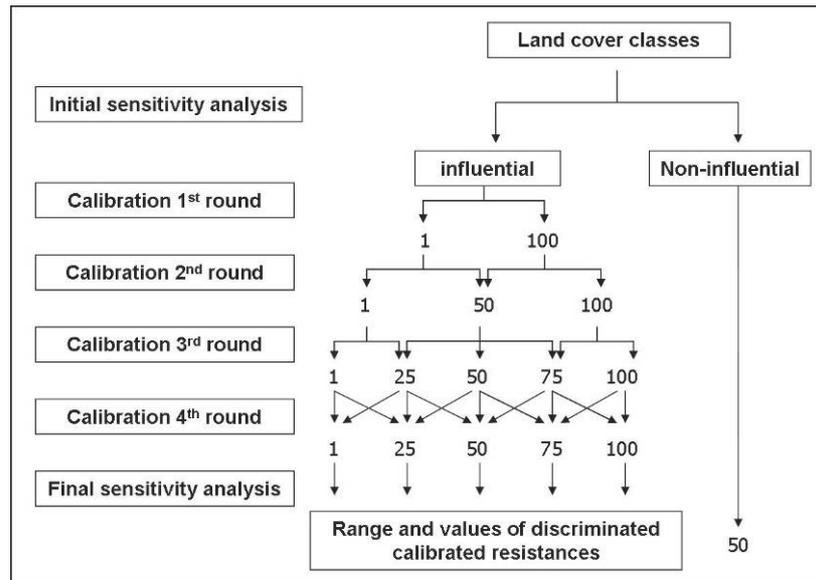


Fig. 1 Schematic representation of the calibration procedure.

Statistical analyses

For each round of calibration, we selected the resistance combination that best correlated pairwise genetic distances with estimated cumulative resistances using mixed linear models. Mixed models with specific covariate structures have been proposed by Yang (2004) in the SAS © PROC MIXED package, and applied in a few landscape genetics studies (Pavlacky et al. 2009; Meeuwig et al. 2010). This approach integrates the non-independence of residuals through first order auto regressive [AR(1)] and first-order auto-regressive moving average [ARMA(1,1)] covariance models. However, this covariance structure fails to specifically account for the pairwise population effect. Appropriate models should include two additional random terms that denote the pair of populations associated with each data (Clarke et al. 2002; Selkoe et al. 2010), as done in the maximum likelihood population-effects (MPLE) models developed by Clarke et al. (2002). We hence used MPLE models. For n populations, Y_{ij} genetic distances and X_{ij} pairwise spatial distances (cumulative resistances, LCP costs or Euclidian distances), the traditional linear model becomes:

$$Y_{ij} = \alpha + \beta(X_{ij} - x) + \tau_i + \tau_j + \varepsilon_{ij} \quad j = 2, \dots, n \quad i = 1, \dots, j-1 \quad (1)$$

where α and β are constant terms, $X_{ij} - x$ is the fixed effect, i.e. the mean-centred spatial distance, τ_i and τ_j are the two random effects accounting for the effect of the pair of populations i and j , and ε_{ij} are the residual terms. The covariance between two pairwise distances involving a common population is $\rho_\tau \sigma^2$ where ρ_τ is the correlation between two pairwise observations and σ^2 the total variance.

The covariance between two pairs without a common population is null. Despite their great analytical interest, MLPE models have been used in very few landscape genetics studies (Bellamy et al. 2003; Van Strien et al 2012). MPEL models were fitted with REML using the R package lme4 (Bates et al. 2011) and a modified script from Van Strien et al. (2012) to account for multiple memberships.

The comparison of the combinations is based on the Edwards' et al. (2008) R^2_{θ} statistic using the R-package pbrtest (Halekoh & Højsgaard, 2012). Contrary to usual metrics such as AIC or BIC, the R^2_{θ} statistic allows the comparison of mixed models fitted with restricted maximum likelihood (REML) estimation. Finally, we estimate significance levels and confidence intervals of the regression coefficients using the Markov Chain Monte Carlo (MCMC) method developed in the R package MCMCglmm (Hadfield, 2010). The MCMC method is required because the cumulative distribution function of the statistical test is not known for such hierarchical models. Finally, to assess the relative importance of landscape composition and geographic distance on gene flow, Euclidian distances and cumulative resistances based on the best scenario are tested into a common model considering resistance and Euclidian distances as two predictive variables.

COMPARISON WITH OTHER CALIBRATION APPROACHES

We assessed the performance of our procedure by three ways. First, we assessed convergence of our algorithm by comparing our finally calibrated combination of resistances with those determined by an exhaustive approach of 5^c tests. Second, we compared our algorithm with a multivariate optimization procedure proposed by Shirk et al. (2010). This alternative approach consists in a stepwise sensitivity analysis for each land cover class: in our case, a set of 5 resistance combinations have to be run for each class while the others are kept constant to a medium value of 50 or updated from the previous optimal combination (i.e. the resistance value accounting for the highest $R^2_{\theta_i}$ at the previous step). Rounds are repeated until the final combination of parameters corresponds to a unimodal peak of support (i.e. that the R^2_{θ} decreases if the resistance is lower or greater than the value in the final combination of parameters).

COMPARISON WITH OTHER CONNECTIVITY ESTIMATORS

Last, we assessed the sensitivity of CIRCUITSCAPE by comparing our model response with LCP. We computed least-cost paths for a sub-sample of resistance combinations with Landscape Genetics 1.2.3 toolbox (Etherington 2011) for ArcGis v9.3. The sub-sample included a panel of 10 combinations shown by CIRCUITSCAPE to explain the genetic distances in a gradual manner, i.e. the first combinations explained poorly the variance whereas the last explained a large part: the R^2_{θ} of the selected resistance combinations ranged from 0.012 to 0.848.

EXAMPLE DATASET

Study system

The natterjack toad is an endemic species of central and Western Europe with protected status at the European scale (European directive 92/43/CEE, Annex IV). Populations are restricted to poorly-vegetated habitats resulting from edaphic conditions (e.g. poor-nutrient coastal meadows, dunes or heathlands) or topsoil disturbances (e.g. non-channelized river banks) (Denton & Beebee 1991). Toads present increased movement performances in open habitat (Stevens et al. 2004), where perception and hunting are more efficient than in densely-vegetated conditions (Denton & Beebee 1994). However, forests have also been suspected to be used by toadlets for dispersal (Stevens et al. 2006). Maximum dispersal distances usually range to 4km (Smith & Green, 2005) and occasionally to 12 km (Sinsch et al. 2012).

The study was carried out in a 178.5 km² area in France, 86 km southwest of Paris (Fig. 2). The study site has a rural-dominant landscape with low human densities. The overall topography is flat, with low average elevations (ca. 145m). Presence of limestone bank in the subsoil favours quarrying activity which has dramatically spread out since the 1970s. Although quarries currently account only for 1% of the total site area, activity concentration can result in severe modifications of land cover at the local scale. *B. calamita* was originally located around breeding sites in rural ponds and wetlands in valleys, but it has also colonized some operating and abandoned quarries since at least 1982 (Dutertre, 2011).

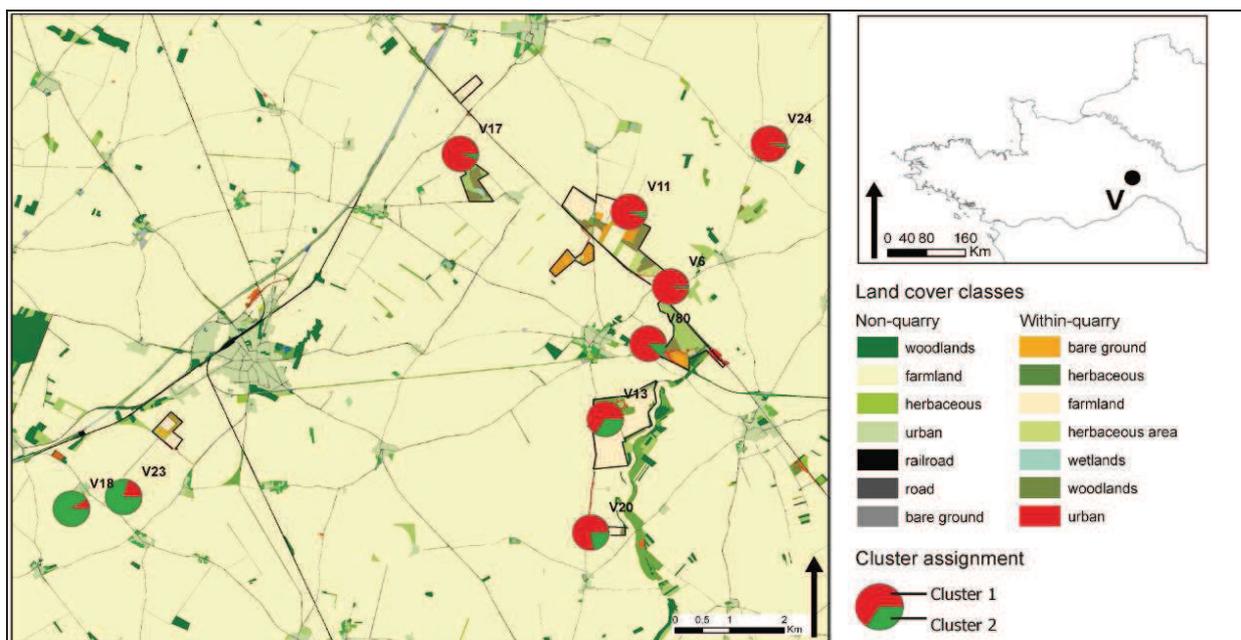


Fig. 2 Study site: general location in northern France (top right panel), land use (within-quarry and non-quarry landscape), locations and cluster assignment of the sampled ponds. The perimeter of the quarrying sites is depicted by a black line.

Sampling

Fertilized eggs and larvae were sampled during the springs of 2011 and 2012. We minimized sib-effect by collecting eggs from distinct clutches, and larvae from distinct ponds. Clutch fragments were reared in the laboratory at 20°C until tadpoles were larger than 1 cm. Individuals were finally euthanized and stored in 70 % ethanol at room temperature.

Genetic data collection

DNA was extracted from tail tissue using the NucleoSpin® 96 Tissue Kit (Macherey-Nagel) following an automated processing on a robotic platform epMotion 5075 (Eppendorf). Thirteen microsatellite markers were successfully amplified (Rowe et al., 1997; Rowe et al., 2001; Rogell et al., 2005). Three PCR procedures were required (see details in supplementary material S1). Genotyping was carried out with an ABI PRISM 3130 automated sequencer (Applied Biosystems). Allele sizes were screened using GeneMapper v4.0 (Applied Biosystems) relative to standard marker LYS500 (Applied Biosystems).

We included eight positive controls with known genotypes in each run of 96 PCRs to control for contamination and electrophoresis standard conditions. Genotypes were checked for stuttering, null alleles and large allelic dropout using MICRO-CHECKER v2.23 (Van Oosterhout et al. 2004). Loci Cala_12 and Cala_3a showed evidence for null alleles and were consequently removed from the analyses. All pairs of loci were tested for linkage disequilibrium using GENEPOP v4.2 (Raymond & Rousset, 1995; Rousset, 2008) with a dememorization size of 10000, 1000 batches, and 10000 iterations per batch. Corrections for multiple comparisons were performed by calculating the FDR (False Discovery Rate) -corrected P values with the function `fdrtool` (Verhoeven et al. 2005). We used COLONY v2.0 (Wang 2004) within each pond to identify and remove sibs, and hence completely avoid sib-effect.

Mean numbers of alleles per locus (N_a), numbers of effective alleles (N_e), allele frequencies, observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosities were calculated using GENALEX v6.5 (Peakall & Smouse, 2005). We evaluated deviations from Hardy-Weinberg equilibrium using GENEPOP v4.2 (Rousset, 2008). Significance levels were calculated with the MCMC, with 10000 dememorization steps, and 100 batches with 5000 iterations per batch. F_{IS} , global F_{ST} , and their statistical significance (Weir & Cockerham, 1984) were calculated in GENETIX (Belkhir et al. 2004). Significance levels of comparisons were assessed using 10000 permutations.

Analysis of the genetic structure of the ponds

The investigation of the genetic structure at the site scale is helpful to provide a first understanding of the connectivity drivers. We carried out Bayesian clustering analyses with STRUCTURE v2.3 (Pritchard et al. 2000). 10 replicate runs were performed with the following Markov chain Monte Carlo (MCMC) parameters: burn-in of 150000 iterations followed by 10^6 iterations for values of K ranging from 1 to 9. We used the admixture model with the locprior option (Hubisz et al. 2009) and correlated allele frequencies. We determined the most likely values of K using the Evanno et al. (2005) method with the program STRUCTURE HARVESTER (Earl & vonHoldt, 2012). We finally used CLUMPP v1.1 (Jakobsson & Rosenberg 2007) to find optimal alignments of our 10 replicate analyses.

Gene flow estimation

Because pond systems of *B. calamita* were observed to reproduce metapopulation dynamics (Sinsch, 1992), the pond level was assumed to be a relevant scale for analyses. We used Rousset's (1997) linearized F_{ST} (i.e. $F_{ST}/(1 - F_{ST})$) to estimate pairwise genetic distances at the pond level. The use of F_{ST} was preferred to the other usual genetic metrics of Hedrick's (2005) standardized G'_{ST} and Jost's (2008) D since these may show insensitiveness to migration processes when the mutation rate is high relative to the migration rate (Whitlock, 2011).

Landscape mapping

The site was bounded to the landscape encompassing our 9 ponds buffered with a 1km radius. This distance was set in order to fall within the mean dispersal range of *B. calamita* (Smith & Green, 2005). To account for potential delays in landscape changes and their effects on genetics, landscape was mapped with Arcgis v9.3 (ESRI) at three points in time separated by ca. 10 generations: 1948, 1968 and 2012. Mapping was performed using black and white aerial photographs ranging from 1:25000 scale and a resolution of 40 cm for the first two time points (IGN, BD Prises de vues aériennes ©) and real-colour geographically corrected aerial photographs at a 1:5000 scale and a resolution of 50 cm for 2007 (IGN, BD Ortho ©). Field validation was carried out when necessary. Landscape composition was partitioned into 14 land cover classes distributed into 8 classes for non-quarry features (woodlands, herbaceous, farmland, wetlands, urban areas, roads, railways and bare soil) and 6 for quarry features (woodlands, herbaceous, restored farmland, waterbodies, urbanized soil and bare soil) (Table 1). Because map resolution may bias resistance estimation (Zeller et al., 2012), we performed a sensibility analysis based on random resistance combinations and varying resolution grains: 1m, 5m, 10m, 25m, 50m, 75m, 100m. Cumulative resistance estimates differed on average by less than 5% for resolutions < 100 m, and by 41% with 100m cell sizes. We therefore chose a resolution of 10m, which appears to be a good trade-off between computational efforts and the representation of the small and/or punctual landscape features like hedgerows, roads or ditches.

Table 1 Land cover classes and associated calibrated resistance values. Classes initially tested as non-influential in the first sensitivity analysis are represented with the code “ni”. Bold values corresponds to the combination showing the highest R^2_{θ} whereas resistances accounting for $|R^2_{\theta p} - R^2_{\theta q}| < 0.01$ in the last sensitivity analysis are represented in italic.

Class	Description	Code	Calibrated resistance		
			1948	1968	2012
<i>Non-quarry landscape</i>					
Bare ground	Natural non-vegetated areas and dirt tracks	bare	ni	ni	ni
Herbaceous	Meadows, heaths and lawns	herb	{50; 75; 100}	{1; 25; 50; 75; 100}	{25; 50; 75; 100}
Farmland	Ploughed land and market gardening area	farm	{25}	{25}	{50}
Railroad	Railroads	rail	ni	ni	ni
Roads	Mineralized roads	road	ni	ni	{1; 25; 50; 75; 100}
Urban	Densely urbanized and residential areas, landfills and working areas	urb	{75; 100}	{25; 50; 75; 100}	{75; 100}
Wetlands	Marshlands, streams, lakes and pond systems	wet	ni	ni	ni
Woodlands	Densely forested and shrubby areas	wood	ni	ni	{1}
<i>Within-quarry landscape</i>					
Bare ground	Bare ground area including extractive area, treatment plant, stocks and tracks	qbare	{25}	{1}	{1}
Herbaceous	Spontaneous and rehabilitated herbaceous areas including meadows, heaths and lawns	qherb	ni	{1; 25}	{25}
Farmland	Rehabilitated ploughed lands and market gardening area	qfarm	ni	ni	{1; 25; 50; 75; 100}
Urban	Rehabilitated densely urbanized and residential areas, landfills and working areas	qurb	ni	ni	ni
Wetlands	Rehabilitated marshlands, streams, lakes and pond systems and tailing ponds	qwet	ni	ni	ni
Woodland	Spontaneous or rehabilitated densely forested and shrubby areas	qwo	ni	ni	ni

Results

STANDARD POPULATION GENETIC ANALYSES

In total, 160 *B. calamita* were genotyped, and COLONY analyses resulted in the removal of 22 sibs. Our final data set was made of the genotypes of 138 individuals distributed in 9 ponds, with sample sizes ranging from 8 to 23 individuals per pond, and averaging 15 individuals per pond (Table 2). Distances between nearest ponds ranged from 1.2 km to 14.5 km. The mean number of alleles per locus across sampled ponds ranged from 3.4 to 5.1 (Table 2). No pair of loci showed significant linkage disequilibrium after correction of P values for multiple comparisons (all $P > 0.05$, results not shown), and all populations were at Hardy-Weinberg equilibrium. Overall genetic differentiation was moderate ($F_{ST} = 0.045$). Pairwise linearized F_{ST} ranged respectively from 0.004 (V17-V80) to 0.094 (V23-V24) (supplementary material S2).

Table 2 Summary statistics of genetic diversity within sample sites. *N* is the sample size, *Na* the mean average number of alleles, *Ne* the average effective number of alleles, *Ho* the observed heterozygosity, *He* the expected heterozygosity, *F_{IS}* the inbreeding coefficient and associated significance of Hardy-Weinberg deviation (ns: not significant).

Population	<i>N</i>	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>F_{IS}</i>
All	138	4.536	2.974	0.619	0.580	-0.067 ns
V6	20	5.000	3.262	0.636	0.622	-0.019 ns
V11	15	5.091	3.456	0.636	0.623	0.003 ns
V13	23	5.182	3.041	0.617	0.590	-0.050 ns
V17	19	5.818	3.374	0.650	0.609	-0.066 ns
V18	17	4.545	2.860	0.578	0.554	-0.058 ns
V20	10	4.091	2.685	0.638	0.572	-0.116 ns
V23	12	4.182	2.778	0.553	0.529	-0.039 ns
V24	8	3.364	2.516	0.576	0.550	-0.058 ns
V80	14	5.091	3.280	0.643	0.636	-0.016 ns

GENETIC STRUCTURE AND ISOLATION BY DISTANCE

Our ponds appear to be structured into two clusters following a West-East cline. The clusters match the geographical locations of the ponds: the two clusters group ponds that are spatially close to each other, and the distance between clusters is relatively high (i.e. 8.6 km) (Fig. 1). MLPE models showed a highly significant effect of geographic distance on gene flow (Table 3, Fig. 3).

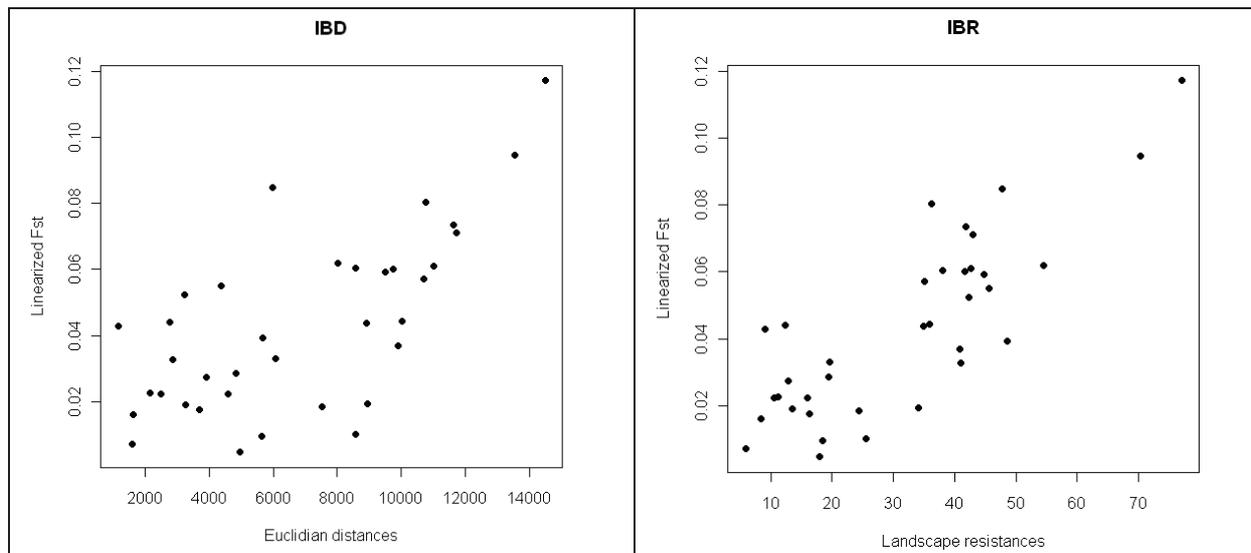


Fig. 3 Graph of respectively Euclidian distance (IBD hypothesis) and final calibrated resistances (IBR) for 2012 in respect to linearized *F_{ST}*.

Table 3 For 2012, estimates and significance levels of the effects of Euclidian distance (Euc) and cumulative resistances estimated from the final calibrated resistance estimates (*Res*) on gene flow, tested in single and common models.

Model (fixed effects)	Intercept		Euclid		Res		DIC
	Estimate	P-val	Estimate	P-val	Estimate	P-val	
$\alpha + \beta$ Euc	6.142 e-03	0.55	5.450 e-06	<0.001	-	-	
β Euc	-	-	5.977 e-06	<0.001	-	-	
$\alpha + \gamma$ Res	-0.001442	0.816	-	-	2.780e-03	<0.001	
γ Res	-	-	-	-	2.731e-03	<0.001	-197.1
$\alpha + \beta$ Euc + γ Res	-2.214e-03	0.782	6.777e-07	0.588	2.531e-03	<0.001	-193.6
β Euc + γ Res	-	-	6.636e-07	0.557	2.429e-03	<0.001	-195.4

CALIBRATION OF RESISTANCE VALUES

The preliminary sensitivity analyses showed the existence of respectively 8, 9 and 10 “non-influential” land cover classes for 1948, 1968 and 2012 (Table 1). This reduced our calibration to respectively 4, 5 and 8 classes for these three time points, which accounted for a total of 203, 1266 and 2479 combinations. The correlation improved slightly throughout the three rounds of the calibration procedure, showing that the increasing precision of resistance estimates explained better the pairwise genetic distances (Fig. 4). The most recent landscape explained gene flow levels best ($R^2_{\theta(2012)} = 0.852$), whereas the two oldest were less explicative ($R^2_{\theta(1948)} = 0.682$; $R^2_{\theta(1968)} = 0.731$). For all time points, overall R^2_{θ} showed high sensitiveness to the resistance assignments, ranging from zero to respectively 0.682, 0,731 and 0.852 for the three time points (not shown). Nevertheless, some land cover classes showed a wide range of final calibrated resistance values because of slight discrimination power (as shown by the last sensitivity analysis) (Fig. 5). MCMC tests showed that the three final combinations were highly significant when associated cumulative resistances were tested as a single explicative variable, but also when compared with Euclidian distances (all $P < 0.001$, results shown for 2012 in Table 3 and Fig. 3). Euclidean distances were not significant anymore when cumulative resistances were included in the model. For 2012, the lowest resistance value was assigned to within-quarry bare soil (i.e. $r = 1$; Fig. 5). Farmlands and within-quarry restored herbaceous areas were assigned medium resistances of $r = 25$ whereas woodlands and herbaceous areas were assigned medium to high values of $r \in [25; 100]$. The highest resistance value was found for urban areas ($r \in [75; 100]$). For all land cover classes but urban areas, the obtained resistance values slightly differed across the different time points.

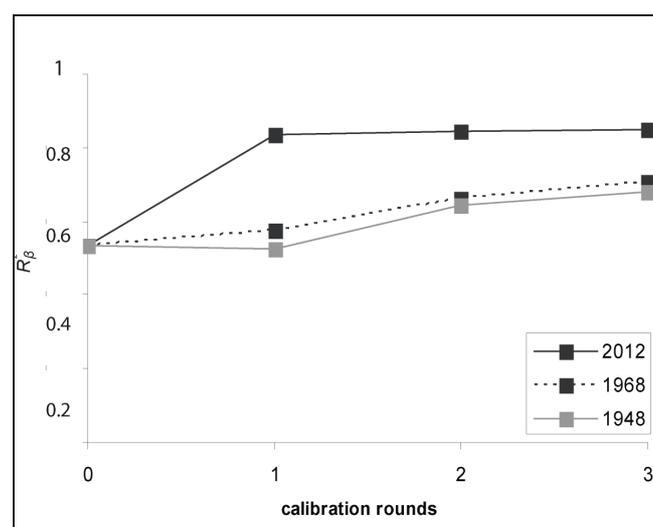


Fig. 4 Changes in the R^2_{θ} throughout the iteration procedure: each dot represents the R^2_{θ} of the best resistance combination at the end of each round of the procedure.

The comparison of our procedure with the exhaustive approach required respectively 625, 3 125 and 390 625 combinations for 1948, 1968 and 2012. Because of obvious computational issues, we carried out the comparison for the first two time points only. The same optimal combinations of resistances were obtained in both cases, suggesting that our algorithm was able to converge to the global optimum without testing explicitly the full space of parameters. Oppositely, Shirk et al. (2010)'s multivariate optimization failed to converge to the global optimum. This procedure reached sub-optimal combinations after respectively 3, 3 and 2 rounds of calibration for the landscapes of 1948, 1968 and 2012 with high but not maximal correlations ($R^2_{\theta(1948)}=0.667$; $R^2_{\theta(1968)}=0.731$; $R^2_{\theta(2012)}=0.852$). LCPs were shown to be unable to detect any landscape effect for the 10 combinations tested and were always correlated with Euclidian distances (all $P > 0.05$, Table 4). The LCP approach was also much less sensitive than circuit-theory: for LCP, R^2_{θ} ranged from 0.351 to 0.592 whereas cumulative resistance estimates resulted in R^2_{θ} varying from 0.016 to 0.844.

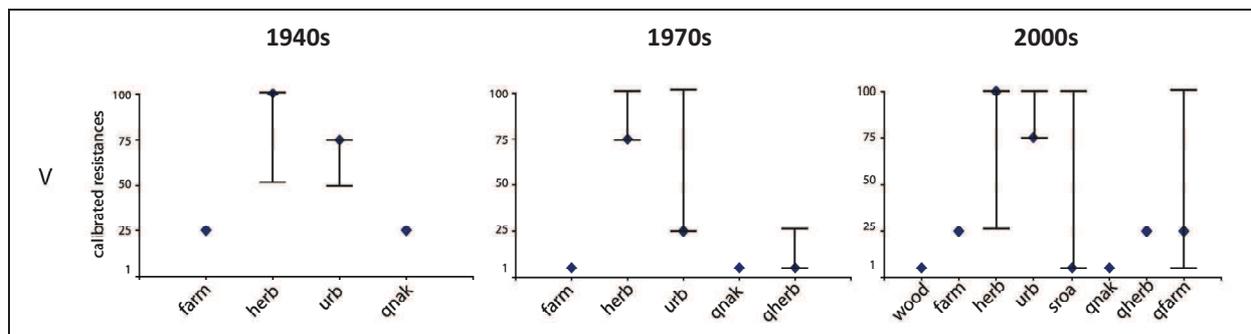


Fig. 5 Final resistance estimates for the three time points. Optimal values are represented by a single point, associated with the bounds of the range of values that could not be discriminated in regards to the ΔR^2_{θ} criteria, i.e. $|R^2_{\theta p} - R^2_{\theta q}| < 0.01$.

Table 4 Comparison of IBR and LCP sensitivity to resistance assignment and ability to detect a landscape effect when controlling for Euclidean distance, for 10 different combinations of resistance values. Land cover class names as in Table 1.

scenar	Resistance values							IBR		LCP	
	wood	farm	herb	urb	sroa	q-nak	q-farm	R^2_{θ}	p-val	R^2_{θ}	p-val
1	50	50	1	50	50	50	50	0.012	0.927	0.351	0.802
2	50	50	50	1	50	50	50	0.463	0.581	0.454	0.539
3	50	50	50	50	50	100	50	0.500	0.210	0.380	0.659
4	50	50	50	50	50	50	50	0.535	0.267	0.537	0.131
5	50	50	100	1	50	1	50	0.548	0.110	0.560	0.192
6	50	50	50	100	50	50	50	0.630	0.083	0.541	0.118
7	50	50	50	50	50	25	50	0.667	0.042	0.562	0.187
8	50	50	100	25	50	1	50	0.759	0.021	0.565	0.215
9	50	50	100	50	50	1	50	0.816	<0.001	0.592	0.183
10	1	50	100	100	1	1	25	0.852	<0.001	0.411	0.324

Discussion

NEW PERSPECTIVES FOR RESISTANCE CALIBRATION

In this study, we developed a new resistance calibration method that integrates the last improvements in statistical and movement models into an automated calibration procedure. This method appears to successfully reach the global optimum of the full space of parameters with a substantial economy of computational efforts. For all three time points, only 2481 combinations were tested for calibrating 4 to 8 distinct land cover classes with five different resistance values while an exhaustive approach would require a total of 406 875 combinations to test. Our procedure was shown to provide similar results as the exhaustive approach, and to outperform Shirk et al. (2010)'s multivariate optimization (which reached sub-optimal calibration).

The high correlation obtained with the best combination of resistance values shows that the effects of landscape composition on *B. calamita* movements in our study landscape were satisfactorily modelled by isolation by resistance using CIRCUITSCAPE. At first sight, IBD would appear as the main driver of gene flow in this landscape, as suggested by clustering analyses and the IBD test. Unexpectedly, landscape effect was however more explicative than IBD despite the homogeneity of the study landscape (e.g. 89.3 % of the total area is composed by openfields). This result makes it clear that even small and punctual landscape features can play a major role on dispersal. In our case, within-quarry bare soil was shown to significantly support landscape connectivity although this land cover class accounts for less than 1% of the total surface. This underlines the extreme sensitiveness of CIRCUITSCAPE to landscape composition and configuration. This sensitivity enabled us to determine the appropriate time scale for the study although less than 9% of our landscape was modified over 60 years. In most studies, however, such minor landscape changes are ignored, and landscape properties are considered constant over time (e.g. Stevens et al. 2006). We therefore advocate for paying more attention to landscape changes over time in future landscape genetic studies.

Conversely to CIRCUITSCAPE, LCP showed poor sensitivity to resistance assignment and strong correlation with Euclidian distance. Because LCP focuses on a single path only, it failed to integrate landscape complexity (i.e. structure and composition). This disadvantage is enhanced in homogeneous landscapes such as ours, where connectivity relies on discrete and punctual landscape features. Although LCP is able to match some punctual features, it fails to take into account the multiplicity of these as encountered in stepping-stone networks. We hence advocate for using estimators able to integrate the whole landscape configuration as CIRCUITSCAPE does. Nevertheless,

CIRCUITSCAPE users should be aware that the appropriate choice of grain of the analysis is critical, and that a sensitivity analysis of spatial resolution cannot be avoided. In our data set, a resolution higher than 75m significantly modified the resistance estimation, which forced us to increase the grain despite associated increase in computational time.

NEW INSIGHTS FOR *B. CALAMITA* DISPERSAL AND CONSERVATION APPLICATIONS

This study confirmed the landscape-dependency of *B. calamita* dispersal and gave some insights on its habitat preference when dispersing. We found strong avoidance of *B. calamita* for built-up areas as confirmed by other authors (Stevens et al, 2006). Herbaceous areas were assigned a medium value, although they could be expected to be a favourable habitat for home-ranging. Indeed coastal meadows and pastures have been shown to be a hospitable habitat for *B. calamita* (Denton & Beebee, 1991; Rannap et al, 2007), but intensive agricultural management replacing traditional grazing system is suspected to depreciate home-ranging quality, and consequently attractiveness. Moreover, Stevens et al. (2004, 2006) found that grasslands accounted for relatively high resistance to juvenile movements. It is important to remember that toadlets account for a large part of dispersal events for toad species since they are less philopatric than adults and are much more abundant in populations (Sinsch 1997). Hence, gene flow is expected to reflect mainly the dispersal behaviour of juveniles. Oppositely, herbaceous areas restored in quarries were assigned much lower resistance values. In fact, restored areas are less densely vegetated because of mineralized topsoil and extensive management of ecological rehabilitated areas. This results in relatively poorly vegetated areas, consequently accounting for medium to low resistance to movements. Field crops were found to show medium resistance to *B. calamita* movements. Agricultural substrate was observed to be avoided by toadlets (Stevens et al. 2006), but at the same time is able to attract adults (Miaud & Sanuy 2005). Moreover, field crops look similar as bare ground at early stages of vegetation, and by this way may favour dispersal of juveniles. In our case, these joint effects appeared to limit, but not bar, gene flow. The case of woodlands looks as the opposite as that of herbaceous areas. Woodlands were assigned low to high resistance values. Contrary to herbaceous areas, woodlands are unattractive for adults (Denton & Beebee 1991), but seem to be actively used by toadlets for dispersal (Stevens et al. 2006). Hence, both effects seem to result in medium global resistance. Last, the lowest resistance was found for quarries. Contrary to previously described habitats, unvegetated bare soils are preferentially used for dispersal in both juvenile and adult stages (Denton & Beebee, 1991; Stevens et al. 2004, 2006). This result hence looks coherent with *B. calamita* movement behaviour, but could also be surprising since quarrying causes multiple disturbances. In fact, quarries include bare areas with less anthropogenic pressure as well (e.g.

unmoved stocks, temporary abandoned quarry faces or recently restored land) that theoretically may favour dispersal of both juveniles and adults. As a result, all working sites of our study site appear to positively support landscape connectivity for *B. calamita*. Hence, we advocate land planners to reconsider quarrying as inexpensive opportunities for specific conservation issues (Prach & Pysek, 2001; Prach & Hobbs, 2008).

DIGGING DEEPER INTO THE TIME SCALE ISSUE

Landscape genetics aim to study the relationship between landscape dynamics and microevolutionary processes such as gene flow, genetic drift and selection. However, there is a time lag between landscape changes and their translation into population genetic structure (Crow & Aoki, 1984; Varvio *et al.*, 1986). It is now recognized that a particular attention has to be paid to time scales (Langduth *et al.*, 2010), and that landscape analyses should encompass landscape maps from several time points. More and more studies now use multiple time periods to understand genetic responses to landscape (Lindborg & Eriksson, 2004; Zellmer & Knowles, 2009). In our example, we compared historical landscape at three time points (i.e. 1948, 1968 and 2012) and found that the most recent landscape fitted best the genetic dynamics. This historic approach was essential since the influence and the estimated resistances of the land cover classes differ across time. In our case, the most recent time period supported a dramatic expansion of the quarrying industry of + 363 % in terms of surfaces. This evolution is higher than all other land uses (e.g. the second evolution rate is for urban areas, with a + 36 % growth between 1968 and 2012). This makes the quarrying expansion as the main landscape process in that area despite it accounted in absolute for less than 1% of the total surface. Since calibration analyses showed that quarries are favourable landscape features for dispersal, we can conclude that the landscape changes in the most recent time period have resulted in a global improvement of connectivity for this species. Nevertheless, it is often difficult to know a priori which land use evolution constitutes the main landscape driver, particularly in complex landscapes where fragmentation and connectivity occur at the same time and in the same proportions. We therefore advocate for using multiple time points as a standard framework for landscape genetics studies.

Acknowledgments

We are indebted to Bernard Frochot, Jean-Claude Lefeuvre, Steve Palmer, Virginie Stevens and Justin Travis for helpful comments on this work. We are also grateful to Gilles Platner, Romain Lorillière, Vincent Pélissier, Maarten Van Strien and Rafael Wüest for valuable advices concerning analytical issues, to technical helps of Khaldia Akkari, Marielle Perroz for sample data collection, to Hugo Anest, Karen Cheurlot, Emeline Hudik, Basile Hurault, Jérémy Gauthier, Emilie Klam, Angeline Lesueur, Michael Pereira, Jennifer Thomas and Nicolas Zilbermann for field work, to Jeffrey Carbillet, Louise Keszler, Lise Lallemand, Jérôme Lin, Flore Loyer and Solène Sacré for GIS work, and to Florian Lesage, Josie Lambourdière, Jose Utge and Jawad Abdelkhrim for genetic data collection. All molecular analyses were supported by the 'Service de Systématique Moléculaire' of the Muséum National d'Histoire Naturelle (UMS 2700; OMSI). We thank the French National Union of Aggregates in the persons of Yves Adam and Christian Beranger and the participating quarrying companies, which allowed us to sample operating sites, and the engineering office ENCEM in the persons of Olivier Verdier and Pascal Maurel for ecological expertise.

References

- Adriaensen F, Chardon JP, De Blust G, Swinnen E, Villalba S, Gulinck H, Matthysen E (2003) The application of 'least-resistance' modeling as a functional landscape model. *Landsc Urban Plan* 64:233–247
- Baguette M, Blanchet S, Legrand D, Stevens VM, Camille Turlure (2013) Individual dispersal, landscape connectivity and ecological networks. *Biol. Rev.* (2012), pp. 000–000.
- Bates D, Maechler M, Bolker B (2011) lme4: linear mixed effects models using Eigen and Eigen4. R package version 0.999375- 999342.
- Beerli P, Felsenstein J (1999) Maximum-likelihood estimation of migration rates and effective population numbers in two populations using a coalescent approach. *Genetics*, 152, 763–773.
- Beerli P, Felsenstein J (2001) Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 98, 4563–4568.
- Bellamy PE, Rothery P, Hinsley SA (2003) Synchrony of woodland bird populations: the effect of landscape structure. *Ecography*, 26, 338–348.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L et al. (2004) GENETIX 4.05, logiciel sous Windows pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier
- Benes J., P. Kepka and M. Konvicka (2003). Limestone Quarries as Refuges for European Xerophilous Butterflies. *Conservation Biology*, 17(4) : 1058–1069.
- Bradburd GS, Ralph PL and Coop GM (2013) Disentangling the effects of geographic and ecological isolation on genetic differentiation. *Evolution*, 67, 3258–3273
- Castellano S, Balletto E (2002) Is the partial Mantel test inadequate? *Evolution*, 56, 1871–1873.
- Clarke RT, Rothery P, Raybould AF (2002) Confidence limits for regression relationships between distance matrices: estimating gene flow with distance. *Journal of Agricultural Biological and Environmental Statistics*, 7, 361–372.
- Coulon A, Cosson JF, Angibault JM et al. (2004) Landscape connectivity influences gene flow in a roe deer population inhabiting a fragmented landscape: an individual-based approach. *Molecular Ecology*, 13, 2841–2850.
- Crow JF, Aoki K (1984) Group selection for a polygenic behavioral trait – estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences*, 81, 6073–6077.
- Denton J. and Beebee T.J.C (1991) Terrestrial ecology of the natterjack toad *Bufo calamita*. In: Korsos Z. and Kiss I. (eds). *Proceedings of the Sixth Ordinary General Meeting. S. E. H., Budapest*, pp. 137–141.
- Denton J. S. and T. Beebee (1994) The basis of niche separation during terrestrial life between two species of toad *Bufo bufo* and *Bufo calamita*: competition or specialisation? *Oecologia* 97:390–398.
- Dutertre A (2011) Inventaire du Crapaud calamite en Eure-et-Loire. Données SHF 2011.
- Earl DA, vonHoldt BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Cons Genet Resour* 4:359–361
- Edwards LJ, Muller KE, Wolfinger RD, Qaqish BF, Schabenberger O (2008) An R2 statistic for fixed effects in the linear mixed model. *Statistics in Medicine*, 27, 6137–6157.
- Epps CW, Palsbøll PJ, Wehausen JD, Roderick GK, Ramey RR and DR McCullough (2005) Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecology Letters*, 8 : 1029–103
- Epps CW, Wasser SK, Keim JL, Mutayobas BM and Brashares JS (2013) Quantifying past and present connectivity illuminates a rapidly changing landscape for the African elephant. *Molecular Ecology* 22, 1574–1588
- Etherington TR, Holland EP (2013) Least-resistance path length versus accumulated-resistance as connectivity measures. *Landscape Ecol* (2013) 28:1223–1229
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611–2620
- Faubet, P. & Gaggiotti, O. E. (2008). A new bayesian method to identify the environmental factors that influence recent migration. *Genetics* 178, 1491–1504.
- Frankham R, Balou J, Briscoe D (2010) *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press
- Garraway CJ, Bowman J, Wilson PJ (2011) Using a genetic network to parameterize a landscape resistance surface. *Molecular Ecology*, 20, 3978–3988.
- Guillot, G. and F. Rousset (2013) Dismantling the Mantel tests. *Methods in Ecology and Evolution* 4:336–344.
- Hadfield JD (2010) MCMC methods for multi-response generalised linear mixed models: the MCMCglmm R package. *J Stat Soft.* 33:1–22.
- Halekoh U, Højsgaard S (2012) pbcrttest: parametric bootstrap and Kenward Roger based methods for mixed model comparison. R package version 0.3-2 <http://CRAN.R-project.org/package=pbcrtest>.

- Hedrick PW (2005) A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 59, 1633–1638.
- Hein S, Gombert J, Hovestadt T and Poethke HJ (2003) Movement patterns of the bush cricket *Platycleis albopunctata* in different types of habitat: matrix is not always matrix. *Ecological Entomology* 28 : 432–438
- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resour* 9:1322–1332
- Jakobsson M, Rosenberg NA (2007) CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinforma* 23:1801–1806
- Janin A, Léna JP, Ray N, Delacourt D, Allemand P, Joly P (2009) Assessing landscape connectivity with calibrated cost-distance modelling: predicting common toad distribution in a context of spreading agriculture. *J App Ecol* 46:833–841
- Jost L (2008) GST and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17, 4015–4026.
- Klug PE, Wisely SM, With KA (2011) Population genetic structure and landscape connectivity of the Eastern Yellowbelly Racer (*Coluber constrictor flaviventris*) in the contiguous tallgrass prairie of northeastern Kansas, USA. *Landscape Ecol* 26:281–294
- Kool JT, Moilanen A and Treml EA (2013) Population connectivity: recent advances and new perspectives. *Landscape Ecol* 28:165–185
- Landguth EL, Cushman SA, Schwartz MK, McKelvey KS, Murphy M, Luikart G (2010) Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Mol Ecol* 19:4179–4191
- Lindborg R, Eriksson O (2004) Historical landscape connectivity affects present plant species diversity. *Ecology*, 85, 1840–1845
- Mantel N (1967) Detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27, 209–220.
- McRae BH (2006) Isolation by resistance. *Evolution*, 60, 1551–1561.
- McRae BH, Beier P (2007) Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 104, 19885–19890.
- Meeuwig MH, Guy CS, Kalinowski ST, Fredenberg WA (2010) Landscape influences on genetic differentiation among bull trout populations in a stream-lake network. *Molecular Ecology*, 19, 3620–3633.
- Miaud C and Sanuy D (2005) Terrestrial habitat preferences of the natterjack toad during and after the breeding season in a landscape of intensive agricultural activity. *Amphibia-Reptilia* 26: 359–366
- Murphy HT and Lovett-Doust J (2004) Context and connectivity in plant metapopulations and landscape mosaics: does the matrix matter ? *Oikos* 105: 3–14
- Peakall, R., and P. E. Smouse (2005) GenAEx V6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Australian National University, Canberra. Available via <http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAEx>
- Prach K and Pysek P (2001) Using spontaneous succession for restoration of human-disturbed habitats: experience from Central Europe. *Ecol. Eng.* 17, 55–62.
- Prach, K and Hobbs, R.J., (2008) Spontaneous Succession versus technical reclamation in the restoration of disturbed sites *Restor. Ecol.* 16, 363–366.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genet* 155:945–95
- Rannap R, Lohmus A, Jakobson K (2007) Consequences of coastal meadow degradation: The case of the natterjack toad (*Bufo calamita*) in Estonia. *Wetl* 27:390–398
- Ray N, Lehmann A, Joly P (2002) Modeling spatial distribution of amphibian populations: a GIS approach based on habitat matrix permeability. *Biodiversity and Conservation*, 11, 2143–2165.
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Rogell B, Gyllenstrand N, Höglund J (2005) Six polymorphic microsatellite loci in the natterjack toad *Bufo calamita*. *Mol Ecol Notes* 5:639–640
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F -statistics under isolation by distance. *Genetics* , 145 : 1219–1228.
- Rousset F (2008) GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8, 103–106.
- Rowe G, Beebee TJC, Burke T (1997) PCR primers for polymorphic microsatellite loci in the anuran amphibian *Bufo calamita*. *Mol Ecol* 6:401–402
- Rowe G, Beebee TJC, Burke T (2001) A further four polymorphic microsatellite loci in the natterjack toad *Bufo calamita*. *Conserv Genet* 1:371–372
- Sawyer, S. C., Epps, C. W. & Brashares, J. S. (2011). Placing linkages among fragmented habitats: do least-cost models reflect how animals use landscapes? *Journal of Applied Ecology* 48, 668–678.

- Shirk AJ, Wallin DO, Cushman SA, Rica CG, Warheit KI (2010) Inferring landscape effects on gene flow: a new model selection framework. *Mol Ecol* 19:3603–3619
- Sinsch, U. (1992) Structure and dynamic of a natterjack toad metapopulation (*Bufo calamita*). *Oecologia* 90:489–499.
- Sinsch U (1997) Postmetamorphic dispersal and recruitment of first breeders in a *Bufo calamita* metapopulation. *Oecologia*, 112, 42–47
- Sinsch U., Oromi N., Miaud C., Denton J. and Sanuy D. 2012. Connectivity of local amphibian populations: modelling the migratory capacity of radiotracked natterjack toads. *Animal Conservation* 15(4): 388–396, DOI: 10.1111/j.1469-1795.2012.00527.x.
- Smith M. A. and D. M. Green 2005. Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* 28: 110–128.
- Spear SF, Balkenhol N, Fortin MJ, McRae BH, Scribner K (2010) Use of resistance surfaces for landscape genetic studies: considerations for parameterization and analysis. *Mol Ecol* 19:3576–3591
- Stevens VM, Polus E, Wesselingh RA, Schtickzelle N, Baguette M (2004) Quantifying functional connectivity: experimental evidence for patch-specific resistance in the natterjack toad (*Bufo calamita*). *Landsc Ecol* 19:829–842
- Stevens, V. M., C. Verkenne, S. Vandewoestijne, R. A. Wesselingh, and M. Baguette 2006. Gene flow and functional connectivity in the natterjack toad. *Molecular Ecology* 15:2333–2344.
- Stevens VM, Turlure C and M Baguette (2010) A meta-analysis of dispersal in butterflies. *Biol. Rev.* doi: 10.1111/j.1469-185X.2009.00119.x
- Taylor, P.D. et al. (1993) Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos* 68, 571–573
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Willis DPM, Shipley P (2004) Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes* 4:535–538
- Van Strien M, Keller D, Holderegger R (2012) A new analytical approach to landscape genetic modeling: least-resistance transect analysis and linear mixed models. *Molecular Ecology*, 21, 4010–4023
- Varvio SL, Chakraborty R, Nei M (1986) Genetic-variation in subdivided populations and conservation genetics. *Heredity*, 57, 189–198.
- Verhoeven KJF, Simonsen KL, McIntyre LM (2005) Implementing false discovery rate control: increasing your power. *Oikos*, 108, 643–647.
- Wang J (2004) Sibship reconstruction from genetic data with typing errors. *Genet* 166:1963–1979
- Wang JJ, Savage WK, Shaffer B (2009) Landscape genetics and least-resistance path analysis reveal unexpected dispersal routes in the California tiger salamander (*Ambystoma californiense*). *Mol Ecol* 18:1365–1374
- Whitlock MC (2011) G'ST and D do not replace FST. *Mol Ecol*. 20(6):1083–91
- Wilson GA, Rannala B. 2003. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics* 163: 1177–1191.
- Yang R-C (2004) A likelihood-based approach to estimating and testing for isolation by distance. *Evolution*, 58, 1839–1845.
- Zeller KA, McGarigal K, Whiteley AR (2012) Estimating landscape resistance to movement: a review. *Landsc Ecol* 2012;27(6):777 – 97
- Zellmer AJ and Knowles LL (2009) Disentangling the effects of historic vs. contemporary landscape structure on population genetic divergence. *Molecular Ecology* 18, 3593–3602

Supplementary materials

S1: PCR PROCEDURES AND MICROSATELLITE MARKERS

PCR procedures

For multiplexes, a standard PCR mix was prepared using Multiplex PCR Kit (Quiagen) with 1.25 μ L pre-mix including selected markers (standard protocol unless noted in [Table S2](#): 5 μ L of each 100 μ M primer solution topped up with Tris-EDTA Buffer to 250 μ L), 6.25 μ L Type-it Multiplex PCR Master Mix, 1 μ L DNA solution and the mix was topped up with distilled H₂O to 12.5 μ L. For simplex, a standard PCR mix was prepared using Simplex PCR Kit (Quiagen) with 0,3 μ L 6.6 mM dNTP solution, 0.25 μ L R-primer 10 μ M, 0.1 μ L F-primer 10 μ M, 1 μ L standard buffer, 1 μ L 25mM MgCl₂, 0.2 μ L Taq DNA polymerase (5u/ μ l), 1 μ L DNA solution and the mix was topped up with distilled H₂O to 10 μ L. All PCRs were conducted in a thermocycler Mastercycler egradient (Eppendorf). Different PCR procedures had to be used for different microsatellite loci (see Table S2):

PCR procedure A: multiplex with initial denaturing (95 °C) 15 min, 35 cycles (94 °C 30 sec denature, annealing temp 60 sec, 72 °C extension 60 sec), and 60 °C 30 min final extension.

PCR procedure B: simplex with initial denaturing (95 °C) 5 min, 5 cycles (95 °C 60 sec denature, annealing temp 30 sec, 72 °C extension 60 sec), 25 cycles (95 °C 60 sec denature, annealing temp 30 sec, 72 °C extension 60 sec) and 72 °C 30 min final extension.

PCR procedure C: simplex with initial denaturing (95 °C) 3 min, 7 cycles (94 °C 45 sec denature, annealing temp I 45 sec, 72 °C extension 20 sec), 30 cycles (94 °C 45 sec denature, annealing temp II 45 sec, 72 °C extension 20 sec) and 72 °C 15 min final extension.

Microsatellite markers

Table S1: Microsatellite markers for *B. bufo* and *B. calamita* used in this study and their associated PCR procedures. PCR procedure (Proc.; letters refer to the procedure names in the explanations provided above), annealing temperature in °C (Temp.), fluorescent Dye Label (Fluo.), multiplex primer concentration in μL ([primer]), type of PCR mix and genotyping panel code for the microsatellite markers. Total number of alleles (A), allele size range in bp (Range), expected heterozygosity (*He*) and fixation index (*F*) are presented for finally retained markers.

Marker	Proc	Temp.	Fluo.	[primer]	PCR Mix	Panel	A	Range	<i>He</i>	<i>F</i>
<i>Bcal</i> μ 1 ^b	A	58	6-Fam	5	Standard	A3	11	133 - 163	0.873	0.077
<i>Bcal</i> μ 2 ^b	A	58	Ned	4	Standard	B4	6	193 - 201	0.493	0.199
<i>Bcal</i> μ 3 ^b	B	55	6-Fam	-	0,6 μL MgCL2	B4	17	117 - 143	0.850	0.088
<i>Bcal</i> μ 5 ^b	A	58	6-Fam	5	Standard	A3	11	232 - 252	0.746	0.042
<i>Bcal</i> μ 6 ^b	C	44, 46	Pet	-	Standard	C5	7	162 - 180	0.708	0.090
<i>Bcal</i> μ 7 ^b	A	63	Ned	5	Standard	C5	7	146 - 168	0.365	0.106
<i>Bcal</i> μ 8 ^b	A	58	Pet	4	Standard	B4	18	164 - 200	0.708	0.090
<i>Bcal</i> μ 10 ^c	A	58	Vic	5	Standard	A3	9	147 - 165	0.742	0.111
<i>Bcal</i> μ 12 ^c	A	58	6-Fam	7	Standard	B4	-	-	-	-
<i>Buca</i> 1 ^d	B	58	Ned	-	Standard	A3	5	226 - 234	0.713	0.163
<i>Buca</i> 3 ^d	B	66	Vic	-	Standard	B4	-	-	-	-
<i>Buca</i> 5 ^d	A	58	Pet	5	Standard	A3	6	131 - 143	0.399	0.122
<i>Buca</i> 6 ^d	A	63	Vic	5	Standard	C5	9	227 - 251	0.686	0.125

^a Brede et al. 2001; ^b Rowe et al. 1997; ^c Rowe et al. 2000; ^d Rogell et al. 2005

S2: PAIRWISE LINEARIZED F_{ST} BETWEEN POPULATIONS.

Table S2: Pairwise linearized F_{ST} between populations computed with Genetix . Bold values indicate significance ($P < 0.05$).

Population	V6	V11	V13	V17	V18	V20	V23	V24	V80
V6	-								
V11	0.007	-							
V13	0.044	0.027	-						
V17	0.022	0.019	0.009	-					
V18	0.071	0.073	0.036	0.060	-				
V20	0.028	0.033	0.022	0.018	0.059	-			
V23	0.080	0.057	0.019	0.043	0.009	0.060	-		
V24	0.052	0.032	0.084	0.039	0.117	0.061	0.094	-	
V80	0.042	0.022	0.016	0.004	0.061	0.017	0.044	0.055	-

Partie IV

Evaluation de l'effet des carrières sur la connectivité du paysage : une approche à travers différents paysages, intervalles de temps et espèces

I. Démarche

Dans le cadre du chapitre précédent, nous avons présenté une nouvelle méthode de calibration de résistances aux déplacements. Cette méthode est apparue fructueuse pour quantifier l'effet des différents éléments du paysage sur la connectivité avec l'exemple de *E. calamita*. Nous avons ainsi démontré un effet positif des carrières en activité pour la connectivité de cette espèce.

Rappelons néanmoins que l'objectif de la thèse vise à évaluer l'effet global des carrières sur la connectivité du paysage, c'est-à-dire à la fois en termes de gain ou de perte de connectivité. En tant qu'espèce pionnière, *E. calamita* ne saurait être représentative de l'effet global de la carrière sur l'ensemble de l'écosystème. Afin d'obtenir une vision plus globale, il est donc nécessaire d'évaluer cet effet à minima sur une deuxième espèce de comportement de dispersion opposé. Dans ce cadre, nous avons choisi de tester cet effet sur la connectivité de *B. bufo*, une espèce affectionnant les milieux végétalisés (voir références citées en Partie I).

Si l'effet positif des carrières sur la connectivité a été démontré dans le chapitre précédent, rien ne permet à ce stade de généraliser ces conclusions. En effet, le site d'étude considéré présente un contexte paysager particulier : un paysage à forte dominante agricole (89% du site), peu de zones naturelles propices à *E. calamita*. En un mot, rien ne prouve que cet effet positif est absolu ou uniquement relatif à un contexte paysage, dans notre exemple peu propice à *E. calamita*. Cette question s'applique d'ailleurs à l'ensemble des éléments du paysage, dont l'effet sur la connectivité peut dépendre de la structure et de la composition du paysage local (Rayfield *et al.*, 2010). Au-delà de la question du contexte paysager, la nature de la carrière peut également varier d'un endroit à l'autre. Notre précédent site d'étude présente des carrières de roches massives caractérisées par de faible taux de conversion du sol, i.e. 9 ha/an depuis les années 1970. Au contraire, les carrières alluvionnaires ont une importante dynamique en termes de consommation d'espace, pouvant convertir jusqu'à 66 ha/an de surfaces. Ainsi, la connectivité de milieux pionniers est-elle garantie dans de tels paysages mouvants ? La pression industrielle s'y exerçant ne cause-t-elle pas un risque de mortalité accru, et par conséquent un effet puits ? Ainsi, l'effet de la carrière sur la connectivité du paysage peut également dépendre de la nature-même de la carrière et de sa dynamique associée. Afin d'intégrer cette double dépendance, i.e. contexte paysager et nature de la carrière, il est donc nécessaire de calibrer les résistances des carrières sur différents sites d'études présentant des contextes paysagers et des carrières de nature variée. Sur la base des différenciations génétiques, nous appliquons donc notre procédure de calibration à nos deux espèces cibles sur 6 sites d'études de paysage varié, et ce sur 3 intervalles de temps distincts (i.e. années 1940, années 1970 et années 2000) afin de contrôler l'éventuel décalage temporel séparant structure paysagère et génétique.

II. Article : Assessing the effect of quarrying on landscape connectivity: a resistance calibration approach across species, landscapes and time

Théo Flavenot¹, Virginie Stevens², Pierre Joly³, Michel Baguette^{2,4}, Louise Keszler¹ and Aurélie Coulon^{1,5}

1: Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation, UMR 7204 MNHN-CNRS-UPMC
55 rue Buffon
75005 Paris, France

2: Station d'écologie expérimentale du CNRS à Moulis, USR 2936 CNRS
2 route du CNRS
09200 Moulis, France

3: Université Lyon 1, CNRS, UMR 5023 - LEHNA, Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés
Bât. Darwin C
F-69622 VILLEURBANNE Cedex France

4: Institut Systématique, Evolution, Biodiversité, UMR 7205 MNHN
57, rue Cuvier
75231 Paris Cedex 05, France

5: Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, UMR 5175
1919 route de Mende
34293 Montpellier 5, France

Soumission prévue – Molecular Ecology– février 2014.

Abstract

Landscape connectivity is a key element for biodiversity conservation. Connectivity is threatened by anthropogenic land conversion, which triggers (among other things) an isolation of populations. As other industrial activities, quarrying has a deep effect on landscapes, and may disturb local dispersal processes. However, newly created habitats can be favourable for some specialist species. To assess the global effect of quarrying on connectivity, we estimated its resistance to gene flow relative to that of the surrounding land cover classes. We focused on two amphibians with opposed habitat preferences: the common toad (*Bufo bufo*), a species favouring vegetated environments; and the natterjack toad (*Epiladea calamita*), a pioneer species. Resistances were inferred from a calibration procedure that integrates mixed modelling and circuit theory. The study was conducted in six contrasted areas to control for the influence of landscape context on calibration; and at three points in time (1940s-1970s-2000s) to control for time lags between landscape and genetic structure. The time lag between genetic and landscape processes varied among sites and species, and was driven by the type of change that happened in the landscapes (gain or loss of connectivity). Calibration failed for areas showing high rates of land conversion. We found woodlands, herbaceous areas and wetlands as minimum resistance for *B. bufo*. Both woodlands and bare ground were preferably used by *E. calamita*, underlying the importance of juvenile dispersal. Active quarry sites were shown to support connectivity for *E. calamita*, whereas the effect on *B. bufo* was closely linked to the landscape context.

Keywords

Landscape permeability, Epiladea calamita, Bufo bufo, connectivity, mixed effect model, gene flow, Cost/friction surface, circuit theory

Introduction

Land conversion is recognized as one of the major threats to biodiversity (Crooks & Sanjayan, 2006). It is a major driver of habitat loss, and by this way reduces overall habitat availability and connectivity between populations (Wilcox & Murphy 1985; Hanski 1999; Fahrig 2003). Land conversion hence directly impacts dispersal processes. Because it is essential to gene flow, (re)colonization processes, (meta)population resilience, adaptation to global change, and long term survival (Frankham et al. 2010), dispersal has been in the focus of conservationists. However, estimating the impact of land use on dispersal requires species-specific knowledge on how dispersal behaviour is affected by landscape structure and composition. Connectivity, the degree to which a landscape facilitates or impedes movements among resource patches (Taylor et al. 1993), is therefore a key metric to investigate land conversion issues.

In Europe, land conversion is mainly driven by human-induced land use such as urbanization, development of transportation infrastructures, intensive farming and logging (Martino & Fritz 2008). While the impact on connectivity of many of those activities has been extensively studied (e.g. urbanization: Blanchong et al. 2013; infrastructure transportation: Epps et al. 2005; forestry: Dixo et al. 2009), others remain unknown, as is the case for quarrying activities. Quarrying, the industrial extraction of mineral materials used in construction, could act as a major driver of fragmentation at the local scale (e.g. valleys). Extracting activity replaces the initial landscape by mineral soil, with increased dust, noise and traffic, and may by this way degrade the habitat quality (Clements et al. 2006; Berhe 2007; Lameed & Ayodele 2010). The resulting topsoil is generally thin, nutrient-poor and compacted. As a result, successional processes cannot proceed and are stuck at early stages of colonization. Such degraded habitats are hence supposed to be highly resistant to the movements of many species. Interestingly, though, these deep alterations result in the creation of pioneer habitats, and resulting walls, bottom, barren terraces, installation plants and stocks have been observed to attract specialist species in every taxa: invertebrates (Brandle et al. 2000; Benes et al. 2003), amphibians (Rannap et al. 2007), birds (Kovacs 2001; Voetzel et al. 2008) and flora (Novak & Konvicka 2006). High concentration of activity often generates mosaics of quarries that spread on dozens of kilometres. Resulting stepping-stone networks of quarries have been observed to play a role of refuges for threatened freshwater fauna and flora (Santoul et al. 2000, 2009). Also, after exploitation, portions of quarrying sites are rehabilitated (for environmental, visual and safety reasons) into a large panel of ecosystems including heathlands, wetlands or forests (Schulz & Wiegleb 2000; Bzdon 2008; Tropek & Konvicka, 2008). This diversity of specific ecosystems gives quarries a high potential for biodiversity conservation. Nonetheless, the effects of quarries on connectivity have not been investigated yet and remain unclear: on one hand quarrying could be

resistant to the movements of species sensitive to industrial impacts, while, on the other hand, it could increase landscape permeability for pioneer species. At the same time, active quarries could act as a mortal trap for pioneer species and consequently decrease gene flow despite creating potential favourable habitat. Consequently, the effect of quarrying on landscape connectivity remains unclear.

A wide panel of tools has been proposed to quantify landscape connectivity (Kool et al. 2013). So far, methods based on resistance surfaces (or friction maps) are the most attractive (Baguette et al. 2013). Resistance values are assigned to each land cover class, reflecting the degree to which animal mobility is facilitated or impeded by the physical properties of these classes. Different modelling approaches can then be applied on those resistance surfaces to estimate connectivity. Currently, the least-cost path (LCP) approach (Adriensen et al. 2003) and circuit theory (McRae 2006) are the most widely used methods. If both tools were shown to successfully correlate with genetic estimates of connectivity (Coulon et al. 2004; Cushman et al. 2006, McRae & Beier 2007; Garroway et al. 2011), LCP was outperformed by circuit theory in several cases (McRae & Beier 2007; Etherington et al. 2013; Seymour et al. 2013).

Whereas the resistance approach is appealing in its conceptual framework, the assignment of appropriate values can still be a challenge (Zeller et al., 2012): most landscapes are made of a large variety of elements, which may all affect connectivity at different degrees and in different directions. Assigning resistance values to those different landscape elements requires inferring how those elements affect movements. One solution calls for field monitoring of movements (CMR, telemetry) (Kool et al. 2013) or presence/absence data (Janin et al. 2009). Such methods are unfortunately very costly in time, staff and/or logistics and usually fail to assess juvenile dispersal (the most important type of movements to consider when assessing connectivity among populations). Other approaches have used controlled systems to experimentally assess resistance values (Stevens et al. 2004). Very useful when appreciating dispersal behaviour at the finest scale, such experimental designs hardly integrate complex landscape interactions at large spatial scales, nor can they be applied to every species. For those situations, landscape genetics seems to be most promising. Another possibility is to use genetic distances (among individuals or populations) as an indirect estimate of connectivity and to look for the combination of resistance values that provides connectivity estimates that best correlate with them. The demanding computational efforts required to test the full parameter space (of resistance value combinations) largely explains the scarcity of such calibration studies (see Wang et al. 2009; Shirk et al. 2010). Moreover, the statistical assessment of the correlation between genetic distances and connectivity estimates remains delicate because of the non-independence of the pairwise distances (the same population/individual is involved in several distances). To overcome

this issue, mixed effect models that integrate the population effect as a random effect have recently been used in other landscape genetic studies (Pavlacky et al. 2009; Selkoe et al. 2010 ; Van Strien et al. 2012; Blair et al. 2013). But mixed models have rarely been integrated into resistance calibration procedures. Some of us developed a calibration procedure that integrates both circuit theory and MLPE models (Flavenot *et al.* [In prep.](#)). This approach applies a step-by-step algorithm that scans the full space of parameters, while minimizing the number of combinations of resistance values to test. This method is able to reach the same optimal resistance combination as an alternative procedure, much more computationally intensive, based on the exhaustive test of all the possible combinations of values. And it performs better than another multivariate optimization method. We therefore aim to apply this new tool to assess the relative resistance of quarrying on gene flow, and hence their effects of on connectivity.

Comparative approaches across species are required to estimate precisely the effect of particular landscape features on connectivity (Golberg & Waits 2010). Nevertheless, single or multi-species studies generally focus on a single site. Conclusions inferred from single sites are extremely difficult to extrapolate because the relative effect of a landscape element on dispersal may be context-dependant (Rayfield et al. 2010). Sampling designs should therefore include distinct landscapes to control for this bias (Anderson et al. 2010). Moreover, taking land use history into account is crucial because landscapes often change more rapidly than biological processes such as demography, genetic drift and consequently genetic differentiation (Crow & Aoki 1984; Varvio et al. 1986). More and more studies therefore use landscape representations at multiple points in time (Holzhauer et al. 2006; Zellmer & Knowles 2009). To sum up, any rigorous connectivity study should tackle three main aspects: (1) species-dependent effects; (2) site-dependent effects; and (3) time-dependent effects. Accordingly, we used the new resistance calibration approach developed by Flavenot *et al.*, ([In prep.](#)) to estimate the resistance of quarrying on gene flow in two amphibian species with contrasted biological requirements; in six distinct sites characterized by contrasted landscapes in terms of land use and quarrying activity; and through the use of several temporal representations of the landscape (i.e. mid 1940s, 1970s and 2000s). The two study species are the natterjack toad (*Epiladea calamita*), a specialist of pioneer habitats; and the common toad (*Bufo bufo*), which favours densely vegetated environments. Amphibians are good model species to assess the effect of land conversion. Indeed, this taxon is one of the most sensitive to fragmentation because of its poor dispersal capacity (Sinsch 1990; Smith & Green 2005; Cushman 2006), specific habitat requirements (Karraker & Gibbs 2009), and complex life cycle involving spatially distinct breeding and foraging habitats (Pope et al. 2000). We predict that quarries are highly resistant to gene flow in species favouring forests such as *B. bufo*, and conversely favour dispersal for pioneer species such as *E. calamita*.

Material and methods

STUDY SPECIES

The common toad (*Bufo bufo*) is a widespread anuran in Europe that colonizes a large panel of habitats such as hedgerows, pastures or suburban gardens. It however shows preference for forested areas, both for home-ranging and for dispersal (Denton 1991; Denton and Beebee 1994; Hartel et al. 2008; Janin et al. 2009). During dispersal *B. bufo* avoids poorly vegetated habitats (Romero & Real 1996) and can suffer high mortality in open and mineral areas (Denton and Beebee 1991, Denton and Beebee 1994). Moreover, breeding is more conditioned by landscape than pond quality (Scribner et al. 2001; Hartel et al. 2008). Migration distances usually fall within 50–1600 m (Glandt 1986; Sinsch 1989), but dispersal events up to 3 km have been observed (Smith and Green 2005). Adults exhibit high site fidelity (79-96 % of adults return to the pond they used the previous year; Reading et al. 1991), suggesting that dispersal events are mainly due to juveniles (up to 20% of the toadlets disperse away from their native pond, Schlupp and Podloucky 1994; Cooke and Oldham 1995). The generation time is around 3 years (Halley et al. 1996).

The natterjack toad (*Epliadea calamita*) is an endemic species of central and Western Europe restricted to poorly-vegetated habitats resulting from edaphic conditions (e.g. poor-nutrient coastal meadows, dunes or heathlands) or topsoil disturbances (Denton & Beebee 1991). Sandy soils are preferred because of the possibility to dig burrows, which decreases the risk of desiccation and gives high competitive advantage (Denton & Beebee 1994). Toadlets present increased movement performances in open habitat (Stevens et al. 2004), where perception and hunting are more efficient than in densely-vegetated conditions (Denton & Beebee 1994). However, forests have also been shown to be used by toadlets for dispersal (Stevens et al. 2006). Maximum dispersal distances usually range to 4km (Smith & Green, 2005) and occasionally to 12 km (Sinsch et al., 2012). Generation time is thought to be around 3 years (Rowe et al. 2000). The overall decline of natterjack populations across Europe is largely due to the dramatic loss of breeding habitat, which forces this species to colonize anthropogenic pioneer environments (Eggert and Miaud 2004; Stevens et al. 2006; Rannap et al. 2007).

STUDY SITES

The study was carried out in 6 sites located in northern France and showing contrasted quarrying structure and densities, as well as varied landscape composition and configuration (Fig. 1 and supplementary material S1). All sites show rural-dominant landscapes with relatively low human densities. They also exhibit similar overall flat topography, with low average elevations (ca. 10-140m).

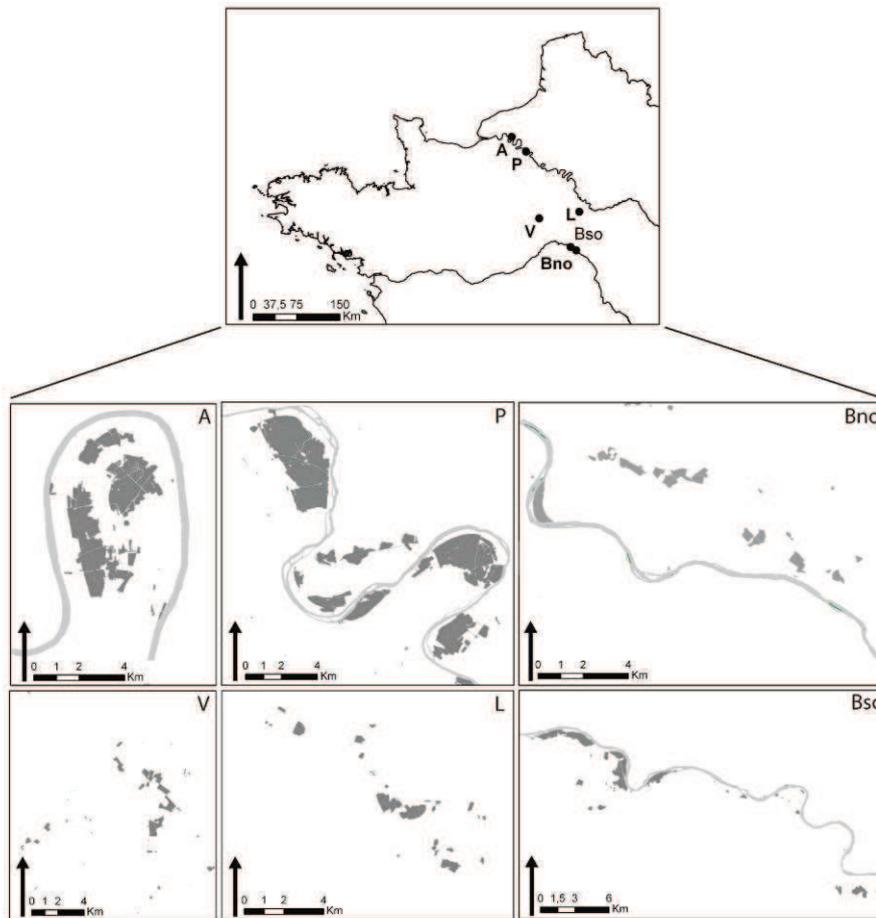


Fig. 1 Study sites

The northernmost sites Anneville (A) and Poses-Bouafles (P) are spread across the channelized riverbed of the Seine, where balanced proportions of forests and farmland characterize the landscape. Here, gravel pits concentrated in the alluvial river loops, accounting for dense and contiguous quarrying networks (i.e. quarrying represents respectively 26% and 10% of the total area for sites A and P). Activity concentration accounted for high rates of land conversion, up to 66 ha/year. The site of Larchant (L) is located in the southern limit of the forested continuum of Fontainebleau and the beginning of the wide open-field plateau of the Beauce. Silica sand quarrying accounted for smaller and more permanent sites (i.e. only 1.7% of the total area), structured into stepping-stone networks. In the very center of the Beauce, Voves (V) shows a homogeneous open-field landscape. Limestone extraction resulted in similar quarrying landscape as the site L. The southernmost sites of Northern Bonnee (Bno) and Southern Bonnee (Bso) are located in the Loire valley, characterised by balanced proportions of forests, farmlands but also semi natural heathlands on banks, a result of non-channelized riverbeds. Here, gravel pits are dispersed all over the large alluvial plain, resulting in dense stepping stone networks (i.e. quarrying represents respectively 3.3 % and 6.1% of the total area for sites Bno and Bso).

SAMPLING

Fertilized eggs and larvae were sampled during the springs of 2011 and 2012. Because females generally lay one single undivided clutch every year (Denton and Beebee 1996; Hitchings and Beebee 1998) that is fertilized by one single male (Banks et al. 1994; Hitchings and Beebee 1998), we minimized sib-effect by collecting eggs from distinct clutches, and larvae from separated ponds. Clutch fragments were reared in the laboratory at 20°C until tadpoles were larger than 1 cm. Individuals were finally euthanized and stored in 70 % ethanol at room temperature.

GENETIC DATA COLLECTION

DNA was extracted from tail tissue using the NucleoSpin® 96 Tissue Kit (Macherey-Nagel) following an automated processing on a robotic platform epMotion 5075 (Eppendorf). After extensive tests with different PCR protocols (see details in supplementary materials S2), thirteen microsatellite markers were successfully amplified for *E. calamita* (Rowe et al. 1997; Rowe et al. 2001; Rogell et al. 2005) and eleven for *B. bufo* (Brede et al. 2001). Genotyping was carried out with an ABI PRISM 3130 automated sequencer (Applied Biosystems). Allele sizes were screened using GeneMapper v4.0 (Applied Biosystems) relative to standard marker LYS500 (Applied Biosystems).

We included eight positive controls with known genotypes in each run of 96 PCRs to control for contamination and electrophoresis standard conditions. Genotypes were checked for stuttering, null alleles and large allelic dropout using MICRO-CHECKER v2.23 (Van Oosterhout et al. 2004). First amplification revealed strong evidence for null alleles at two loci for *E. calamita* (Cala_12, Cala_3a) for all sites and at four loci for *B. bufo* (Bufo_15, Bufo_39, Bufo_62, Bufo_65) concerning four of our sites. After re-amplification of all homozygotes, only loci Bufo_15 for *B. bufo* and Cala_12 and Cala_3a for *E. calamita* showed evidence for null alleles in more than two sites. These loci were removed from the analyses. Linkage disequilibrium between all pairs of loci was tested using GENEPOP v4.2 (Raymond and Rousset 1995; Rousset 2008). Markov chain parameters included a dememorization step of 10000 iterations followed by 1000 batches of 10000 iterations each. We accounted for multiple comparisons by calculating the P values adjusted for FDR (False Discovery Rate) with the R function `fdrtool` for R v2.13 (R Core Development Team 2013).

Despite our cautious sampling protocol, full siblings could remain within the ponds. We therefore used COLONY v2.0 (Wang 2004) within each pond to identify and remove sibs, and hence completely avoid sib-effect. Following Wang (2004)'s guidelines, each analysis was performed three times using the same information. Different seed numbers were used for each replication to avoid convergence problems commonly observed with maximum-likelihood estimation. Identical family structures were obtained in all cases.

Mean numbers of alleles per locus (N_a), numbers of effective alleles (N_e), allele frequencies, observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosities were calculated using GENALEX v6.5 (Peakall & Smouse 2005). We evaluated deviations from Hardy-Weinberg equilibrium using GENEPOP v4.2 (Rousset 2008). Significance levels were calculated with the Markov chain method, with 10000 dememorization steps, and 100 batches with 5000 iterations per batch. F_{IS} , global F_{ST} , and their statistical significance (Weir & Cockerham 1984) were calculated in FSTAT v2.9 (Goudet 1995).

GENE FLOW ESTIMATION

B. bufo and *E. calamita* were considered to reproduce metapopulation dynamics as they usually show high site fidelity and limited dispersal capacity (Haapanen 1974; Sinsch 1992; Smith & Green 2005). The pond level was therefore assumed to be a more relevant scale than the individual level in our analyses (Zeller et al. 2012). We used Rousset's (1997) linearized F_{ST} (i.e. $F_{ST}/(1 - F_{ST})$) to estimate interdeme gene flow at the pond level. The use of F_{ST} was preferred to the other usual genetic metrics Hedrick's (2005) standardized G'_{ST} and Jost's (2008) D since these may show insensitiveness to migration processes when the mutation rate is high relative to the migration rate (Whitlock 2011). Pairwise linearized F_{ST} were computed using GENEPOP 4.0.10 (Rousset 2008).

LANDSCAPE MAPPING

The extent of the site was limited to the minimum convex polygon encompassing all the ponds within a site, buffered with a 1km radius. This distance was set in order to fall within the usual dispersal range of both *B. bufo* and *E. calamita* (Smith & Green 2005). To account for potential delays in landscape changes and their effects on genetics, landscape composition was mapped with Arcgis v9.3 (ESRI) at three distinct points in time, separated by ca. 10 generations: mid 1940s (1946-1949), 1970s (1969 to 1974) and 2000s (2003-2013) (the years depending on land cover data availability, see supplementary material S1). The site area was mapped on the basis of black and white aerial photographs ranging from 1:25000 to 1:30000 scale and a resolution of 40 cm for the first two time points (IGN, BD Prises de vues aériennes ©), and real-colour geographically corrected aerial photographs at a 1:5000 scale and a resolution of 50 cm for the most recent one (IGN, BD Ortho ©). Field validation was carried out to account for potential landscape changes that occurred since the last photography capture.

Landscape composition was partitioned into 14 land cover classes distributed into 8 classes of non-quarry features (woodlands, herbaceous areas, farmlands, wetlands, urban areas, roads, railways and bare soil) and 6 of quarry features (woodlands, herbaceous, restored farmland, waterbodies, urbanized soil and bare soil) (Table 1). We chose a resolution of 10m for the raster grid, which appears to be a good trade-off between computational efforts and the representation of the small and/or punctual landscape features like hedgerows, secondary roads or ditches.

Table 1 Land cover classes used in this study.

Class	Code	Description
<i>Landscape outside quarries</i>		
Bare ground	bare	Natural non-vegetated areas and dirt tracks
Herbaceous	herb	Meadows, heaths and lawns
Farmland	farm	Ploughed land and market gardening area
Railroad	rail	Railroads
Roads	road	Mineralized roads
Urban	urb	Densely urbanized and residential areas, landfills and working areas
Wetlands	wet	Marshlands, streams, lakes and pond systems
Woodland - dense	dwo	Densely forested areas
Woodland - medium	mwo	Shrubby areas, semi-wooded moors, forested parks and orchards
<i>Landscape within quarries</i>		
Bare ground	qbare	Total area modified by quarrying
Herbaceous	qherb	Spontaneous and rehabilitated herbaceous areas including meadows, heaths and lawns
Farmland	qfarm	Rehabilitated ploughed lands and market gardening area
Urban	qurb	Rehabilitated densely urbanized and residential areas, landfills and working areas
Wetlands	qwet	Rehabilitated marshlands, streams, lakes and pond systems, extractive lakes and tailing ponds
Woodland	qwo	Spontaneous and rehabilitated densely forested areas, shrubby areas, semi-wooded moors, forested parks and orchards

RESISTANCE CALIBRATION

We applied Flavenot *et al.* (In prep.)'s calibration procedure for 5 resistance values $r \in \{1, 25, 50, 75, 100\}$ and our $c=14$ distinct land cover classes. This approach is based on the scan of the whole space of possible combinations of resistance values through a six-step procedure of increasing precision. The principle is to find the combination of resistance values that generates the connectivity estimate which best explains pairwise genetic distances among populations (or individuals) is selected. We first performed a sensitivity analysis to identify the "non-influential" land cover classes, i.e. classes that do not influence landscape connectivity. To do so, we ran $5*c$ resistance combinations where each class was assigned, in turn, each of the 5 resistance values while the others were kept to $r = 50$. Land cover classes were considered as non influential when the changes in R^2_{θ} (correlation coefficient between genetic distances and connectivity; see below for an exact definition) associated with the different resistance values were lower than 1 %, i.e. all $|R^2_{\theta p} - R^2_{\theta q}| < 0.01$, with p and q the resistance values being tested, p and $q \in \{1, 25, 50, 75, 100\}$, and $p \neq q$. The non influential classes were kept to an average constant resistance of 50 throughout the calibration procedure. We then scanned the whole space of parameters for the remaining influential land cover classes following four calibration rounds of increasing precision. First, land cover classes were only assigned the extreme values, i.e. 1 and 100. Secondly, classes that showed the highest R^2_{θ} when resistance was set to 1 (or 100) at the first step were assigned values 1 and 50 (or 50 and 100). Then, we proceeded

similarly to test the remaining resistance values 25 and 75, except that classes that obtained the value of 50 in the previous calibration round were assigned the values 25, 50 and 75. Then, because slightly influential classes may have been assigned a false extreme value during the first step, we tested a final set of combinations than scanned the nearest resistance value for each class, so that all classes were allowed to be assigned each value through the whole procedure. Given this, we ensured that the global optimum was reached because all possible resistance combinations were implicitly scanned at each step. Once the optimal combination was selected, we ran a last sensitivity analysis on the influential classes, where each of them was (one after the other) assigned the 5 possible resistance values while the other classes were kept at their optimal value and the other non-influential classes were kept at 50. Throughout the calibration procedure, each combination of resistance values was used to compute resistance distances (i.e. cumulative resistances) among locations using CIRCUITSCAPE (McRae, 2006). Those resistance distances were considered as connectivity estimates.

STATISTICAL ANALYSES

Following Flavenot *et al.* (In prep.), to correlate the estimated cumulative resistances with gene flow, we performed Clarks *et al.*'s (2002) Mixed Linear Population Effect models using the R package lme4 (Bates et al. 2011) and a modified script from Van Strien et al. (2012) to account for multiple memberships. The goodness of the fit of each combination was assessed from the Edwards' et al. (2008) R^2_{β} statistic using the R-package pbkrtest (Halekoh & Højsgaard 2012). Significance levels and confidence intervals of the regression coefficients were estimated using the Markov Chain Monte Carlo (MCMC) method developed in the R package MCMCglmm (Hadfield 2010). Finally, to assess the relative importance of landscape composition and isolation by distance (IBD) on gene flow, Euclidian distances and cumulative resistances based on the best scenario were tested into a common model considering resistance and Euclidian distances as two predictive variables. Best models were selected using the Deviance information criterion (DIC) estimated with MCMCglmm (Hadfield 2010).

Results

883 *B. bufo* and 862 *E. calamita* were sampled. Due to the lack of breeding ponds, the V area was not successfully sampled for *B. bufo* nor the L area for *E. calamita*. COLONY analyses resulted in the removal of 101 sibs for *B. bufo* and 222 sibs for *E. calamita*. Our final data set was hence made of the genotypes of 782 *B. bufo* individuals and 640 *E. calamita* individuals, distributed in respectively 51 and 39 ponds, with sample sizes ranging from 5 to 41 individuals per pond, and averaging 19 individuals per pond for both *B. bufo* and *E. calamita* (Supplementary material S3). Within sites, distances between nearest neighbour ponds ranged from 0.3 km to 5.2 km for *B. bufo*, and from 0.5

km to 8.4 km for *E. calamita*; the maximum distance between ponds from the same site was 41.6 km for *B. bufo* and 43.4 km for *E. calamita*.

STANDARD POPULATION GENETICS ANALYSES

The mean number of alleles per locus across sample sites ranged respectively from 13.4 to 20.8 for *B. bufo* and from 4.8 to 7.3 for *E. calamita* (Table 2). No pair of loci showed significant linkage disequilibrium after correction of P values for multiple comparisons (all $P > 0.05$, results not shown). Significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were found for one to six loci in each area, and overall loci in each area, except in A for *B. bufo* (results not shown). This disequilibrium is most likely due to Wahlund effects due to substructure in the dataset (as shown below) and moderate frequencies of null alleles which remained for two loci in two areas (Bbufμ39 and Bbufμ65 in A and B, frequencies < 0.097). F_{ST} levels were similar in the two species except in site P, where genetic differentiation was particularly high ($F_{ST} = 0.135$) for *E. calamita* but remained low for *B. bufo* ($F_{ST} = 0.025$) (Table 2).

Table 2 Summary statistics of genetic diversity within sample sites. N is the sample size, N_a the mean average number of alleles, N_e the average effective number of alleles, H_o the observed heterozygosity, H_e the expected heterozygosity, F_{is} the inbreeding coefficient and associated significance of Hardy-Weinberg deviation (*: $P < 0.05$; ns: not significant).

Site	N	N_a	N_e	H_o	H_e	F_{ST}	F_{is}
<i>B. bufo</i>							
A	135	13.4	6.74	0.727	0.780	0.045	0.071 *
Bno	125	20.8	5.46	0.739	0.776	0.037	0.045*
Bso	157	19.4	5.12	0.745	0.759	0.067	0.015 *
L	168	16.0	6.76	0.775	0.776	0.020	0.005 *
P	219	16.3	6.36	0.744	0.775	0.025	0.064 *
<i>E. calamita</i>							
A	185	5.9	3.13	0.579	0.583	0.035	0.009 ns
Bno	117	5.2	2.96	0.613	0.608	0.048	-0.010 *
Bso	99	4.8	2.81	0.566	0.570	0.063	0.001 ns
P	130	6.7	3.37	0.543	0.623	0.135	0.132 *
V	146	7.3	3.55	0.620	0.632	0.045	0.023 *

RESISTANCE CALIBRATION

A total of 139 639 resistance combinations were scanned while a classical exhaustive approach would required $1.4 \cdot 10^8$ combinations. For both species, isolation by distance (IBD) was significant in all sites except Bno for *E. calamita* (all $P < 0.05$, Table 3 & Table 4). The calibration procedure resulted in a significant effect of the landscape compared to IBD in all sites for *B. bufo*, and all sites but A and P for *E. calamita* (all $P < 0.05$, Table 3 & Table 4).

Table 3 Final calibrated resistance values for *B. bufo* and explicative power of the resistance combinations, in each study site and at three points in time. R^2_{δ} IBD: estimated correlations for isolation by distance; P IBD : P values associated with the tests of isolation by distance; R^2_{δ} IBR: estimated correlations for isolation by resistance based on the calibrated combination; P IBR/IBD : P values associated with the tests of isolation by resistance, controlling for isolation by distance. Land cover abbreviations as in Table x. Initially non influential land cover classes were kept to the constant value of 50 (grey figures). “-” represent land cover classes that were not present in the study landscapes.

Site	Year	R^2_{δ} IBD	R^2_{δ} IBR	P IBD	P IBR/IBD	wood	bare	farm	herb	urb	hw	sroa	rail	qwo	qbare	qherb	qhw	qfarm	qurb
<i>B. bufo</i>																			
A	1940s		0.46	<0.01	0.025	75 [25-100]	100 [25-100]	1	1	25	50	1 [1-25]	-	-	-	-	-	-	-
	1970s	0.40	0.46	<0.01	0.036	100 [75-100]	50	100 [75-100]	75	100 [75-100]	50	100 [25-100]	-	50	25 [25-75]	50	50 [25-75]	50	-
	2000s		0.46	<0.01	0.013	50 [50-100]	50	1 [1-100]	25	1	50	1	-	1	1	100 [25-100]	1	1	-
Bno	1940s		0.81	0.011	<0.01	1	25	75	1	50	1	100	50	-	-	-	-	-	-
	1970s	0.24	0.93	0.011	<0.01	25	75	1	25	50	25	75	50	50	75 [75-100]	50	50	-	-
	2000s		0.93	0.011	<0.01	1	25	1	1	100	1	75	50	1	50	1	25	50	50
Bso	1940s		0.75	<0.01	0.216	100	1	75 [50-100]	1	100	50	100	50	-	-	-	-	-	-
	1970s	0.65	0.88	<0.01	0.019	1	1	100	100	100 [75-100]	50	100 [50-100]	50	100 [25-100]	1 [100-100]	100 [75-100]	100	-	-
	2000s		0.78	<0.01	0.566	100	50	1	1	100	1	100	50	100	1	1 [25-100]	100	50	50
L	1940s		0.69	<0.01	<0.01	25	50	50 [50-75]	100	25	1	75 [75-100]	50	-	50	-	-	-	-
	1970s	0.16	0.75	<0.01	<0.01	25	100	25	1	1	1	100	50	50	1	50	50	50	-
	2000s		0.70	<0.01	<0.01	25	50	75 [50-100]	75 [75-100]	25	1	100	50	50	25	50	50	50	50
P	1940s		0.64	<0.01	0.090	50 [50-75]	50	75 [25-100]	100	75	1	1	50	50	50	50	50	-	50
	1970s	0.53	0.64	<0.01	0.120	100 [25-100]	50	100 [50-100]	75 [50-100]	50	50	1 [1-100]	50	1 [1-25]	100 [50-100]	25 [1-100]	75 [50-100]	50	50
	2000s		0.71	<0.01	0.010	1	50	25	1	50 [25-100]	50	25 [1-100]	50	50	1	75 [50-100]	75 [50-75]	25 [1-50]	100 [50-100]

1 **Table 4** Final calibrated resistances for *E. calamita* and explicative power of the resistance combinations. R^2_{θ} IBD: estimated correlations for isolation by distance; P IBD :
 2 significant levels of isolation by distance; R^2_{θ} IBR: estimated correlations for isolation by resistance based on the calibrated combination; P IBR/IBD : significant levels of
 3 isolation by resistance controlling with isolation by distance. Initially non influential land covers classes were kept to the constant value of 50 (grey figures).

site	Year	R^2_{θ} IBD	R^2_{θ} IBR	P IBD	P IBR/IBD	wood	bare	farm	herb	urb	hw	sroa	rail	qwo	qbare	qherb	qhw	qfarm	qurb
<i>E. calamita</i>																			
A	1940s		0.63	<0.01	0.138	1 [25-100]	75	25	75 [75-100]	50	50	25 [1-100]	-	-	-	-	-	-	-
	1970s	0.41	0.52	<0.01	0.077	75	50	1	100	100 [50-100]	50	75	-	50	75	50	100	50	-
	2000s		0.59	<0.01	0.138	25 [25-50]	50	25 [25-50]	100	1	50	25	-	100	100	1	25	75 [25-100]	50
Bno	1940s		0.96	0.275	<0.01	1	1	1	25	25	100 [50-100]	75	50	-	-	-	-	-	-
	1970s	0.001	0.96	0.275	<0.01	1	1	1	25	25 [1-100]	100	25 [1-100]	50	50	1	50	50	50	50
	2000s		0.96	0.275	<0.01	1	1	1	25	25 [1-100]	100	25 [1-100]	50	1	1	1	75 [1-100]	50	50
Bso	1940s		0.63	<0.01	<0.01	100 [25-100]	1	100 [50-100]	100 [75-100]	1	100 [1-100]	1	50	-	-	-	-	-	-
	1970s	0.75	0.87	<0.01	<0.01	1	1	1	75 [50-75]	100	50 [25-50]	75	50	50	50 [1-100]	50	50	-	-
	2000s		0.87	<0.01	<0.01	1	50	25	1	100 [25-100]	100	100 [50-100]	50	1	75	25 [1-50]	1	50	50
P	1940s		0.67	<0.01	0.370	25	1 [1-100]	25	75 [75-100]	100 [25-100]	50	75 [25-100]	50	50	50	50	50	-	50
	1970s	0.80	0.70	<0.01	0.061	1	50	1	1	100	50 [75-100]	100 [25-100]	50	1	1	1	75	50	50
	2000s		0.80	<0.01	0.099	75 [50-75]	50	1	1 [1-25]	50	50	75	50	1	100	1	1	50	50
V	1940s		0.68	<0.01	<0.01	50	50	25	100 [50-100]	75 [75-100]	50	50	50	50	25	1	-	-	50
	1970s	0.45	0.69	<0.01	<0.01	100 [25-100]	50	25	75 [1-100]	75 [75-100]	50	50	50	50	25	1 [1-25]	-	-	50
	2000s		0.85	<0.01	<0.01	1	50	25	100 [25-100]	75 [75-100]	50	1 [1-100]	50	50	1	25 [25-75]	50	25 [1-100]	50

In almost all of our case studies, correlations between resistance distances and gene flow were very different at the three time points, which allowed us to determine the historical landscape that best explained gene flow. This was not true in A and Bno for *B. bufo* (respectively $R^2_B = 0.46$ at the three time points, and $R^2_B = 0.93$ with the last two time points) and Bno for *E. calamita* ($R^2_B = 0.96$ at the three time points). For *B. bufo* and the site A, the initial optimal combination found by the algorithm showed a negative slope for all time points, which was counter-intuitive. We consequently forced the procedure to specifically calibrate combinations with a positive slope, which was not needed in the routine procedure. Because the combinations we obtained showed low correlations of equal values for all time points (i.e. $R^2_B = 0.46$) while 62% of the landscape changed over time, we considered that the landscape effect resulted here from an artifactual calibration of the algorithm that has no relationship with any biological process. We consequently eliminated the site A for our interpretation about the dispersal behaviour of *B. bufo*.

The time lag between landscape changes and genetic differentiation was shown to vary among species, and among landscapes in the case of *B. bufo*. For *E. calamita*, the contemporary landscape was the most explicative for all sites showing a significant landscape effect (Bno, $R^2_B = 0.93$; Bso, $R^2_B = 0.86$; V, $R^2_B = 0.85$). Although all three time points showed similar R^2_B for Bno, we decided to consider only the contemporary landscape as meaningful since the resistance values of the land classes shared among time points were the same and that *E. calamita* differentiation was best explained by the most recent landscape in the two other sites. Oppositely for *B. bufo*, the 1970s time point was more appropriate for Bso ($R^2_B = 0.88$) and L ($R^2_B = 0.75$). For P, genetic differentiation was best supported by the contemporary landscape ($R^2_B = 0.71$). Although both landscapes of 1970s and 2000s were equally explicative for Bno ($R^2_B = 0.93$), we retained the contemporary landscape for this site since the associated calibrated values for the non-quarry land cover classes looked more consistent with the biology of *B. bufo*.

Figures 2 and 3 synthesises the optimum and extent of the calibrated resistance values for all sites and time points. Figures 4 and 5 synthesize the mean and boundaries of optimal values of the most relevant couple site/time points, i.e. Bno₂₀₀₀, Bso₁₉₆₈, L₁₉₆₈ and P₂₀₀₀ for *B. bufo* and Bno₂₀₀₀, Bso₂₀₀₀ and V₂₀₀₀ for *E. calamita*. Resistances values showed variation among species and sites, but discrimination of the range of resistances was possible in each site. For *B. bufo*, the lowest average resistance values across sites were found for wetlands (averaged value $\check{r}=1$, range [1, 1]), woodlands ($\check{r}=7$, [1, 25]) and herbaceous areas ($\check{r}=7$, [1, 25]) whereas the highest resistances were assigned to bare ground ($\check{r}=50$, [25, 100]), urban areas ($\check{r}=56.5$, [1, 100]), within-quarry wetlands ($\check{r}=58.3$, [25, 100]), roads ($\check{r}=91.7$, [50, 100]), and within-quarry urban areas ($\check{r}=100$, [100, 100]). However, these averaged values hide a high variability among sites. For example, resistance of urban areas was higher than 50 for all sites

but L where they had the lowest possible value ($r=1$). Similarly, within quarry woodlands were assigned respectively the minimum and the maximum possible values in the sites Bno and Bso. For *E. calamita*, the lowest average resistance values were assigned to woodlands ($\check{r}=1, [1, 1]$), bare ground ($\check{r}=1, [1, 1]$), within-quarry bare-ground ($\check{r}=1, [1, 1]$) and within-quarry wetlands ($\check{r}=1, [1, 75]$), whereas the highest values were assigned to roads ($\check{r}=62.5, [50, 100]$), urban areas ($\check{r}=75, [25, 100]$) and wetlands ($\check{r}=100, [100, 100]$). As a general trend, classes that were assigned the minimum resistance showed the lowest variability except for quarry wetlands.

Discussion

At first sight, the variability of our results in terms of temporal scale and resistance calibration across species and sites could appear a bit troubling. However, most of the landscape genetics studies have focused on single rather than multiple study sites, and consequently missed the influence of specific landscape contexts on resistance. Based on a large sample scheme, this study allows a better understanding of this variability and its main drivers. We particularly discuss this variability in the perspective of site-specific landscape dynamics and landscape context. The understanding of these drivers allows us to infer conclusions about the dispersal behaviour of *B. bufo* and *E. calamita* with a special focus on quarrying.

LANDSCAPE DYNAMICS DRIVES THE ABILITY TO MODEL LANDSCAPE EFFECTS

Based on our results, we suggest that landscape dynamics, i.e. the evolution of land use across space and time, is the main factor that drives our resistance calibration results. Indeed, this would explain why the site A was unsuccessfully calibrated for both species and the site P for *E. calamita*. Indeed, sites A and P show the highest proportion of quarrying activity with respectively 26.5 % (1074 ha) and 10.2 % (2586 ha) of converted land use driven by quarrying only whereas other sites show low averaged proportions (i.e. 3.1 %). In both sites, quarrying is characterized by extremely high rates of land conversion because of the thickness of alluvial deposits, large numbers of quarries and rapidity of successional stages: respectively 65 ha/year and 26 ha/year of land use were converted in sites P and A between the 1970s and 2000s whereas the other sites show limited conversion rates of maximum 11 ha/year. In both sites, populations of *E. calamita* were restricted to quarrying areas, which make quarrying dynamics extremely influential to dispersal and consequently gene flow. Because quarrying landscape changes extremely rapidly, F_{ST} failed to correctly assess gene flow levels that would match with a landscape at a particular time point, as observed in other contexts (Sork et al. 1999). This could also be noted for *B. bufo* sampled in the quarrying area of the site A. Oppositely in P, populations of *B. bufo* were sampled in the periphery of quarrying area, and associated gene

flow are not only influenced by quarrying but also by other non-quarry land cover classes that show lower conversion rates.

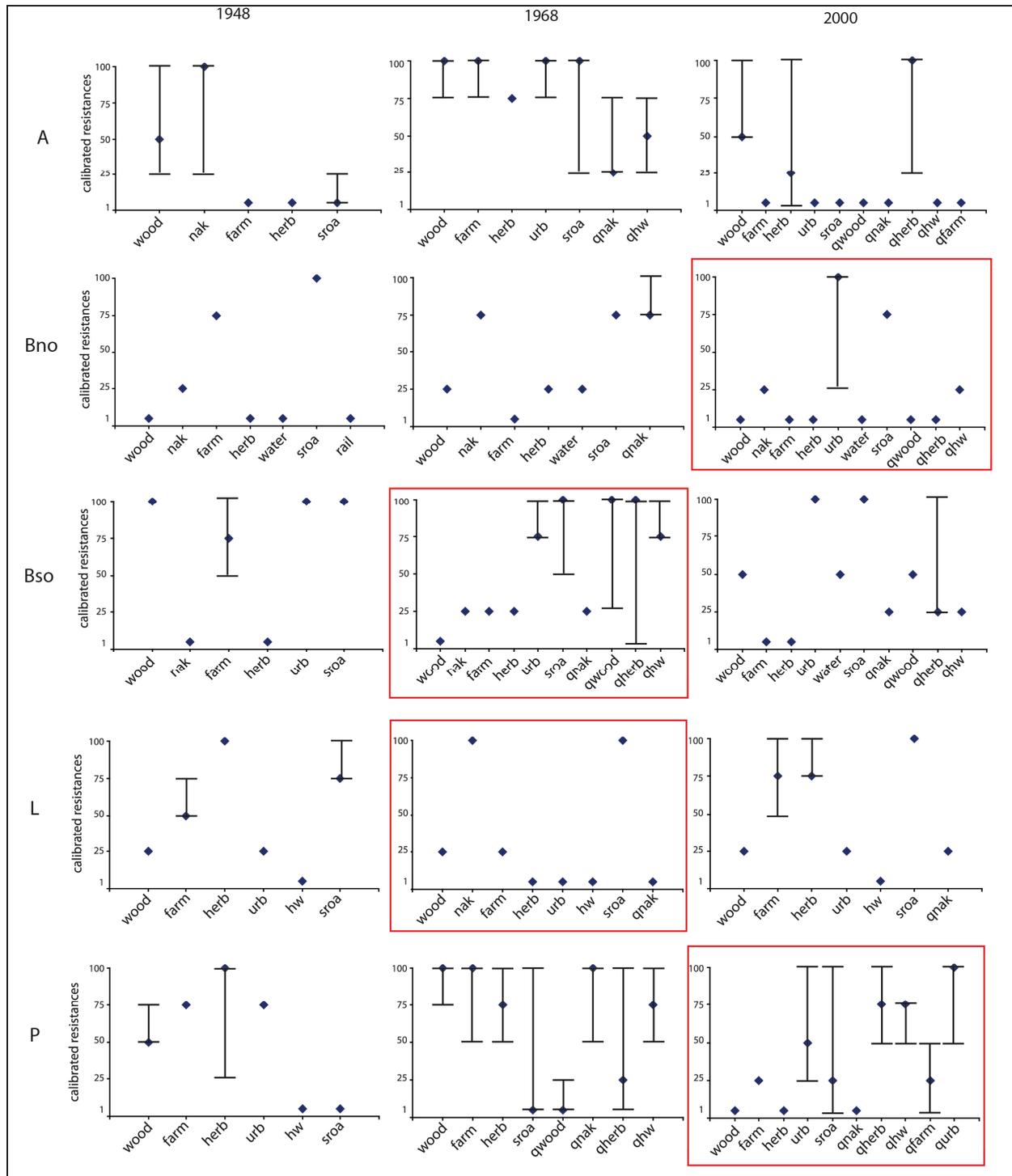


Fig. 3 Calibrated resistance and associated range of values for *E. calamita*. Optimal values are represented by a single point, associated with the bounds of the range of values that could not be discriminated in regards to the ΔR^2_{θ} criteria, i.e. $|\Delta R^2_{\theta p} - R^2_{\theta q}| < 0.01$. For each site, the most relevant time point is underlined in red.

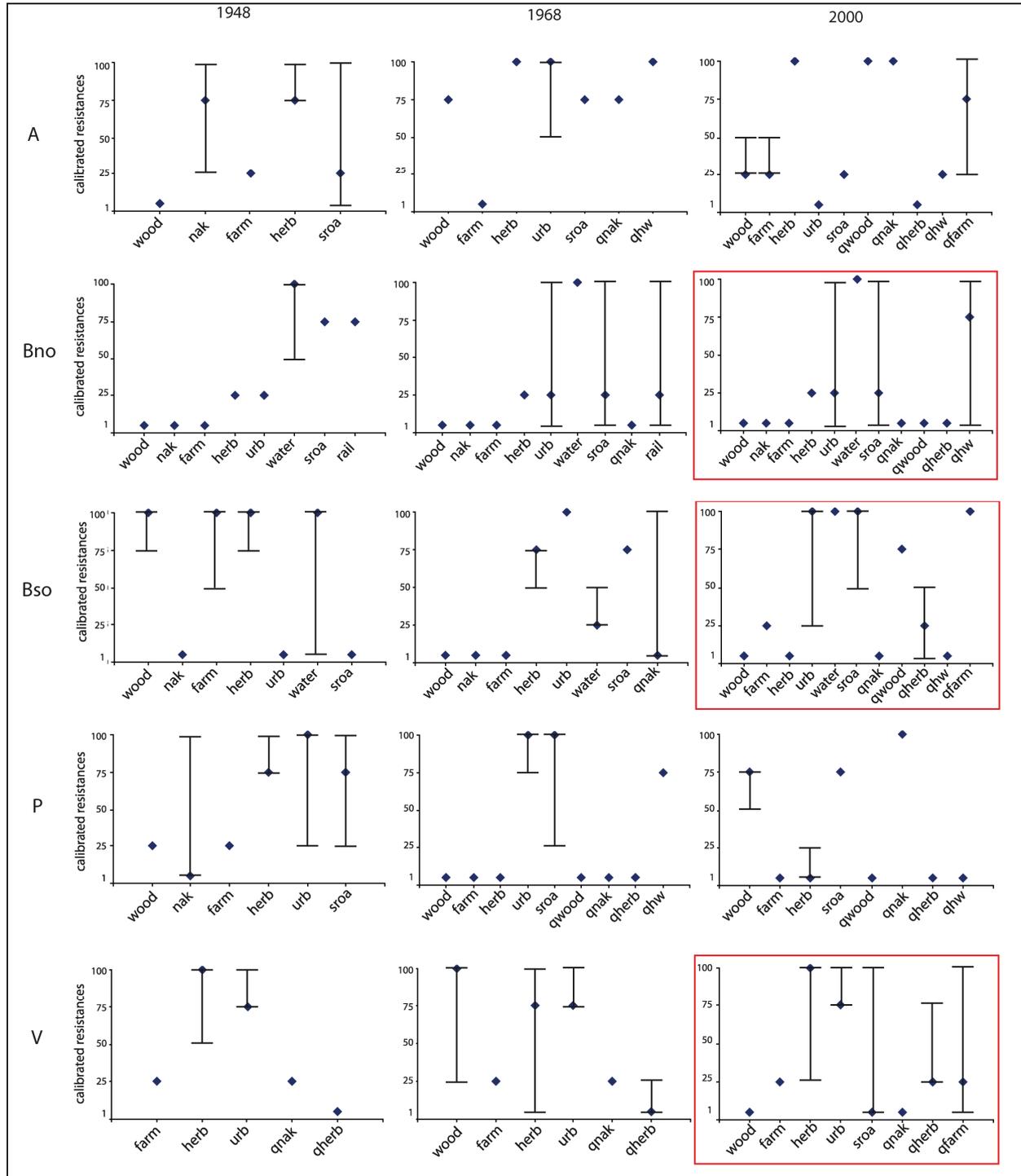


Fig. 3 Calibrated resistance and associated range of values for *E. calamita*. Optimal values are represented by a single point, associated with the bounds of the range of values that could not be discriminated in regards to the ΔR^2_{θ} criteria, i.e. $|R^2_{\theta p} - R^2_{\theta q}| < 0.01$. For each site, the most relevant time point is underlined in red.

GLOBAL GAIN OR LOSS OF LANDSCAPE CONNECTIVITY DRIVES THE TEMPORAL SCALE OF GENETIC CHANGES

Because landscape dynamics has a strong influence on our ability to estimate landscape effects (see above), it makes it clear that the direction itself of the dynamics, i.e. increase of fragmentation or connectivity at the site scale, drives the temporal scale of genetic changes. The observed effect of fragmentation on historical gene flow is indeed expected to be much weaker and to act at longer time scales than an increase in connectivity. Because landscape dynamics has a strong influence on our ability to estimate landscape effects (see above), it makes it clear that the direction itself of the dynamics, i.e. increase of fragmentation or connectivity at the site scale, drives the temporal scale of genetic changes.

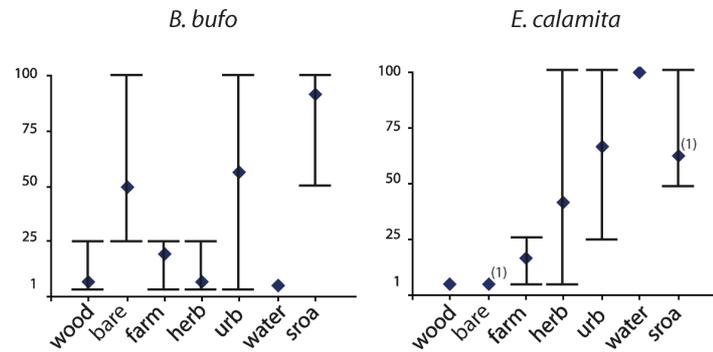


Fig. 4 Synthesis of the calibrated resistances for retained significant landscapes focusing on non-quarry land cover classes. Points represent average value of optimal resistances from the most relevant time points of each site, associated with the bounds of the range of values that could not be discriminated in regards to the ΔR^2_{θ} criteria, i.e. $|R^2_{\theta p} - R^2_{\theta q}| < 0.01$ for this retained time points.

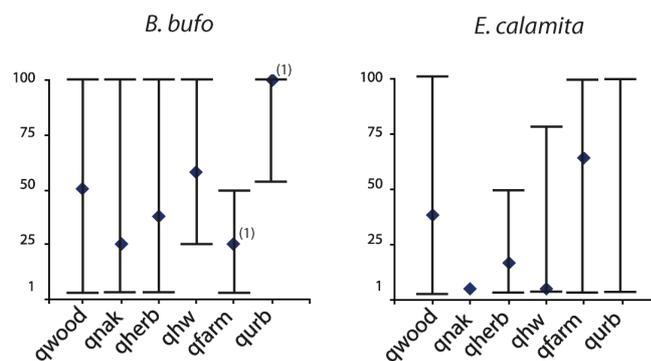


Fig. 5 Synthesis of the calibrated resistances for retained significant landscapes focusing on within-quarry land cover classes. Points represent average value of optimal resistances from the most relevant time points of each site, associated with the bounds of the range of values that could not be discriminated in regards to the ΔR^2_{θ} criteria, i.e. $|R^2_{\theta p} - R^2_{\theta q}| < 0.01$ for this retained time points.

The observed effect of fragmentation on historical gene flow is indeed expected to be much weaker and to act at longer time scales than an increase in connectivity. This because it may take dozens of generations to observed equilibrium between genetic drift and gene flow after a fragmentation event, whereas only one generation is sufficient to detect migrants (Crow & Aoki 1984; Varvio et al. 1986; Frankham et al. 2010). In other words, metrics that integrate cumulative genetic processes over time are expected to be best explained by contemporary landscapes when the landscape dynamics resulted in a global creation of connectivity whereas older time points would match better with an increase of fragmentation (e.g. Lindborg & Eriksson 2004).

In our study, for *E. calamita*, the contemporary landscape was shown to match the observed gene flow for all sites where landscape effect was significant. In fact, quarrying activity increased dramatically from the 1940s to the 2000s, and particularly during the last time interval when quarrying surfaces increased on average by 380 %. Additionally, quarrying appeared to positively influence dispersal for *E. calamita* ($r = 1$ for all significant sites). The landscape dynamics hence evolved towards a global creation of connectivity for *E. calamita*, and consequently makes the most recent landscape best match observed genetic structure. The case of *B. bufo* is less straightforward. The most contemporary landscape was explicative for Bno and P whereas Bso and L best matched the 1970s landscape. The site L is characterized by a wide openfield landscape where connectivity is maintained by low-density villages and associated rural meadows ($r = 1$ for urban and herbaceous areas for the 1968s). Traditional villages could have offered relatively suitable habitat for *B. bufo* since they offered diverse vegetated areas such as gardens, pastures and orchards. During the last time interval, both urban densification (+56%) and pasture tilling (-26% of herbaceous areas) may have caused jointly a depreciation of habitat quality. Similarly in site Bso, urban sprawl blowed up by + 88% during the same period. Since our analyses suggest that urban areas are highly resistant in that site ($r = \{75; 100\}$ in the 1970s), this pattern apparently resulted in a dramatic increase of fragmentation. Hence, for both sites recent fragmentation processes cause a time lag that make the 1968s time point best explain F_{ST} . For the site P between the 1968s and 2000s, 20 % of the surfaces of farmlands, shown as being medium resistant ($r = 25$), were converted by quarrying into new habitats that show lowest resistance, and breeding habitats (see below for specific discussion on quarrying activity). Similarly for the site Bno, 25 % of initial farmlands were converted into herbaceous areas, woodlands and quarrying that offer low resistance values and breeding habitats. This resulted in a global increase of connectivity, and consequently makes the contemporary landscape the most explicative.

Many authors have already raised awareness on the time scale issue in landscape genetics studies (e.g. Anderson et al., 2010; Langduth et al. 2010). Here, we show that the time lag is closely linked to the landscape dynamic pattern in respect to species-specific dispersal behaviour: a global increase of connectivity will make the most contemporary landscape best explain genetic differentiation whereas fragmentation will trigger a time lag corresponding to our last time interval (i.e. 1970s - 2000s). This time lag amounted around 40 years, which equals to 10 generations for *B. bufo* as generation time is around 3 years for this species (Halley et al. 1996). Because most of the time, the functional pattern of the landscape dynamic is *a priori* unknown, we advocate adopting a multi-temporal framework as a routine for studies that involve historical genetic processes such as genetic differentiation.

DISPERSAL BEHAVIOUR OF *B. BUFO* AND *E. EPILADEA* OUTSIDE QUARRIES

We performed our analyses in several study sites to assess the variability of resistance values in different landscape contexts (these different contexts are reflected by the differences in the proportions covered by each land cover class, see Supplementary materials S1). Indeed, the influence of land cover classes is expected to vary across landscapes (Rayfield et al. 2010).

For both species, we did find variability for the estimated resistance among the different study sites. However, there were clear signals of the existence of optimal land covers for dispersal of our species, for which resistance values did not vary among sites. For *B. bufo*, our calibration procedure showed wetlands ($\check{r}=1$, [1, 1]), woodlands ($\check{r}=7$, [1, 25]), and herbaceous areas ($\check{r}=7$, [1, 25]) favoured during dispersal. The case of wetlands appeared as the absolute optimal land cover for dispersal. This result confirms what was found in previous studies, which showed that wetlands enhance connectivity for this species (Piha et al. 2007), and are associated with high genetic diversities (Flavenot et al. submitted). Also, it was shown that juvenile dispersal is driven by humidity only (Janin et al. 2012). Because dispersal is mainly due to juveniles in this species (Reading et al. 1991; Schlupp and Podloucky 1994; Cooke and Oldham 1995) wetlands are hence expected to be strongly influential on gene flow at the landscape scale. Woodlands and herbaceous areas look similar in terms of preference, confirming previous studies (Flavenot et al. submitted; Janin et al., 2009; Janin et al. 2012). Bare ground ($\check{r}=50$ [25, 100]), urban areas ($\check{r}=56.5$, [1, 100]) and roads ($\check{r}=91.7$, [75, 100]) were assigned the highest resistance values, in accordance with the previously reported avoidance of poorly vegetated habitats (Denton & Beebee 1994; Romero & Real 1996) and mineralized areas (Flavenot et al. submitted; Hitchings & Beebee 1998) by this species. Urban areas showed a high variability across sites: resistances were high in all sites but L where urban areas assigned to the minimum resistance value. We think this is due to the relative suitability of traditional urban areas compared to the inhospitable agricultural matrix that characterizes this site. In the other sites, the landscape presents a largest part of vegetated habitats, making the urban areas less appealing than their surroundings. Because of this ambiguous role, the effect of urban areas often failed to be disentangle (e.g. Scribner et al. 2001; Van Buskirk 2005, Janin et al. 2009). Last, farmlands appeared as moderately resistant ($\check{r} = 19$, [1, 25]), with medium value assignments ($r = 25$) in all sites but Bno where the lowest resistance was found. A moderate resistance was also found for this class in other studies (Janin et al. 2009). The minimal resistance found for the site Bno could also be due to landscape context: there, farmlands show the lowest surface proportion (33 %), and hence could be more easily crossed than in openfield landscapes.

For *E. calamita*, bare ground and woodlands appeared as preferred land cover for dispersal in all sites ($\check{r} = 1, [1, 1]$). Bare ground is known as the original habitat for this species (Denton & Beebee, 1991), and was shown to be suitable for the movements of both juveniles and adults (Denton & Beebee 1994; Stevens et al. 2006). Although *E. calamita* is a pioneer species, experiments showed that toadlets move easily in wooded habitats (Stevens et al. 2006), which was confirmed by the minimal resistance assigned to this class ($\check{r} = 1, [1, 1]$) in all sites. Farmlands were shown to be moderately resistant ($\check{r} = 17, [1, 25]$), supporting the observations that fields are less permeable (Stevens et al. 2006) but may be attractive to adults (Miaud & Sanuy 2005). Herbaceous areas were assigned varying but relatively high resistance values ($\check{r} = 42, [1, 100]$), which was confirmed by experiments (Stevens et al. 2006). This could be due by depreciated perception abilities in vegetated habitats (Denton & Beebee, 1994). However, in the site Bso this class was assigned the minimal resistance value. Herbaceous areas include pastures and parks, but also poorly vegetated heathlands located on the sandy embankment of the Loire River. These heathlands could lower the global resistance of this class in this site. Roads and urban areas were assigned high resistance values (respectively $\check{r} = 62.5, [1, 100]$, and $\check{r} = 66.7, [50, 100]$). Although artificially mineralized soil is not an absolute barrier for *E. calamita* (Stevens et al. 2006), these classes are associated with built up areas and high mortality risks (Hels and Buchwald 2001) that are expected to reduce gene flow. Last, the highest resistance was assigned to wetlands ($\check{r} = 100, [100, 100]$), which makes sense according to the poor swimming abilities of *E. calamita* and its clear preference for open and temporary habitats rather than permanent and productive marshlands (Denton 1991).

EFFECT OF QUARRYING ON THE CONNECTIVITY OF *B. BUFO* AND *E. CALAMITA*

For both species, optimum and range of resistance values showed high variability among sites (Fig. 2 & 3), resulting in wide-ranged values at the panel level for most of the land classes (Fig. 5). We think this to result from a mix of (1) wrong calibration due to high rates of land conversion within quarries and (2) influence of the landscape context on the calibration of values. We discussed these points hereafter. However, clear patterns were detected: in all sites, restored wetlands appeared highly resistant for *B. bufo* ($\check{r} = 58.3, [25, 100]$) whereas bare soil highly supported connectivity for *E. calamita* ($\check{r} = 1, [1, 1]$).

Within-quarry landscape is highly dynamic due to materials extraction, land restoration, and successional processes. Dynamic landscapes were shown to disturb the calibration process (e.g. site A for *B. bufo* and *E. calamita*) because dramatic rates of land conversion are likely to make the F_{ST} unable to match such changing landscapes, an issue raised by many authors (Sork et al. 1999, Anderson et al. 2010). In our sites, only 5% of the present quarrying surfaces remained unchanged

from 1940s to 2000s, suggesting that only three time points are not sufficient to detect correctly the quarrying dynamic over time. Given this, we expect the effect of within-quarry land classes to be detected only in the case of (1) classes that are created contiguously and remained stable after creation or (2) classes that strongly support connectivity, thus gene flow and F_{ST} . The only classes that were similarly calibrated among sites were restored wetlands for *B. bufo*, highly resistant ($\check{r} = 58.3$, [25, 100]) and bare ground for *E. calamita* ($\check{r} = 1$, [1, 1]). The case of the restored wetlands for *B. bufo* matches our first assumption: 97% of the restored wetlands are composed by contiguous lakes that can show very large extent (e.g. up to 322 ha in one piece). Such large contiguous structures are expected to impede dispersal since *B. bufo* is a terrestrial disperser and a poor swimmer (Denton 1991). For *E. calamita*, the case of within-quarry bare ground matches our second assumption. Hence, this class is assigned to the lowest resistance for all sites ($\check{r} = 1$, [1, 1]). This result is coherent with the habitat preference of this pioneer species (see above). This also suggest that mortality risks associated with industrial activity are minor compared to gene flow actually occurring in such areas. In many sites where natural poorly vegetated areas are rare, quarrying is the only place that provides pioneer habitats. In 2000s for sites A, L, P and V, quarrying accounted for 73% of the total bare ground. This makes quarries play a true substitution area for *E. calamita*, and consequently concentrate the main part of gene flows. As a result, bare ground was successfully discriminated but only for sites where landscape changes are not too fast (i.e. as the sites A and P for *E. calamita*). Other land classes failed to be satisfactorily discriminated, suggesting that complex mitigation processes occurred between initial and newly created habitats, such as suspected for *B. bufo*.

The fact that landscape dynamics drives the ability to model landscape effect was previously discussed. Additionally, we think that variability is also due to the influence of landscape context. Hence, landscape dependency of resistance calibration was demonstrated for *B. bufo* in the case of urban areas. We assumed that same mechanism occurred for within-quarry landscape. For example for *B. bufo*, only the site L (1970s) showed within-quarry bare ground assigned to the minimal resistance value ($r = 1$). This result may be counter-intuitive since *B. bufo* is expected to avoid mineral environments (see above). However, given that (1) within-quarry bare ground may include vegetated habitats in the periphery and (2) quarries of the site L are located into an inhospitable openfield matrix, the effect of within-quarry bare ground may have appeared as relatively attractive. In this type of landscape context, quarrying hence accounted for a global gain of connectivity. However, in more complex landscape where initial global connectivity was higher, this attractiveness is expected to be less powerful. Moreover, quarrying may have exploited optimal land covers as in site A, where 37 % of the pastures were converted to quarries. As a result, the conjunction of both fragmentation

and creation of suitable landscape features in the same quarrying sites are responsible for an unclear pattern that failed to be caught.

To sum up, quarries were demonstrated to cause fragmentation for *B. bufo* in the case of large contiguous restored lakes and at the same time to actively support connectivity for *E. calamita* by creating artificial but suitable pioneer habitat. Moreover, the landscape diversification induced by quarrying may enhance global connectivity in very homogeneous context, as shown by the example of *B. bufo* in the site L. In these cases, quarries are likely to act as a substitution stepping-stone corridor. Similarly to *E. calamita*, numerous endangered species have been observed to seek refuge in substitution habitats provided by quarrying (e.g. plants: *Lythrum thymifolium*; invertebrates: *Oxygastra curtisii*; birds: *Burhinus oedicephalus*; reptiles: *Lacerta lepida* or amphibians: *Bombina variegata* (Voetzel et al. 2008)). These are mainly ruderal species occurring in early successional stages, and competitively weak species living in nutrient-poor habitats. Active quarries, by providing good-quality habitat for breeding and dispersal, may play a role in helping some species deal with global change. Hence, we advocate regional land planners to reconsider such industrial activity as inexpensive opportunities for specific conservation issues. Some conservation measures should be applied at the scale of the quarry to reduce the risks of mortality and maintain land cover suitable for dispersal. For example, undisturbed pioneer habitat could be specifically maintained within the margins of the quarry during exploitation and after rehabilitation (Prach & Pysek, 2001; Prach & Hobbs, 2008). For other species as *B. bufo*, habitat diversification is preferred than homogeneous elements as lakes. Nevertheless, habitat diversification is not always the appropriate way to enhance global connectivity. Consequently, quarrying should be rigorously mitigated when the landscape context makes this substitution role useless.

Acknowledgments

We are indebted to Bernard Frochot, Jean-Claude Lefeuvre, Stephanie Manel, Steve Palmer, Virginie Stevens and Justin Travis for helpful comments for this work. We are also grateful to Gilles Platner, Romain Lorillière, Vincent Pélissier, Maarten Van Strien and Rafael Wüest for valuable advices concerning analytical issues, to technical helps of Khaldia Akkari, Marielle Perroz for sample data collection, to Hugo Anest, Karen Cheurlot, Emeline Hudik, Basile Hurault, Jérémy Gauthier, Emilie Klam, Angeline Lesueur, Michael Pereira, Jennifer Thomas and Nicolas Zilbermann for field work, to Jeffrey Carbillet, Louise Keszler, Lise Lallemand, Jérôme Lin, Flore Loyer and Solène Sacré for GIS work, and to Florian Lesage, Josie Lambourdière and Jose Utge for genetic data collection. All molecular analyses were supported by the 'Service de Systématique Moléculaire' of the Muséum National d'Histoire Naturelle (UMS 2700; OMSI). We finally thank the French National Union of Aggregates and the participating quarrying companies which have led us to sample operating sites in the person of Yves Adam and Christian Beranger, and the engineering office ENCEM in the person of Olivier Verdier and Pascal Maurel for technical information about quarry ecology.

References

- Adriaenssens F, Chardon JP, De Blust G, Swinnen E, Villalba S, Gulinck H, Matthyssen E (2003) The application of 'leastresistance' modeling as a functional landscape model. *Landsc Urban Plan* 64:233–247
- Anderson CD, Epperson BK, Fortin MJ, Holderegger R, James PMA, Rosenberg MS, Scribner KT and S Spear (2010) Considering spatial and temporal scale in landscape-genetic studies of gene flow. *Molecular Ecology* 19, 3565–3575
- Banks B, Beebee TJC, Cooke AS (1994) Conservation of the Natterjack toad *Bufo calamita* in Britain over the period 1970–1990 in relation to site protection and other factors. *Biological Conservation*, 67, 111–118.
- Blair C, VHJ Arcos, FRM de la Cruz, and RW Murphy (2013) Landscape Genetics of Leaf-Toed Geckos in the Tropical Dry Forest of Northern Mexico. Published: February 25, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0057433
- Baguette M, Blanchet S, Legrand D, Stevens VM, Camille Turlure (2013) Individual dispersal, landscape connectivity and ecological networks. *Biol. Rev.* (2012), pp. 000–000.
- Bates D, Maechler M, Bolker B (2011) lme4: linear mixed effects models using S4 classes. R package version 0.999375- 999342.
- Benes J, Kepka P and Konvicka M (2003) Limestone Quarries as Refuges for European Xerophilous Butterflies. *Conservation Biology*, 17(4) : 1058–1069.
- Berhe AA (2007) The contribution of landmines to land degradation. *Land Degradation & Development* 18: 1–15. DOI: 10.1002/ldr.754
- Blanchong JA, Sorin AB and Scribner KT (2013) Genetic diversity and population structure in urban white-tailed deer. *Journal of wildlife management* 77 (4): 855-862
- Brandle M, Durka W and Altmöös M (2000). Diversity of surface dwelling beetle assemblages in open-cast lignite mines in Central Germany. *Biodiversity and Conservation* 9: 1297–1311.
- Brede EG, Rowe G, Trojanowski J and Beebee TJC (2001). Polymerase chain reaction primers for microsatellite loci in the common toad *Bufo bufo*. *Molecular Ecology Notes* 1, 308–310.
- Bzdon, G (2008) Gravel pits as habitat islands: floristic diversity and vegetation analysis. *Polish Journal of Ecology* 56:239-250.
- Clarke RT, Rothery P, Raybould AF (2002) Confidence limits for regression relationships between distance matrices: estimating gene flow with distance. *Journal of Agricultural Biological and Environmental Statistics*, 7, 361–372.
- Clements R, Sodhi NS, Schiltuizen M, et KLN Peter (2006) Limestone Karsts of Southeast Asia: Imperiled Arks of Biodiversity. *BioScience* 56 : 733-742
- Cooke AS and Oldham RS (1995) Establishment of populations of the common frog, *Rana temporaria*, and common toad, *Bufo bufo*, in a newly created reserve following translocation. *Herpetological Journal* 5: 173–180.
- Coulon A, Cosson JF, Angibault JM et al. (2004) Landscape connectivity influences gene flow in a roe deer population inhabiting a fragmented landscape: an individual-based approach. *Molecular Ecology*, 13, 2841–2850.
- Crooks KR, Sanjayan M (2006) Connectivity conservation: maintaining connections for nature. In: *Connectivity conservation* (eds. Crooks KR, Sanjayan M), pp. 1-20. Cambridge University Press, New York, USA.
- Crow JF, Aoki K (1984) Group selection for a polygenic behavioral trait – estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences*, 81, 6073–6077.
- Cushman SA, McKelvey KS, Hayden J, Schwartz MK (2006) Gene flow in complex landscapes: testing multiple hypotheses with causal modeling. *American Naturalist*, 168, 486-499.
- Denton JS (1991) The terrestrial ecology of the natterjack *Bufo calamita* and the common toad, *Bufo bufo*. Dissertation, University of Sussex
- Denton J, Beebee TJC (1991) Terrestrial ecology of the natterjack toad *Bufo calamita*. In: Korsos Z. and Kiss I. (ed). *Proceedings of the Sixth Ordinary General Meeting. S. E. H., Budapest*, pp 137–141
- Denton JS, Beebee T (1994) The basis of niche separation during terrestrial life between two species of toad *Bufo bufo* and *Bufo calamita*: competition or specialisation? *Oecol* 97:390–398
- Denton JS and Beebee TJC (1996) Double clutching by natterjack toads *Bufo calamita* at a site in southern England. *Amphibia-Reptilia*, 17, 159–167.
- Dixo M, Metzger JP, Morgante JS, and Zamudio KR (2009) Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. *Biological Conservation* 142:1560-1569.
- Edwards LJ, Muller KE, Wolfinger RD, Qaqish BF, Schabenberger O (2008) An R2 statistic for fixed effects in the linear mixed model. *Statistics in Medicine*, 27, 6137–6157.
- Eggert C and Miaud C (2004) Estimation de la réussite du déplacement de populations de Crapaud calamite et Pélodyte ponctué dans le cadre de l'aménagement du Port Autonome du Havre Port 2000 - Bilan au terme de la 3ème année. LBPA Université de Savoie, Le Bourget du Lac. 55p.

- Epps CW, Palsoll PJ, Wehausen JD, Roderick GK, Ramey II RR, McCullough DR (2005). Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecol Lett* 8 : 1029–1038
- Etherington TR, Holland EP (2013) Least-resistance path length versus accumulated-resistance as connectivity measures. *Landscape Ecol* (2013) 28:1223–1229
- Fahrig L (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34:487–515
- Flavenot T, Abdelkhrim J, Fellous S, Baguette M and A Coulon (submitted). Impact of quarrying on genetic diversity: an approach across landscapes and over time.
- Flavenot T, Prunier J, Joly P, Baguette M, Keszler L, Sacré S and A Coulon (In Prep.). Bypassing expert-opinion in landscape connectivity assessment with a new resistance calibration method
- Frankham R, Balou J and Briscoe D (2010) Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press, 618 pp.
- Glandt D (1986) Die saisonalen wanderungen der mitteleuropaischer amphibien. *Bonn. zool. Beitr.* 37. 3: 211–228.
- Goldberg CS and Waits LP (2010) Comparative landscape genetics of two pond-breeding amphibian species in a highly modified agricultural landscape. *Molecular Ecology* 19 :3650–3663.
- Goudet J (1995) FSTAT (Version 1.2): a computer program to calculate F -statistics. *Journal of Heredity* 86 :485–486
- Guillot, G. and F. Rousset, 2013. Dismantling the Mantel tests. *Methods in Ecology and Evolution* 4:336–344.
- Haapanen, A. 1974. Site tenacity of the common toad, *Bufo bufo* (L). *Ann. Zool. Fenn.* 11: 251–252.
- Hadfield JD (2010) MCMC methods for multi-response generalised linear mixed models: the MCMCglmm R package. *J Stat Soft.* 33:1–22.
- Halekoh U, Højsgaard S (2012) pbrktest: parametric bootstrap and Kenward Roger based methods for mixed model comparison. R package version 0.3-2 <http://CRAN.R-project.org/package=pbrktest>
- Halley JW, Oldham RS and Arntzen JW (1996) Predicting the persistence of amphibian populations with the help of a spatial model. – *J. Appl. Ecol.* 33: 455–470.
- Hanski I (1999) Metapopulation ecology. Oxford University Press, Oxford.
- Hartel T, Nemes S, Demeter L and Oellerer K (2008) Pond and landscape characteristics - which is more important for common toads (*Bufo bufo*)? A case study from central Romania. *Applied Herpetology* 5 (1) 1–12.
- Hels T, Buchwald E (2001) The effect of road kills on amphibian populations. *Biol Conserv* 99:331–340
- Hedrick PW (2005) A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 59, 1633–1638.
- Hitchings SP, Beebe JTC (1998) Loss of genetic diversity and fitness in Common Toad (*Bufo bufo*) populations isolated by inimical habitat. *J Evol Biol* 11:269–283
- Holzhauser SIJ, Ekschmitt K, Sander A, Dauber J and Wolters V (2006) Effect of historic landscape change on the genetic structure of the bush-cricket *Metrioptera roeseli*. *Landscape Ecology* 21:891–899.
- Janin A, Léna JP, Ray N, Delacourt D, Allemand P, Joly P (2009) Assessing landscape connectivity with calibrated cost-distance modelling: predicting common toad distribution in a context of spreading agriculture. *J App Ecol* 46:833–84
- Janin A, Léna JP, Deblois S et P Joly (2012) Use of Stress-Hormone Levels and Habitat Selection to Assess Functional Connectivity of a Landscape for an Amphibian. *Conservation Biology*, Volume 26, No. 5, 923–931
- Jost L (2008) GST and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17, 4015–4026.
- Karraker N and Gibbs JP (2009) Amphibian production in forested landscapes in relation to wetland hydroperiod: a case study of vernal pools and beaver ponds. *Biological Conservation*, 142, 2293–2302.
- Kovacs JC (2001) Le patrimoine écologique des zones humides issues de l'exploitation des carrières. Etude Ecosphère- Comité Nationale de la Charte Environnement de l'UNPG. 9 septembre 2001.
- Kool JT, Moilanen A and Treml EA (2013) Population connectivity: recent advances and new perspectives. *Landscape Ecol* 28:165–185
- Lameed GA and Ayodele AE (2010) Effect of quarrying activity on biodiversity: Case study of Ogbere site, Ogun State Nigeria. *African Journal of Environmental Science and Technology* 4 : 740–750
- Landguth EL, Cushman SA, Schwartz MK, et al. (2010) Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Molecular Ecology*, 19, 4179–4191.
- Legendre, P. and M.-J. Fortin, 2010. Comparison of the Mantel test and alternative approaches for detecting complex multivariate relationships in the spatial analysis of genetic data. *Molecular Ecology Resources* 10:831–844.
- Lindborg R, Eriksson O (2004) Historical landscape connectivity affects present plant species diversity. *Ecology*, 85, 1840–1845
- Martino L and Fritz M (2008) New insight into land cover and land use in Europe. *Eurostat* 33/2008.
- McRae BH (2006) Isolation by resistance. *Evolution*, 60, 1551– 1561.

- McRae BH, Beier P (2007) Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 104, 19885–19890.
- Miaud C and D Sanuy (2005) Terrestrial habitat preferences of the natterjack toad during and after the breeding season in a landscape of intensive agricultural activity. *Amphibia-Reptilia* 26 : 359-366
- Murphy HT and Lovett-Doust J (2004) Context and connectivity in plant metapopulations and landscape mosaics: does the matrix matter ? *Oikos* 105: 3-14
- Novak J and Konvicka M (2006) Proximity of valuable habitats affects succession patterns in abandoned quarries. *Ecol. Eng.* 26: 113-122.
- Pavlacky DC, Goldizen AW, Prentis PJ, Nicholls JA, Lowe AJ (2009) A landscape genetics approach for quantifying the relative influence of historic and contemporary habitat heterogeneity on the genetic connectivity of a rainforest bird. *Molecular Ecology*, 18, 2945–2960.
- Peakall R, Smouse P (2005) GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288–295.
- Piha H, Luoto M, Merila J (2007) Amphibian occurrence is influenced by current and historic landscape characteristics. *Ecol Appl* 17:2298–2309
- Pope SE, Fahrig L and Merriam NG (2000) Landscape complementation and metapopulation effects on leopard frog populations. *Ecology*, 81, 2498–2508.
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Rannap R, Lohmus A and Jakobson K (2007) Consequences of coastal meadow degradation: The case of the natterjack toad (*Bufo calamita*) in Estonia. *Wetlands* 27:390-398.
- Rayfield B, Fortin MJ and Fall A (2010) The sensitivity of least-cost habitat graphs to relative cost surface values. *Landscape Ecol* 25:519–532
- Raymond M and Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Hered.* 86:248–249.
- Reading CJ, Loman J, and Madsen T (1991) Breeding pond fidelity in the common toad, *Bufo bufo*. *Journal of the Zoological Society of London* 225:201–211
- Rogell B, Gyllenstrand N and Höglund J (2005) Six polymorphic microsatellite loci in the natterjack toad *Bufo calamita*. *Mol Ecol Notes* 5:639–640
- Romero J, Real R (1996) Macroenvironmental factors as ultimate determinants of distribution of common toad and natterjack toad in the south of Spain. *Ecogr* 19: 305–312
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F -statistics under isolation by distance. *Genetics* , 145 : 1219–1228.
- Rousset F (2008) Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour.* 8:103–106. Rozen S, Skaletsky HJ. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Krawetz S, Misener S, editors. *Bioinformatics methods and protocols: methods in molecular biology*. Totowa, NJ: Humana Press. p. 365–386.
- Rowe G, Beebee TJC and Burke T (1997) PCR primers for polymorphic microsatellite loci in the anuran amphibian *Bufo calamita*. *Mol Ecol* 6:401–402
- Rowe G, Beebee TJC and Burke T (2000) A microsatellite analysis of natterjack toad, *Bufo calamita*, metapopulations. *Oikos* 88: 641–651.
- Rowe G, Beebee TJC and Burke T (2001) A further four polymorphic microsatellite loci in the natterjack toad *Bufo calamita*. *Conserv Genet* 1:371–372
- Seymour M, Räsänen K, Holderegge R and BK Kristjansson (2013) Connectivity in a pond system influences migration and genetic structure in threespine stickleback. *Ecology and Evolution* 3(3): 492–502
- Santoul F (2000) L'avifaune aquatique des gravières de la plaine alluviale de la Garonne, thèse, Université de Toulouse III.
- Santoul F, Gaujard A, Angélibert S , Mastrobrillo S and Céréghino R (2009) Gravel pits support waterbird diversity in an urban landscape. *Hydrobiologia* 634:107–114.
- Schlupp I and Podloucky R (1994) Changes in breeding site fidelity: a combined study of conservation and behaviour in the common toad *Bufo bufo*. *Biological Conservation* 69: 285–291.
- Schulz F and Wiegand G (2000) Development options of natural habitats in a post-mining landscape. *Land Degradation & Development* 11: 99–110.
- Scribner KT, Arntzen JW, Cruddace N, Oldham RS and Burke T (2001). Environmental correlates of toad abundance and population genetic diversity. *Biological Conservation* 98 : 201-210.
- Selkoe KA, Watson JR, White C et al. (2010) Taking the chaos out of genetic patchiness: seascape genetics reveals ecological and oceanographic drivers of genetic patterns in three temperate reef species. *Molecular Ecology*, 19, 3708–3726.

- Shirk AJ, Wallin DO, Cushman SA, Rica CG, Warheit KI (2010) Inferring landscape effects on gene flow: a new model selection framework. *Mol Ecol* 19:3603–3619
- Sinsch U (1989). Migratory behaviour of the common toad (*Bufo bufo*) and the natterjack toad (*Bufo calamita*). *Amphibians and Roads* (ed. T.E.S. Langton), pp. 113–125. *ACOPolymer Products*, London.
- Sinsch U (1990) Migration and orientation in anuran amphibians. *Ethology Ecology and Evolution*, 2, 65–79
- Sinsch U (1992) Structure and dynamic of a Natterjack toad metapopulation (*Bufo calamita*). *Oecologia*, 90, 489–499
- Sinsch U, Oromi N, Miaud C, Denton J and Sanuy D (2012) Connectivity of local amphibian populations: modelling the migratory capacity of radiotracked natterjack toads. *Animal Conservation* 15(4): 388-396, DOI: 10.1111/j.1469-1795.2012.00527.x.
- Smith MA and Green DM (2005) Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* 28: 110-/128.
- Sork VL, Nason J, Campbell DR, Fernandez JF (1999) Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 14, 219–224.
- Stevens VM, Verkenne C, Vandewoestijne S, Wesselingh RA, Bague M (2006) Gene flow and functional connectivity in the natterjack toad. *Mol Ecol* 15:2333–2344
- Taylor PD et al. (1993) Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos* 68, 571–573
- Tropek R and Konvicka M (2008) Can quarries supplement rare xeric habitats in a piedmont region? Spiders of the Blanksi les Mts, Czech Republic. *Land Degrad. Develop.* 19: 104–114
- Van Buskirk J (2005) Local and landscape influence on amphibian occurrence and abundance. *Ecology*, 86(7), 2005, pp. 1936-1947
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Willis DPM and Shipley P (2004) Micro - Checker : software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4, 535–538.
- Van Strien M, Keller D, Holderegger R (2012) A new analytical approach to landscape genetic modeling: least-resistance transect analysis and linear mixed models. *Molecular Ecology*, 21, 4010–4023
- Varvio SL, Chakraborty R, Nei M (1986) Genetic-variation in subdivided populations and conservation genetics. *Heredity*, 57, 189–198.
- Voetzel D, Rohaut M and Arbion M (2008) Potentialités écologiques des carrières de roche massive. *Etude UNPG*, 304 pages.
- Wang J (2004) Sibship reconstruction from genetic data with typing errors. *Genetics*, 166, 1963–1979.
- Wang JJ, Savage WK, Shaffer B (2009) Landscape genetics and least-resistance path analysis reveal unexpected dispersal routes in the California tiger salamander (*Ambystoma californiense*). *Mol Ecol* 18:1365–1374
- Weir BS and Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358–1370.
- Whitlock MC (2011) G'ST and D do not replace FST. *Mol Ecol*. 20(6):1083-91
- Wilcox BA, and Murphy DD (1985) Conservation strategy – The effects of fragmentation on extinction. *American Naturalist* 125:879-887.
- Zeller KA, McGarigal K, Whiteley AR (2012). Estimating landscape resistance to movement: a review. *Landsc Ecol*;27(6):777 – 97
- Zellmer AJ and Knowles LL (2009) Disentangling the effects of historic vs. contemporary landscape structure on population genetic divergence. *Molecular Ecology* 18 :3593–3602.

Supplementary materials

S1: CHARACTERIZATION OF THE SITES

Table SI *Ss*: site name; *Sa*: site area (km²); *MI*: maximum length of the site (km); *Mw*: maximum width of the site (km); *Fo*, *Fa*, *He* and *Uz*: respectively, proportion of surfaces of forests, farmland (i.e. ploughed soils), herbaceous areas and urban areas in 2011; *Qu*: surfaces of quarries (operating and rehabilitated sites) in 2011 and corresponding proportion of site surface; *Years*: years used for land cover mapping.

<i>Ss</i>	<i>Sa</i> (km ²)	<i>MI</i> (km)	<i>Mw</i> (km)	<i>Fo</i> (%)	<i>Fa</i> (%)	<i>He</i> (%)	<i>Uz</i> (%)	<i>Qu</i> (%)	<i>Years</i>
A	42.3	8.7	5.7	25.3	19.3	18.3	8.9	25.5	1947, 1972 2008
Bno	150.1	26.4	8.6	30.6	33.4	9.4	7.3	3.3	1949, 1968, 2006
Bso ^b	156.8	20.2	7.8	19.0	42.9	6.2	12.4	6.2	1949, 1968, 2006
Bso ^c	130.0	24.5	6.2	6.6	56.1	6.8	14.3	6.1	1949, 1968, 2006
L	167.0	20.1	9.1	21.8	69.8	1.1	2.6	1.7	1949, 1969, 2003
P	283.9	20.7	18.8	24.6	26.3	5.1	9.0	10.2	1946, 1973, 2005
V	225.3	14.9	11.9	2.6	89.9	9.1	4.1	1.9	1949, 1974, 2007

^bStudy extent specific to *B. bufo*; ^cStudy extent shared by *E. calamita* and *B. bufo*. For *B. bufo*, site Bno included both Bso^b and Bso^c.

S2: PCR PROCEDURES AND MICROSATELLITE MARKERS

PCR procedures

For multiplexes, a standard PCR mix was prepared using Multiplex PCR Kit (Quiagen) with 1.25 μL pre-mix including selected markers (standard protocol unless noted in [Table S2](#): 5 μL of each 100 μM primer solution topped up with Tris-EDTA Buffer to 250 μL), 6.25 μL Type-it Multiplex PCR Master Mix, 1 μL DNA solution and the mix was topped up with distilled H₂O to 12.5 μL . For simplexes, a standard PCR mix was prepared using Simplex PCR Kit (Quiagen) with 0,3 μL 6.6 mM dNTP solution, 0.25 μL R-primer 10 μM , 0.1 μL F-primer 10 μM , 1 μL standard buffer, 1 μL 25mM MgCl₂, 0.2 μL Taq DNA polymerase (5u/ μl), 1 μL DNA solution and the mix was topped up with distilled H₂O to 10 μL . All PCRs were conducted in a thermocycler Mastercycler egradient (Eppendorf). Different PCR procedures had to be used for different microsatellite loci (see Table S2):

PCR procedure A: multiplex with initial denaturing (95 °C) 15 min, 35 cycles (94 °C 30 sec denature, annealing temp 60 sec, 72 °C extension 60 sec), and 60 °C 30 min final extension.

PCR procedure B: multiplex touch-down with initial denaturing (95 °C) 3 min, 2 cycles each decreasing 2 degrees (94 °C 20 sec denature, annealing temp 20 sec, 72 °C extension 30 sec) and 15 cycles for fifth and last step 94 °C 20 sec denature, annealing temp 20 sec, 72 °C extension 30 sec).

PCR procedure B': simplex touch-down following same procedure as for B.

PCR procedure C: simplex with initial denaturing (95 °C) 5 min, 5 cycles (95 °C 60 sec denature, annealing temp 30 sec, 72 °C extension 60 sec), 25 cycles (95 °C 60 sec denature, annealing temp 30 sec, 72 °C extension 60 sec) and 72 °C 30 min final extension.

PCR procedure D: simplex with initial denaturing (95 °C) 3 min, 7 cycles (94 °C 45 sec denature, annealing temp I 45 sec, 72 °C extension 20 sec), 30 cycles (94 °C 45 sec denature, annealing temp II 45 sec, 72 °C extension 20 sec) and 72 °C 15 min final extension.

Microsatellite markers

Table S2 Microsatellite markers for *B. bufo* and *E. calamita* used in this study and their associated PCR procedures. PCR procedure (Proc.; letters refer to the procedure names in the explanations provided above), annealing temperature in °C (Temp.), fluorescent Dye Label (Fluo.), multiplex primer concentration in μL ([primer]), type of PCR mix and genotyping panel code for the microsatellite markers. Total number of alleles (A), allele size range in bp (Range), expected heterozygosity (*He*) and fixation index (*F*) are presented for finally retained markers.

Marker	Proc	Temp.	Fluo.	[primer]	PCR Mix	Panel	A	Range	<i>He</i>	<i>F</i>
<i>B. bufo</i>										
<i>Bbufj</i> μ 11 ^a	A	57	6-Fam	5	Standard	A2	28	88 - 140	0.877	0.076
<i>Bbufj</i> μ 13 ^a	B	66	6-Fam	-	0,6 μL MgCL2	B2	27	142 - 211	0.893	0.053
<i>Bbufj</i> μ 14 ^a	B	62	Pet	4	Standard	B2	10	191 - 209	0.664	0.051
<i>Bbufj</i> μ 15 ^a	A	57	Vic	5	Standard	A2	-	-	-	-
<i>Bbufj</i> μ 24 ^a	A	58	6-Fam	4	Standard	C2	15	125 - 155	0.757	0.049
<i>Bbufj</i> μ 39 ^a	A	57	6-Fam	5	Standard	A2	12	180 - 200	0.614	0.099
<i>Bbufj</i> μ 47 ^a	A	58	Vic	3	Standard	C2	31	132 - 228	0.756	0.067
<i>Bbufj</i> μ 49 ^a	B	62	Ned	7	Standard	B2	35	146 - 232	0.943	0.082
<i>Bbufj</i> μ 54 ^a	C	60	Pet	-	Standard	A2	16	162 - 192	0.823	0.089
<i>Bbufj</i> μ 62 ^a	A	58	Ned	7	Standard	C2	21	164 - 216	0.805	0.081
<i>Bbufj</i> μ 65 ^a	B	62	Vic	5	Standard	B2	40	141 - 231	0.950	0.126
<i>E. calamita</i>										
<i>Bcal</i> μ 1 ^b	A	58	6-Fam	5	Standard	A3	11	133 - 163	0.873	0.077
<i>Bcal</i> μ 2 ^b	A	58	Ned	4	Standard	B4	6	193 - 201	0.493	0.199
<i>Bcal</i> μ 3 ^b	C	55	6-Fam	-	0,6 μL MgCL2	B4	17	117 - 143	0.850	0.088
<i>Bcal</i> μ 5 ^b	A	58	6-Fam	5	Standard	A3	11	232 - 252	0.746	0.042
<i>Bcal</i> μ 6 ^b	D	44, 46	Pet	-	Standard	C5	7	162 - 180	0.708	0.090
<i>Bcal</i> μ 7 ^b	A	63	Ned	5	Standard	C5	7	146 - 168	0.365	0.106
<i>Bcal</i> μ 8 ^b	A	58	Pet	4	Standard	B4	18	164 - 200	0.708	0.090
<i>Bcal</i> μ 10 ^c	A	58	Vic	5	Standard	A3	9	147 - 165	0.742	0.111
<i>Bcal</i> μ 12 ^c	A	58	6-Fam	7	Standard	B4	-	-	-	-
Buca1 ^d	C	58	Ned	-	Standard	A3	5	226 - 234	0.713	0.163
Buca3 ^d	C	66	Vic	-	Standard	B4	-	-	-	-
Buca5 ^d	A	58	Pet	5	Standard	A3	6	131 - 143	0.399	0.122
Buca6 ^d	A	63	Vic	5	Standard	C5	9	227 - 251	0.686	0.125

^a Brede et al., 2001; ^b Rowe et al., 1997; ^c Rowe et al., 2000; ^d Rogell et al., 2005

S3: SAMPLE SIZES AND STANDARD POPULATION GENETIC ANALYSES

Table S3 Sample sizes and standard population genetic analyses for each sampled pond, for *B. bufo* and *B. calamita*. Pond: pond name; n: number of individuals genotyped; Ar: allelic richness; He: expected heterozygotie; F_{IS} : inbreeding coefficient and associated significance of Hardy-Weinberg deviation.

<i>B. bufo</i>						<i>B. calamita</i>						
Site	Pond	n	Ar	He	F_{IS}	Site	Pond	n	Ar	He	F_{IS}	
A	A1	22	72.0	0.728	0.012 (0.7665)	A	A4c	32	39.7	0.577	-0.072 (0.0157)	
	A3	20	78.0	0.764	0.096 (0.0025)		A8	12	38.2	0.557	0.063 (0.7998)	
	A4b	14	83.1	0.767	0.086 (0.1116)		A12	14	37.5	0.528	0.041 (0.8912)	
	A8	29	74.4	0.757	-0.016 (0.3887)		A21	23	38.1	0.566	-0.026 (0.3070)	
	A19	25	68.3	0.725	0.038 (0.3221)		A41	15	35.3	0.535	-0.083 (0.0378)	
	A34	19	69.5	0.711	0.072 (0.1349)		A50	23	40.5	0.579	-0.048 (0.2179)	
Bno	B4	26	83.6	0.785	0.039 (0.0158)	A51	41	38.1	0.552	-0.012 (0.1557)		
	B6	19	81.7	0.765	0.098 (<0.001)	A58	25	36.2	0.532	0.036 (0.9380)		
	B6b	28	80.9	0.774	0.036 (0.0047)	Bno	B22	25	42.1	0.640	0.011 (0.8917)	
	B8	12	85.2	0.733	0.098 (0.0029)		B23	28	43.4	0.628	-0.001 (0.8559)	
	B24	16	80.1	0.776	0.054 (0.0290)		B24	18	40.8	0.595	0.107 (0.9029)	
	B25	24	85.3	0.789	0.126 (<0.001)		B74	16	38.2	0.571	-0.064 (0.1521)	
Bso	B8b	20	83.5	0.767	0.054 (0.3201)		B81	25	41.2	0.606	0.022 (0.9902)	
	B9	19	86.1	0.782	0.053 (0.0153)		Bso	B86	9	38.0	0.506	-0.002 (0.3682)
	B10	18	80.9	0.778	0.036 (0.2106)	S1		19	44.9	0.642	0.036 (0.8707)	
	B26	19	84.5	0.790	0.019 (0.1050)	S2		22	43.7	0.585	-0.001 (0.4290)	
	B30	26	84.4	0.784	0.040 (0.0080)	S12		22	42.9	0.610	-0.060 (0.3587)	
	S5	19	81.9	0.768	-0.017 (0.1896)	S13		29	42.9	0.613	0.003 (0.6250)	
	SC6	16	80.9	0.722	0.077 (0.7146)	P		P1c	17	36.3	0.561	0.048 (0.9247)
	S8	20	74.0	0.758	0.038 (0.0226)			P12	19	32.3	0.493	-0.001 (0.5336)
L	L1	21	80.7	0.725	-0.053 (0.9382)			P21	10	33.5	0.485	-0.110 (0.0210)
	L2	8	86.8	0.678	-0.040 (0.7209)		P22	21	31.8	0.503	-0.025 (0.1200)	
	L2c	24	83.4	0.746	-0.057 (0.9324)		P65	8	29.6	0.442	0.038 (0.5845)	
	L3	29	87.3	0.771	-0.021 (0.0984)		P91	6	35.0	0.527	-0.061 (0.3067)	
	L5	5	72.2	0.704	0.032 (0.3367)		P92	10	39.9	0.593	0.086 (0.9689)	
	L7	11	80.6	0.719	0.075 (0.0364)		P97	13	44.0	0.633	0.004 (0.7291)	
	L9	14	75.7	0.750	0.018 (0.4596)	V	V6	20	42.2	0.622	0.002 (0.5001)	
	L13	21	71.8	0.738	0.037 (0.1428)		V11	15	45.4	0.623	0.013 (0.5372)	
L21	35	84.4	0.766	-0.022 (0.1770)	V13		23	41.1	0.590	-0.023 (0.3953)		
P	P1	26	77.7	0.737	0.013 (0.1562)		V17	19	44.2	0.609	-0.040 (0.2736)	
	P2	19	71.4	0.724	0.060 (0.0450)		V18	17	37.5	0.554	-0.013 (0.3982)	
	P2c	10	78.9	0.731	-0.112 (0.9793)		V20	10	39.1	0.572	-0.062 (0.0598)	
	P3	24	80.2	0.748	-0.021 (0.9821)		V23	12	38.3	0.529	-0.001 (0.3215)	
	P4	29	76.6	0.736	0.006 (0.1284)		V24	8	35.3	0.550	0.022 (0.5703)	
	P5	25	81.2	0.768	-0.011 (0.4662)	V80	14	44.3	0.636	0.026 (0.4815)		
	P10	21	66.8	0.736	0.086 (0.0078)							
	P11	18	65.6	0.722	0.052 (0.1056)							
	P12	22	69.6	0.740	0.065 (0.0448)							
	P93	25	75.9	0.760	0.016 (0.0295)							

Partie V

Synthèse

I. Avant propos

En posant la question de l'évaluation de l'effet des carrières sur la connectivité du paysage, ce projet de recherche nous a conduit à étudier 3 aspects de la connectivité : (1) la connaissance fondamentale des processus de dispersion, (2) les méthodes d'évaluation de la connectivité et (3) la conservation de la connectivité sur le terrain à travers l'exemple de la gestion et la planification des sites de carrières. Ce présent chapitre présente les apports et limites de nos travaux sur l'ensemble de ces aspects pour ensuite tenter de dégager de nouvelles perspectives de recherche et de conservation.

II. Apports, limites et perspectives méthodologiques de la thèse

A. Questions d'échelle temporelle

1. Le choix de la bonne échelle de temps

Le choix de la bonne échelle de temps peut être considéré à bien des égards comme le « poil à gratter » de la génétique du paysage (Zellmer & Knowles, 2009). En effet, la structure génétique observée à un instant t est à la fois liée aux caractéristiques du paysage synchronique, mais également aux dynamiques paysagères anciennes (Lindborg & Eriksson, 2004 ; Holzauer *et al.*, 2006). Ceci est dû à l'inertie des processus génétiques faisant suite à une modification du paysage, l'équilibre entre les processus de dérive génétique et de flux de gènes pouvant prendre plusieurs dizaines voire centaines de générations après un phénomène de fragmentation (Crow & Aoki, 1984; Varvio *et al.*, 1986). Or, la majorité des métriques génétiques utilisées en génétique du paysage, telles que les indices de différenciation génétique ou de richesse allélique, intègrent les effets de processus accumulés sur plusieurs générations. Il est donc difficile de connaître *a priori* le pas de temps séparant la modification du paysage et la structure génétique réellement observée (Langduth *et al.*, 2010).

Afin d'identifier *a posteriori* ce pas de temps, nos travaux ont systématiquement intégré une approche diachronique (Parties II, III et IV). Nos résultats ont tout d'abord montré qu'un décalage temporel pouvait apparaître entre structure paysagère et génétique en fonction de l'espèce ou du contexte paysager : (1) à l'appui des analyses de richesses alléliques (Partie II), le paysage ancien (i.e. années 1940 et 1970) explique la richesse allélique de *B. bufo* alors que les paysages contemporains (i.e. années 2000) sont plus pertinents pour *B. calamita*; (2) à l'appui des analyses de différenciation génétique (Parties III et IV), les paysages des années 1970 ou 2000 expliquent la différenciation génétique de *B. bufo* en fonction des sites d'étude alors que seuls les paysages contemporains sont pertinents pour *B. calamita* (le décalage temporel observé pour *B. bufo* entre les mesures de différenciations génétique et de diversité génétique est discuté dans le chapitre II.A.5). Une analyse diachronique se révèle donc indispensable pour ne pas conclure à de fausses corrélations entre

structure du paysage et génétique. Cette précaution se justifie particulièrement dans les cas où le paysage subit d'importantes transformations, mais également lorsque les dynamiques paysagères semblent minimales ou ponctuelles. En effet, dans l'exemple de *B. calamita* sur l'aire d'étude V (chapitres III et IV), les estimations de connectivité peuvent varier d'une année à l'autre alors que moins de 10% du paysage a véritablement été modifié (Partie III). Il est ainsi regrettable que trop d'études étudient l'effet du paysage sur une seule année, assimilant une faible dynamique paysagère à dynamique stable.

Au regard de nos résultats, il apparaît que le pas de temps approprié pourrait varier en fonction de l'espèce (Parties II et IV), mais également de l'aire d'étude (Partie IV). Cette observation nous semble principalement liée au fait que la réponse temporelle d'un élément du paysage sur les processus génétiques varie en fonction de son rôle en termes de connectivité : l'apparition d'un élément fragmentant aura un effet à long-terme sur la génétique via les processus de dérive alors que la création d'un habitat aura un effet instantané via l'apport de nouveaux flux de gènes (Fahrig, 2003 ; Rayfield *et al.*, 2010). Nos analyses de diversité et de différenciation génétique illustrent ce phénomène. Lorsque la dynamique paysagère évolue vers une fragmentation, notamment dans le cas du *B. bufo* sur la majorité des sites, le paysage ancien est le plus explicatif. Au contraire, lorsque le paysage évolue vers une création globale de connectivité, i.e. comme c'est le cas pour *B. calamita* de par l'expansion continue des carrières, et pour *B. bufo* au sein de paysages homogènes et dégradés, c'est le paysage contemporain qui est le plus explicatif. Puisqu'il est souvent difficile de connaître *a priori* la direction de la dynamique d'un paysage en termes de connectivité, nous conseillons d'adopter le cadre diachronique comme une routine pour toute analyse se fondant sur des métriques intégrant des processus historiques (e.g. diversité génétique, différenciation génétique).

2. La notion de paysage temporel

Ce constat, trivial d'apparence, nous paraît constituer un écueil méthodologique majeur pour les études de génétique du paysage. Si la prise en compte de différents intervalles de temps peut sembler une réponse adaptée à ce décalage temporel, nous pensons que cette précaution ne sera pas nécessairement suffisante. En effet, quelque soit l'échelle de temps utilisée, le paysage étudié représentera toujours la photographie à un temps donné de différents éléments jouant le rôle de barrière ou d'habitat, dont l'effet sur la génétique se joue sur des échelles de temps distinctes (Crow & Aoki 1984; Varvio *et al.* 1986). Puisque les dynamiques paysagères et génétiques évoluent de façon désynchronisée, aucun paysage réel ne reflètera véritablement les processus génétiques.

Nous illustrons ce principe par la figure 6. Considérons un paysage binaire composé d'habitat favorable à la dispersion (Fig. 6, tracés noirs) et de non-habitat, barrière totale à la dispersion (Fig. 6 en blanc). 4 populations sont connectées 2 à 2 (i.e. paires 1-3 et 2-4). Nous nous concentrons sur l'évolution de la distribution d'un locus à 4 allèles représentés par les couleurs bleu, jaune, vert et rouge. A $t = T_0$; les populations sont supposées à l'équilibre deux à deux. A $T = T_0 + 1$, le paysage subit une modification aboutissant à la connexion des populations 1 et 2 alors que les populations 2 et 4 deviennent déconnectées. En considérant que $T_0 + 1$ est relativement peu éloigné de T_0 , nous pouvons considérer que i) les populations 1 et 2 ont pu échanger des allèles alors que la population 4 reste relativement semblable à la population 3 du fait de l'inertie des processus de dérive génétique.

Evolution du paysage

Comparaison du paysage et de la différenciation génétique

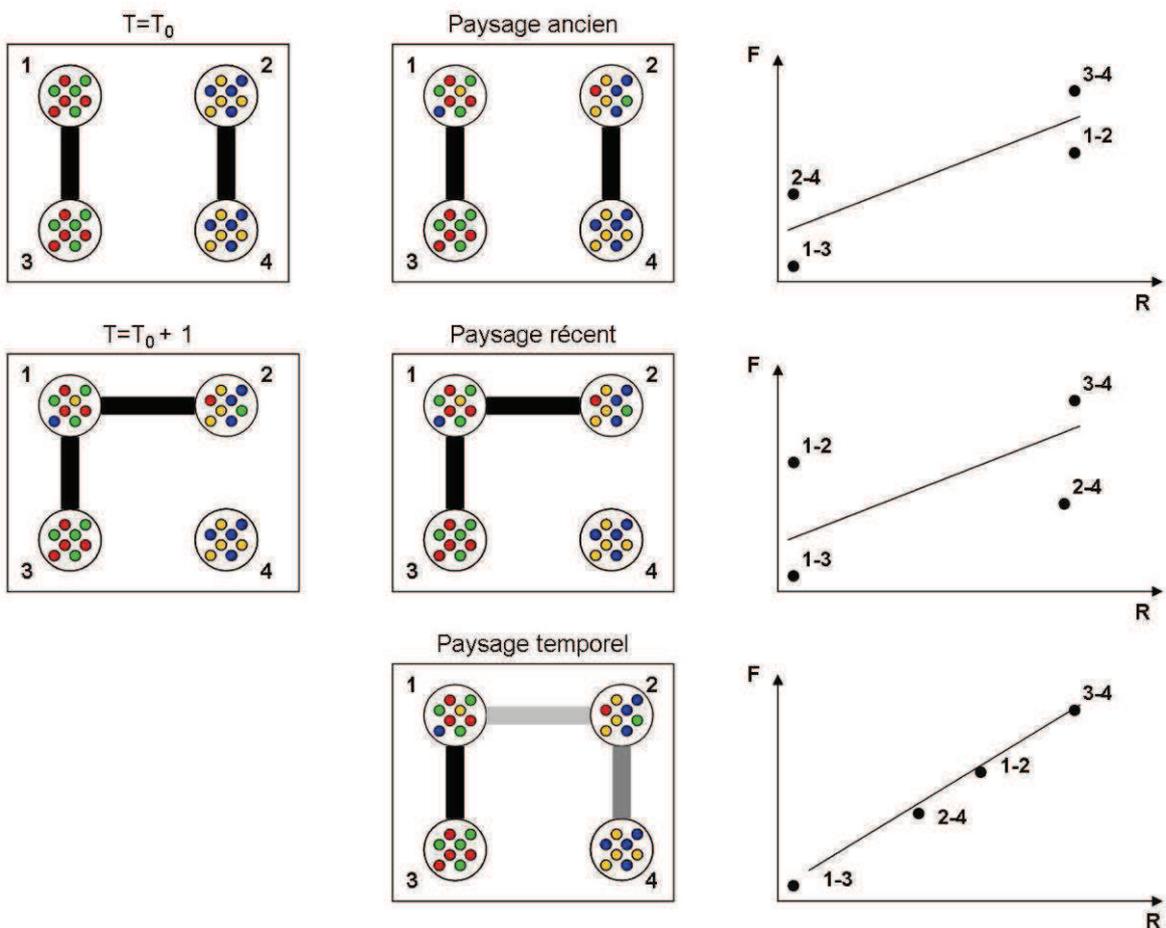


Figure 6 : Vision schématique de l'évolution désynchronisée des dynamiques paysagères et génétiques. Entre T_0 et T_1 , des connexions entre population ont été créées (entre 1 et 2) ou éliminées (entre 2 et 4). Des allèles ont pu être échangés entre 1 et 2 alors que les fréquences alléliques restent encore semblables entre 2 et 4. Les résistances aux déplacements (R) estimées à partir des paysages ancien ou récent ne permettent pas d'expliquer les différenciations génétiques observées (F). Le paysage temporel intégrant les connexions créées et disparues, pondérées par un indice temporel, permet de matérialiser le paysage expliquant véritablement les différenciations génétiques observées. Dans cet exemple, l'intervalle de temps T_1 est considéré comme relativement court : un indice temporel pondèrera faiblement la fonctionnalité des deux connexions. En conséquence, la connexion entre 1 et 2 sera considérée comme encore faiblement fonctionnelle (tracé gris clair) alors que l'ancienne connexion entre 2 et 4 n'aura perdu que peu de fonctionnalité (tracé gris foncé).

La comparaison du paysage ancien ou récent avec la différenciation génétique contemporaine ne reflètera jamais les véritables dynamiques génétiques en cours. Le principal biais vient du fait que le paysage ancien ne prend pas en compte la création récente de connectivité alors que le paysage récent ne prend pas en compte l'existence d'une connectivité ancienne, encore génétiquement structurante. La structure génétique est en fait étroitement corrélée avec un paysage artificiel qui intégrerait à la fois les connexions anciennes et récentes, et dont la fonctionnalité serait pondérée par un indice temporel relatif au temps écoulé depuis la disparition ou la création de ces connexions. Nous définissons ce paysage artificiel par le terme « paysage temporel ».

Les indices seraient paramétrés en fonction de paramètres biologiques (e.g. temps de génération), génétiques (e.g. taux de mutation), du temps écoulé à partir de la création ou de la disparition de la connectivité en place et de la nature de la dynamique paysagère (i.e. fragmentation ou création de connectivité). Ainsi, la conductance $C_{(t)}$ (i.e. inverse de la résistance) d'un nouvel élément du paysage à l'instant t pourrait être estimée par l'addition de la conductance du nouvel élément et de l'élément ancien pondéré par l'indice temporel. En considérant C_m la conductance de la matrice défavorable à la dispersion, C_{co} la conductance du corridor favorable à la dispersion, I_f et I_{co} les indices temporels liés respectivement à un événement de fragmentation ou de création de connectivité variant entre 0 et 1 au cours du temps, le calcul de la conductance globale à l'instant t s'obtient par (Fig. 7) :

(1) dans le cas d'une fragmentation : $C_{(t)} = C_m + I_{f(t)} C_{co}$

(2) dans le cas d'une création de connectivité : $C_{(t)} = C_{co} + I_{co(t)} C_m$

Les indices temporels peuvent être estimés par simulation à l'aide de CDPOP (Langduth & Cushman, 2010) puis validés sur des jeux de données réels. CDPOP est un logiciel de simulation de flux de gènes échangés au sein de paysages complexes, et permet de prédire différentes métriques génétiques (différenciation, taux de migration) en fonction de différents scénarios paysagers et des caractéristiques biologiques de l'espèce (e.g. taille de population, temps de génération...). Ainsi, il est possible de créer différents scénarios d'évolution du paysage et d'en déduire la valeur des indices temporels en fonction de la conductance calculée par CIRCUITSCAPE et des fréquences alléliques simulées par CDPOP.

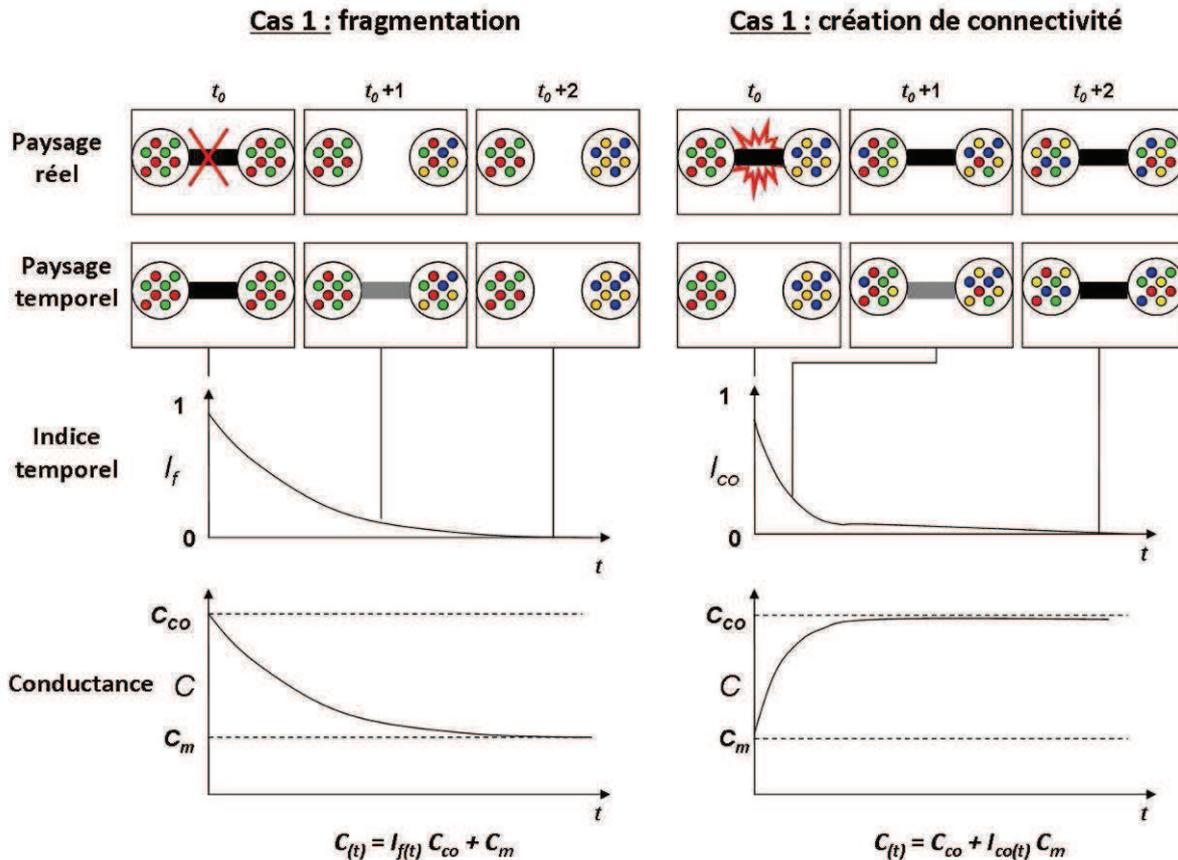


Figure 7 : Illustration du calcul de la conductance du paysage séparant deux populations à un temps t au sein d'un paysage binaire composé d'une matrice imperméable aux déplacements (figuré blanc) de conductance C_m et de corridors favorables aux déplacements (figurés noirs) de conductance C_{co} . La conductance globale à un instant t $C(t)$ s'obtiendrait par la somme des conductances C_m et C_c pondérées par les indices temporels. Les indices temporels sont spécifiques à la nature de la modification du paysage, i.e. création de connectivité ou fragmentation.

3. La question des paysages hyper-dynamiques

Si nous pensons que le recours aux paysages temporels peut affiner l'évaluation de la connectivité, la question du choix des intervalles de temps reste entière au regard de paysages subissant des modifications à très court terme. Nous définissons ces paysages par la notion de « paysages hyper-dynamiques ». Les carrières constituent un bon exemple de paysage hyper-dynamique (Fig. 8): sur nos aires d'études, certains sites de carrières de roches meubles ont un rythme de conversion d'occupation du sol de l'ordre de 10 ha/an, 4 ha pouvant être décapés en une dizaine de jours. Cette hyper-variabilité temporelle rend difficile l'évaluation de l'effet des éléments intra-sites sur les flux de gènes estimés sur plusieurs générations. Dans la partie II, nous avons été incapables de détecter l'effet des éléments intra-site sur la richesse allélique ; seul l'effet de la carrière dans sa globalité a pu être détecté pour *B. calamita*. Dans la partie IV, les différenciations génétiques n'ont pas permis de calibrer l'ensemble des milieux intra-carrières pour les deux espèces. Par conséquent, lorsque les carrières représentent une large part du site d'étude, c'est l'ensemble du paysage qui échappe aux

analyses de calibration (e.g. site A pour lequel les carrières représentent 26% de la surface). Ainsi, le cas des paysages hyper-dynamiques ne saurait être résolu uniquement par une approche de paysage temporel car le rythme élevé de création et de consommation des éléments du paysage rendrait l'estimation des indices temporels infiniment complexe.

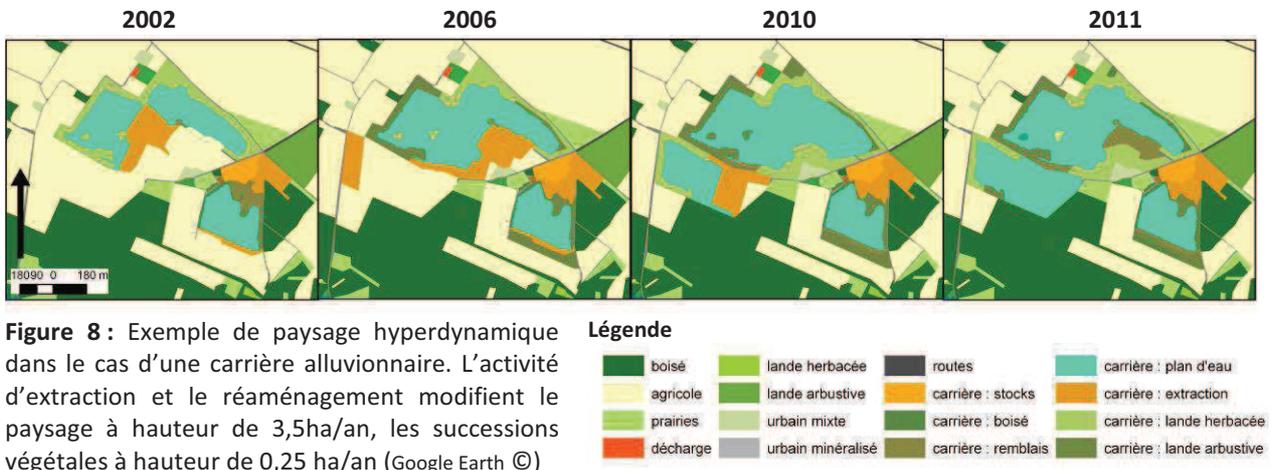


Figure 8 : Exemple de paysage hyperdynamique dans le cas d'une carrière alluvionnaire. L'activité d'extraction et le réaménagement modifient le paysage à hauteur de 3,5ha/an, les successions végétales à hauteur de 0,25 ha/an (Google Earth ©)

Pour résoudre la question des paysages hyper-dynamiques, nous proposons de penser le paysage en termes de flux d'occupation du sol (i.e. création/consommation) plutôt qu'en termes de surface à un temps donné. En effet, les flux d'occupation du sol constituent une quantification non biaisée des dynamiques paysagères à partir du moment où celles-ci sont unidirectionnelles (e.g. urbanisation, exploitation de carrières...). Les données de flux peuvent être intégrées dans des analyses de l'effet de la composition du paysage, en utilisant le cadre méthodologique développé par le chapitre II mais en substituant aux surfaces les estimations de flux d'occupation entre le paysage le plus ancien et le plus récent, éventuellement pondéré par le nombre de générations. Néanmoins, l'analyse de flux semble difficilement applicable aux analyses reposant sur les données de structure du paysage, telles que les analyses spatialisées de déplacement.

4. Dépasser le problème de l'échelle de temps à l'aide des taux de migration récents

Il apparaît que les analyses paysagères intégrant différents intervalles de temps sont coûteuses en temps (i.e. digitalisation des paysages) et en moyens (i.e. appropriation des cartes historiques). De plus, les données historiques ne sont pas toujours disponibles. Enfin, le cas des paysages hyper-dynamiques ne saurait être résolu par une approche historique. Afin de s'affranchir de l'approche historique, il est possible d'estimer les flux de gène récents, i.e. réalisés sur la ou les dernières générations. Dans ce cadre, le paysage contemporain est le paysage approprié pour évaluer la connectivité. Une première démarche vise à réaliser un échantillonnage répété dans le temps, et permet ainsi d'estimer les flux génétiques réalisés entre ces deux pas de temps (Broque *et al.*, 2009). Néanmoins, l'application de cette démarche peut être limitée de par le temps d'échantillonnage

accru. D'autres approches proposent l'estimation de taux de migration récents à partir d'un échantillonnage unique dans le temps (MIGRATE, Beerli & Felsenstein, 1999, 2001 ; BAYESASS, Wilson & Rannala, 2003 ; BIMR, Faubet & Gaggiotti, 2008). Ces trois approches ont été testées sur notre jeu de données, mais aucune n'a pu aboutir. Nous tentons ici d'en développer les raisons.

BAYESASS (Wilson & Rannala, 2003) est un modèle d'inférence bayésienne estimant des taux de migration récents et asymétriques entre populations. Ce modèle peut traiter des populations qui ne sont pas à l'équilibre de Hardy-Weinberg. BAYESASS impose une contrainte à l'estimation des taux de migration : au sein d'une population, la proportion de migrants ne peut excéder 1/3 alors que la proportion de non-migrants est restreinte à l'intervalle [2/3;1]. Cette contrainte sous-entend que BAYESASS ne peut être appliqué qu'à des systèmes de populations dans lesquels les événements de migration sont peu fréquents. De plus, des problèmes de convergence peuvent être obtenus pour des jeux de données présentant une faible différenciation génétique (i.e. $F_{ST} \leq 0.05$, Wilson & Rannala, 2003). Nous avons utilisé l'extension BAYESASS-Nm (Wilson & Rannala, 2003) spécialement conçue pour des échantillonnages de juvéniles. Néanmoins, aucune estimation n'a pu être obtenue en raison de problèmes de convergence. Cet échec peut d'abord être lié aux faibles différenciations génétiques observées dans nos jeux de données : tous nos sites sont caractérisés par de faibles différenciations génétiques (i.e. $F_{ST} \leq 0.05$) à l'exception du réseau B pour *B. bufo* et le réseau P pour *B. calamita*. Ensuite, les taux de migrations sont présumés importants sur nos sites d'études, comme il est souvent le cas des populations d'amphibiens (i.e. la dispersion massive de juvéniles, éventuellement couplée à la dégradation de l'habitat d'origine, pourrait aboutir à des proportions de migrants excédant 1/3 de la population).

Semblable à bien des égards à BAYESASS, BIMR (Faubet & Gaggiotti, 2008) est un modèle d'inférence bayésienne capable d'estimer des taux de migration récents sur les dernières générations. Les limites de BAYESASS précitées sont contournées par BIMR : (i) les valeurs des taux de migrations ne sont pas bornées et (ii) les modèles convergent pour des faibles différenciations génétique (i.e. $F_{ST} \geq 0.01$). Néanmoins, Faubet & Gaggiotti (2008) préconisent l'utilisation de BIMR sur de grandes populations, i.e. de taille supérieure ou égale à 50 individus. Puisque des estimations convergentes ont pu être obtenues pour des tailles d'échantillonnage plus réduites (eg. Marchi *et al.*, 2013 ; Epps *et al.*, 2013), nous avons tenté d'implémenter BIMR sur nos jeux de données de taille moyenne de 19 individus par population échantillonnée. Les modèles ont systématiquement abouti à des taux de migration nuls et des proportions de non-migrants de l'ordre de 100%. Suspectant un effet lié à nos tailles d'échantillonnage, nous avons mené des analyses de sensibilité visant à évaluer l'influence de la taille de l'échantillon sur l'estimation des taux de migration. Ces analyses ont été effectuées à partir du jeu

de données proposé par Faubet & Gaggiotti (2008), i.e. 4 populations humaines de 100 individus génotypés sur 247 loci microsatellites. Nous avons fait varier les tailles des 4 populations de 5 à 100 à partir de différents sous-échantillonnages aléatoires. Afin de s'assurer de la convergence des modèles, 10 itérations ont été réalisées pour chaque cas de figure. Les paramètres incrémentiels par défaut ont été utilisés. Les résultats font apparaître une forte sensibilité de BIMR aux tailles de populations (Tab. 7).

Tableau 7 : Influence de la taille des populations sur l'estimation des taux de migration obtenu avec BIMR sur la base du jeu de données de Faubet & Gaggiotti (2008). Les taux de migrations entre les populations 1-2-3-4 ont été estimés pour des tailles variant de 5 à 100. Dans les 6 premiers cas, nous avons fait varier les tailles de façon uniforme. Dans les deux derniers cas, une seule des trois populations a été assignée à une taille d'échantillonnage réduite.

	N = 5				N = 10				N = 20				N = 30			
De/à	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1	0	0.09	0	1	0.05	0.62	0.40	0.47	0	0	0	1	0.03	0.58	0.42
2	0	1	0.14	0	0	0.90	0.07	0.24	0.18	1	0	0	0	0.96	0.03	0.12
3	0	0	0.87	0	0	0.02	0.18	0.13	0.17	0	1	0	0	0	0.02	0.36
4	0	0	0.02	1	0	0.01	0.11	0.21	0.16	0	0	1	0	0	0.32	0.08

	N = 50				N = 100				N = 100, 100, 5, 100				N = 100, 100, 100, 10			
De/à	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1	0.02	0.47	0.26	0.69	0.02	0.25	0.12	0.69	0.02	0.75	0.12	0.69	0.02	0.25	0.44
2	0	0.96	0.05	0.15	0.02	0.68	0.02	0.08	0.02	0.69	0.07	0.08	0.02	0.69	0.02	0.24
3	0	0.01	0.46	0.13	0	0.22	0.70	0.07	0	0.21	0.09	0.07	0	0.22	0.70	0.16
4	0	0	0.01	0.44	0.27	0.06	0.02	0.71	0.27	0.06	0.07	0.71	0.27	0.06	0.01	0.14

Les estimations des sous-échantillonnages comprenant des effectifs inférieurs ou égaux à 50 sont systématiquement différentes de celles obtenues à partir de l'échantillon complet. Les proportions de migrants sont estimées nulles pour au moins une population dans les 5 plus petits sous-échantillonnages ($n=5$, $n=10$, $n=20$, $n=30$ et $n=50$). D'autres études basées sur des faibles échantillons ont obtenu des taux de migrations systématiquement nuls sans pouvoir en justifier la raison biologique (e.g. Bolliger *et al.*, 2011). Nous conseillons donc les utilisateurs de BIMR d'être particulièrement précautionneux lors du maniement de jeux de données d'effectifs restreints. D'autre part, une analyse de sensibilité plus complète serait utile à la délimitation du véritable champ d'application de BIMR.

En dernier recours, nous avons tenté d'appliquer MIGRATE (Beerli & Felsenstein, 1999, 2001). MIGRATE est une méthode d'estimation des taux de migration asymétriques basée sur la théorie de la coalescence (Kingman 1982a, 1982b). Largement utilisé en génétique du paysage (e.g. Stevens *et al.*, 2006), ce modèle repose sur des hypothèses rarement vérifiées dans le cas de populations perturbées ou à forte stochasticité démographique (Wilson & Rannala, 2003). En effet, les approches coalescentes supposent que les populations ont une taille ou une expansion constante, ainsi que des taux de migration constants pour les $4*Ne$ dernières générations, avec Ne la taille de la population efficace. Le temps $4*Ne$ correspond au temps nécessaire aux chromosomes pour coalescer au

premier ancêtre commun (Kingman 1982a, 1982b). Ces hypothèses démographiques ne sont pas vérifiées pour des populations de grande taille efficace et/ou subissant d'importantes variations démographiques (en raison de la stochasticité environnementale associée). Dans ce cadre, l'application de MIGRATE au cas des amphibiens est critiquable en raison de l'importante variabilité démographique de leurs populations au cours du temps (Pechmann & Wilbur, 1994). En dépit de ces limites, nous avons tenté d'appliquer MIGRATE à nos jeux de données. Malgré le grand nombre d'analyses de sensibilité effectuées, aucune estimation n'a pu être obtenue (i.e. les chaînes de Markov sont systématiquement piégées à des valeurs extrêmes). Au-delà des limites précitées, ce défaut de convergence peut être dû à notre grand nombre de populations, aux faibles effectifs (i.e. 19 individus en moyenne par population), et/ou au polymorphisme relativement important des microsatellites utilisés (i.e. respectivement 15,6 et 7,2 pour *B. bufo* et *B. calamita*). En effet, Beerli (2012) souligne que l'algorithme utilisé est souvent incapable d'estimer les taux de migrations pour des jeux de données basés sur des microsatellites très polymorphes et intégrant plus de 3 populations, car l'information est souvent insuffisante pour identifier les événements de migration.

B. Influence du contexte paysager sur l'estimation de la connectivité

Le rôle d'un élément du paysage sur le déplacement d'une espèce dépend de la composition et la configuration du paysage (Rayfield *et al.*, 2010). Pour cette raison, nous avons évalué la connectivité liée aux différents éléments du paysage, et en particulier des carrières, sur 6 aires d'études distinctes.

1. Diversité génétique et échelle régionale

Les analyses de diversité génétique n'ont pas permis de distinguer un effet des carrières spécifique au paysage dans lequel elles s'inscrivent (Partie II). Les modèles mixtes ont seulement fait apparaître une différence liée à la diversité génétique moyenne des populations. Cette différence peut s'expliquer par l'histoire démographique et paysagère propre à chacune des aires d'études. Ainsi pour nos deux espèces cibles, c'est la connectivité à l'échelle régionale qui semble expliquer la variabilité inter-site. Les paysages bien connectés régionalement - larges régions forestières pour *B. Bufo* (i.e. sites L pour la forêt de Fontainebleau, sites B et S pour la Sologne et la forêt d'Orléans) ou les régions d'espace ouverts pour *B. calamita* (i.e. sites B et S pour la vallée de la Loire, site V pour le paysage agricole d'Eure-et-Loire) sont significativement différents des paysages plus fragmentés tels que les sites A et P où la distribution de *B. calamita* est restreinte aux quelques boucles de Seine (anova, $P < 0.001$).

2. Variabilité des calibrations de résistances en fonction du contexte paysager

Dans le cadre des analyses de calibration, nous observons des classes d'occupation du sol attribuées à des valeurs constantes quelque soit le site d'étude alors que d'autres au contraire varient. Les classes invariantes sont les zones humides (i.e. petits cours d'eau, fossés, marécages, étangs) pour *B. bufo* associées à une résistance minimale ($r = 1$), et pour *B. calamita* les zones boisées ($r = 1$), les sols nus ($r = 1$) et les zones pionnières en carrières ($r = 1$). Ces milieux ont le point commun de constituer le milieu de dispersion préférentiel des juvéniles pour ces deux espèces (voir chapitre IV). Puisque les individus choisiront toujours le milieu préférentiel pour la dispersion, il est normal que ces milieux soient attribués à la valeur de résistance minimale indépendamment du contexte paysager.

Il en va différemment des milieux intermédiaires, i.e. favorables mais non préférentiels ou défavorables mais non imperméables. Dans le cas de *B. bufo*, les milieux boisés apparaissent comme milieu favorable sur l'ensemble des sites à l'exception du site L. Cette zone comprend en effet une large zone humide d'un seul tenant (124 ha) s'étendant aux abords du massif boisé de Fontainebleau (Annexe II). Les flux de gènes s'y opérant sont les plus intenses du site. Le jeu de la calibration des résistances relatives amène à attribuer les zones humides comme milieu plus favorable que le milieu boisé ($r = 25$). Au contraire, sur le site Bno, les zones humides sont davantage limitées en termes de surface (i.e. $S < 23$ ha). Par conséquent, l'influence des zones humides respectivement aux zones boisées y est moindre : zones boisées et zones humides sont associés à la même résistance minimale.

Toujours sur le site L, les zones urbaines apparaissent comme faiblement résistantes ($r = 1$) alors qu'elles sont considérées comme barrières dans la majorité des sites (i.e. P, Bno, Bso). Le site L comporte une vaste zone agricole intensive, hostile à la dispersion, parsemée de petits bourgs et villages au sein desquels les populations de *B. bufo* ont été échantillonnées. Ces villages comportent de nombreux jardins privés et des prairies périphériques, constituant des habitats favorables au *B. bufo* (Cooke, 1972). Ainsi, le maillage de villages constitue l'unique support de la dispersion sur cette zone agricole, et par conséquent apparaît comme résistance minimale.

Dernier exemple concernant *B. calamita*, le milieu agricole est attribué à des valeurs relativement résistantes (i.e. $r = 25$) dans les sites Bso et L alors que nous obtenons une résistance minimale pour le site Bno. Il apparaît que les surfaces agricoles représentent seulement 33% du site Bno alors que les sites Bso et V présentent des proportions très supérieures (i.e. respectivement 56 % et 90 % du territoire). Loin d'affirmer des conclusions sur la base de 3 sites, nous pouvons néanmoins émettre l'hypothèse que la résistance d'un milieu fragmentant dépend de sa surface, et qu'il existe un seuil surfacique à partir duquel ce milieu devient fragmentant (Lange *et al.*, 2010). Dans cet exemple le seuil surfacique se situerait entre 33 et 56 %.

C. De l'importance de distinguer le comportement de dispersion des juvéniles et adultes

En raison de la difficulté à quantifier les mouvements des stades juvéniles, la connaissance des comportements de dispersion se résume généralement à l'observation des adultes. Ce raccourci fait abstraction de deux réalités biologiques : (1) les préférences d'habitat peuvent différer du fait de capacités de dispersion distincte ou de l'absence de mémoire d'un habitat défavorable (Janin *et al.*, 2012) ; (2) les juvéniles peuvent représenter la majeure partie des phénomènes de dispersion (e.g. cas de *B. bufo* : Reading *et al.*, 1991; Schlupp & Podloucky, 1994; Cooke & Oldham, 1995; cas de *B. calamita* : Sinsch, 1997). La génétique constitue donc un moyen efficace pour estimer les flux des stades à la fois juvéniles et adultes, notamment lorsque les stades juvéniles sont trop discrets pour être observés.

Dans le cas de nos deux espèces cibles, l'unique observation des stades adultes aurait amené à conclure que les milieux de dispersion préférentiels sont les milieux forestiers pour *B. bufo* et les milieux pionniers pour *B. calamita* (voir références en partie I). En effet, nos résultats de calibration confortent ces aspects. Nous avons également identifié le milieu boisé pour *B. calamita* et les zones humides pour *B. bufo* comme milieux de dispersion optimal. La conclusion est d'autant plus étonnante pour *B. calamita*, pour lequel le milieu boisé constitue un habitat défavorable pour les stades adultes. Rappelons que le boisement spontané des milieux ouverts constitue la principale cause d'extinction de cette espèce en Europe (Rannap *et al.*, 2007). Ce comportement serait-il une réponse de secours à la dynamique de reboisement des milieux pionniers ? Dans tout les cas, ce résultat a été également observé par Stevens *et al.* (2006). Dans le cas de *B. bufo*, nous observons les zones humides comme milieu de dispersion préférentiel devant même les zones boisées (e.g. site L, marais de Larchant, chapitre II. C. 2). Cela s'explique par le comportement de dispersion des juvéniles : expérimentalement, la dispersion des juvéniles est uniquement conditionnée par le gradient d'humidité (Janin *et al.*, 2012). Nous confortons donc ces résultats sur le terrain.

D. Plus loin dans la calibration des résistances aux déplacements

La calibration des résistances aux déplacements est une démarche attirante tant pour la connaissance fondamentale du comportement de dispersion (e.g. Wang *et al.*, 2009) que pour la planification des réseaux écologiques (Crooks & Sanjayan, 2006). A ce titre, le développement et la validation d'outils de calibration sont un enjeu majeur de l'écologie du paysage (Spear *et al.*, 2010 ; Zeller *et al.*, 2012).

1. Comment modéliser le déplacement des individus ?

La première étape de la calibration repose sur la modélisation des déplacements des individus au sein d'un paysage continu. A travers les chapitres III et IV, nous avons essentiellement implémenté l'outil CIRCUITSCAPE développé par McRae (2006). Au vu des corrélations élevées obtenues par la comparaison avec la majorité de nos données génétiques, il semble que CIRCUITSCAPE donne une bonne approximation des processus de dispersion réels. La théorie des circuits est en effet un modèle de dispersion pertinent du fait de la prise en compte de la multiplicité et de la taille des chemins reliant deux populations (McRae, 2006). De plus, nous avons montré de façon empirique que CIRCUITSCAPE est extrêmement sensible à la configuration du paysage et à ses évolutions même mineures (i.e. modification de moins de 10% du paysage total). Enfin, il semble que cet outil soit plus performant que les chemins de moindres coûts (Chapitre II).

L'utilisation de CIRCUITSCAPE pourrait néanmoins être optimisée sur notre jeu de données. En effet, nous avons uniquement calibré la résistance comme proxy de la connectivité. Or, le choix du chemin d'un migrant ne repose pas uniquement sur la structure de la végétation et du substrat du milieu traversé utilisés pour définir la typologie des occupations du sol. De nombreux autres facteurs, tels que l'altitude, l'humidité, le risque de prédation, la disponibilité de nourriture ou la proximité d'autres habitats ou de congénères peuvent entrer dans le processus de décision (Telleria *et al.*, 2001 ; King & With, 2002). De fait, une démarche de calibration plus intégrative permettrait de se rapprocher davantage des conditions de dispersion réelles (e.g. Lee-Yaw *et al.*, 2009 ; Shirk *et al.*, 2010). Outre ces paramètres perçus par l'individu, il serait pertinent d'intégrer les capacités de perception spécifiques à l'espèce. Des approches individus-centrées visant à intégrer ces paramètres ont été développées en ce sens (e.g. Pe'er & Kramer-Schadt, 2008 ; Palmer *et al.*, 2010). Néanmoins, la caractérisation détaillée du comportement de dispersion nécessite un important paramétrage forçant le recours au dire d'expert ou un processus de calibration extrêmement lourd, ce comportement étant dépendant du contexte paysager (Olden *et al.*, 2004). D'autre part, des premiers tests menés sur la base de modèles individus-centrés (e.g. SMS, Palmer *et al.*, 2010) ont aboutit à des estimations de déplacements extrêmement faibles comparés à l'intensité des flux de gènes réellement observés. Cette divergence souligne la difficulté à modéliser le véritable comportement de dispersion, et en particulier la complexité des capacités d'un migrant à percevoir un habitat favorable au sein d'un paysage complexe (e.g. Rothermel, 2004).

2. Algorithmes de calibration

Un des défis majeurs liés à la question de la calibration des résistances consiste dans le nombre extrêmement important de combinaisons de résistances à tester. Notre approche, développée dans le chapitre III, propose une solution simple pour une calibration en 5 valeurs de coûts. Néanmoins, cette solution reste relativement lourde au vu du nombre total de combinaisons testées (i.e. 139 639 au total). De plus, il est certain que la complexité de la connectivité d'un paysage requiert plus de 5 classes de valeurs de résistance pour être convenablement modélisée. Ainsi, nous invitons les futures recherches à développer et appliquer des algorithmes d'optimisation adaptés aux objets écologiques.

3. Flux de gènes et déplacements : synonymes ou faux amis ?

S'il est clair que les flux de gènes sont étroitement corrélés aux déplacements au travers des événements de dispersion, est-il légitime d'interpréter l'ensemble des comportements de dispersion à partir des seules données génétiques ? Il a en effet été souligné que les flux de gènes et les déplacements étaient corrélés mais non équivalents (Bohonak, 1999 ; Whitlock & McCauley, 1999). Ceci s'explique tout d'abord par le fait que la dispersion ne forme qu'un aspect des nombreux événements de déplacement réalisés par un individu au cours de son cycle de vie (e.g. nourrissage, exploration,... voir références précitées). Si la dispersion est un processus fondamental pour la dynamique des populations et les flux de gènes, elle ne saurait à elle seule résumer le comportement de déplacement d'un individu. De plus, un gène peut être transmis entre deux populations sans événement de migration directe, mais uniquement par population interposée (i.e. questions de populations fantômes ; Slatkin, 2005). Enfin, la transmission de flux de gènes sur le long terme dépend du succès de l'événement de reproduction faisant suite à la dispersion. Or, de nombreux paramètres non liés à la dispersion peuvent influencer le succès de cette étape : sélection naturelle (Nosil *et al.*, 2005), événements d'introgression (Edmands, 2007) ou de divergence adaptative (Crispo *et al.*, 2006).

Dans le cadre de notre démarche, nous avons supposé que les flux de gènes reflétaient en grande partie les déplacements réalisés au sein du paysage, et en avons déduit des conclusions quant au comportement de dispersion de *B. bufo* et de *B. calamita*. Néanmoins, nous sommes conscients des limites de cette extrapolation et défendons la complémentarité de l'approche génétique avec les mesures directes de mouvements (e.g. Riley *et al.*, 2006), et d'une manière générale du biologiste moléculaire avec le naturaliste.

III. Carrières et connectivité : évaluation des effets et enseignements tirés

A. Les carrières peuvent augmenter significativement la connectivité selon les espèces et les réaménagements considérés

1. Les potentialités des carrières en termes de création et restauration de connectivité avec l'exemple de *B. calamita*

Nous avons initialement émis l'hypothèse d'un rôle favorable des carrières sur la connectivité des espèces pionnières. Néanmoins, si la présence d'espèces pionnières avait déjà été observée en carrière (e.g. Novak & Prach, 2003), nous pouvions suspecter un effet barrière lié aux fortes pressions anthropiques s'y exerçant (Clements *et al.*, 2006; Berhe, 2007; Lameed & Ayodele, 2010) : d'une part, ces perturbations peuvent être directement répulsives, d'autre part, elles peuvent occasionner un effet puits, i.e. attirer des disperseurs dans un milieu apparemment favorable mais présentant un risque de mortalité élevé.

L'exemple de *B. calamita* nous montre qu'il n'en est rien tant que des milieux pionniers sont maintenus, ou du moins que les effets liés aux perturbations sont négligeables par rapport à l'effet de création de connectivité. Cette conclusion est confirmée à la fois par nos analyses de diversité et de calibration. Les analyses de diversité génétique montrent un effet positif de la surface globale des carrières sur les flux de gènes et la démographie, et ce sur l'ensemble des sites d'étude (Partie II). L'aspect démographique sous-entend que la dynamique de population de *B. calamita* est telle en carrière que la mortalité est négligeable par rapport au recrutement d'individus. On peut alors parler de connectivité démographique (Lowe & Allendorf, 2010). En effet, la démographie de *B. calamita* est principalement liée à la production de juvéniles, donc au succès reproducteur (Beebee *et al.*, 1996). Le risque de mortalité en carrières n'a pu être véritablement quantifié, mais nous estimons ce risque présent sur la base de nos observations de terrain. Nous avons identifié trois risques spécifiquement liés aux carrières : (1) l'effet « piège mortel » des ornières d'engins, milieux très attractifs pour la reproduction de *B. calamita* mais fréquemment perturbés par le passage d'engins (Fig. 9) ; (2) le déplacement des stocks de granulats, habitat diurne et hivernal des adultes ; (3) le réaménagement rapide des zones pionnières durant l'exploitation et à la fermeture du site (Fig. 9).



Figure 9 : Quelques exemples des principaux risques de mortalité de *B. calamita* en carrières. A gauche et en haut à droite, par les engins de chantier peuvent écraser des pontes présentes dans les ornières. En bas à droite, Réaménagement récent d'une zone pionnière en carrière par remblaiement de terres végétale, engazonnement et reboisement.

Au vu de ces risques de mortalité, l'effet favorable des carrières sur la diversité génétique doit donc être lié à un recrutement très important. Rappelons que le succès reproducteur de *B. calamita* est conditionné par (1) l'oligotrophie de la mare ; (2) la température, (3) la présence de compétiteurs et (4) l'assèchement prématuré des mares (Banks & Beebee, 1987 ; Banks & Beebee, 1994 ; Rowe *et al.*, 2005). Il s'avère que les carrières produisent des milieux temporaires réunissant les conditions optimales pour la reproduction de *B. calamita* : (1) le milieu oligotrophe car minéral, (2) les mares temporaires se réchauffent rapidement en raison de leur faible profondeur et d'un ensoleillement maximal, (3) le caractère fondamentalement pionnier du milieu éloigne l'essentiel des compétiteurs, notamment *B. bufo* (Denton & Beebee, 1994) et (4) l'assèchement des mares est limité par l'apport d'eau issu des procédés industriels. De plus, les carrières comportent de nombreux milieux temporaires exempts de perturbation directe : mares localisées entre les stocks de granulats et à proximité des installations de traitement, bassins de décantation, fossés et zones spécifiquement réaménagées (Fig. 10).



Figure 10 : Exemples de milieux de reproductions favorables à *B. calamita* présents sur site de carrières. A gauche, fossé (on distingue les têtards de *B. calamita* à la surface de la lame d'eau sur le front gauche du fossé) ; au centre, mares temporaires localisé dans les stocks (on distingue 2 pontes de *B. calamita* au centre) ; à droite, réaménagement de mare spécifiquement destinée à *B. calamita*.

Ainsi, cet effet source fait de la carrière un élément clé de la connectivité du paysage. Dans le vocabulaire de la Trame Verte et Bleue, les carrières joueraient donc le rôle de cœur/réservoir de biodiversité.

A cet effet source, démographique, s'ajoute un effet favorable sur la dispersion. Cet effet a été notamment identifié par les résultats de calibration (Parties III et IV), démontrant que les sols nus en carrière constituent des milieux préférentiels pour la dispersion. Ces résultats confirment la préférence pour les sols nus déjà observée pour cette espèce (Stevens *et al.*, 2004 ; 2006). Par conséquent, les perturbations liées à l'activité des carrières ne semblent pas suffisantes pour affecter significativement les déplacements de *B. calamita*. D'une part, il faut noter que certaines zones pionnières de carrières sont peu exposées aux perturbations anthropiques. Par exemple, les bassins de décantation, les zones décapées non exploitées, les zones non encore réaménagées ou encore les stocks de granulats peu mobiles constituent des milieux relativement calmes. De plus, il doit être rappelé que l'activité de *B. calamita* est essentiellement nocturne. Généralement fermés la nuit, les sites de carrières constituent donc des milieux particulièrement calmes en période nocturne. En conclusion, l'effet des carrières sur la dispersion de *B. calamita* peut être particulièrement favorable. Cet effet peut être amplifié par la configuration des réseaux de carrières en pas japonais (ce paramètre structurel n'a malheureusement pas pu être testé à ce jour). Dans le vocabulaire de la Trame Verte et Bleue, les carrières joueraient donc aussi le rôle de corridors structurés en pas japonais.

2. La fragmentation liée aux carrières avec l'exemple de *B. bufo*: entre effet dilué et effet compensé ?

Pour rappel, nous avons initialement fait l'hypothèse que les carrières puissent être à l'origine d'un effet de fragmentation pour *B. bufo*. En effet, les milieux minéraux, xériques, issus des carrières sont supposés défavorables à la majorité des amphibiens sensibles aux taux d'humidité pour la dispersion (Rittenhouse *et al.*, 2008), et tout particulièrement pour *B. bufo* (Janin *et al.*, 2012). De plus, les milieux ouverts sont défavorables pour la dispersion de *B. bufo* (voir références citées en Partie I).

Ce présent travail n'a pas permis d'isoler précisément un effet de fragmentation de ces milieux pionniers. Les analyses de diversité génétique n'observent aucun effet systématique sur ce milieu particulier. Les résultats de calibration montrent que ces milieux peuvent supporter une relative connectivité au sein de paysages homogènes et peu favorables (e.g. paysages agricoles intensifs, site L), sûrement en raison de la présence de milieux végétalisés complémentaires en périphérie de ces milieux ouverts. Un effet de fragmentation a été identifié pour les réaménagements à l'origine de larges plans d'eau, constituant des « barrières aquatiques » pour cet animal terrestre. Les réaménagements urbains et agricoles montrent une résistance similaire au milieu hors carrière.

Pour les autres milieux, i.e. boisements, milieux herbacés, milieux pionniers les analyses de calibration proposent des estimations de résistances extrêmement variables, balayant l'éventail des valeurs minimales à maximales pour la même classe d'occupation du sol (Partie IV). A la différence des plans d'eau, qui sont généralement pérennes après leur création (à l'exception de remblaiements, minoritaires sur nos sites), ces milieux évoluent très rapidement. Leur effet est difficilement détectable sur la base unique de 3 photographies historiques. De plus, si fragmentation il y a, ces milieux ne constituent pas de larges structures continues comme le sont les plans d'eau. De ce fait, même si ces milieux étaient totalement imperméable aux déplacements, leur faible étendue pourrait être inférieure au seuil surfacique de fragmentation (voir Lange, 2010, sur la question des seuils de fragmentation). De plus rappelons qu'un effet de fragmentation est plus difficile à détecter qu'une création de connectivité (Fahrig, 2003). Ainsi, l'effet de ces milieux dispersés sur le site peut être dilué au sein de l'effet de macrostructures paysagères.

Dans tous les cas, il apparaît qu'une carrière ne constitue pas une fragmentation dans sa totalité. Si cela avait été le cas, l'effet aurait été détecté car (1) notre approche diachronique balaye deux périodes de 10 temps de générations de *B. bufo* et (2) l'effet d'un élément fragmentant peut être détecté à partir de 5 à 10 générations (Clark *et al.*, 2010 ; Murphy *et al.*, 2008 ; Cushman & Landguth, 2010). D'autre part, notre plan d'expérience comprend en effet des sites où les carrières constituent un élément quasi-continu dans le paysage et représentent des surfaces extrêmement importantes.

Par exemple, le site A comprend 1074 ha de carrières dont 644 ha d'un seul tenant, le tout représentant 25 % de la surface du site d'étude. De même, le site P présente des zones d'extraction représentant respectivement 1129 ha et 429 ha d'un seul tenant, l'ensemble des carrières représentant 10 % du site d'étude. Ainsi, si les carrières constituaient une fragmentation systématique, cet effet aurait été détecté par les paysages récents dans le cas d'une modification rapide de la structure génétique, ou par les paysages anciens dans le cas d'une modification lente.

Ainsi, l'absence d'effet pour ces classes d'occupation du sol peut être liée à l'effet complémentaire de milieux favorables et défavorables à la dispersion au sein de la carrière. En effet, une carrière n'est jamais constituée d'un milieu homogène, mais au contraire d'une large diversité de milieu (Fig. 11).

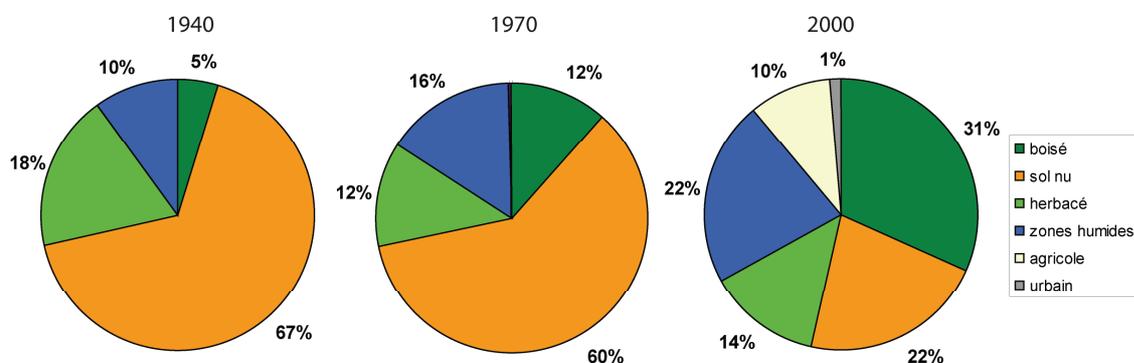


Figure 11 : Proportions moyennes des différents milieux intra-carrières dans les années 1940, 1970 et 2000.

Du fait des réaménagements progressifs ainsi que des successions spontanées, l'apparition de milieux végétalisés est susceptible de compenser l'effet de fragmentation de milieux pionniers. En prenant l'exemple des paysages contemporains, les milieux boisés (31 % de la surface des sites) sont plus représentés que les sols nus (22 % de la surface des sites). Puisque les zones boisées constituent un milieu préférentiel de dispersion pour *B. bufo*, on peut s'attendre à ce que l'effet de fragmentation soit effacé par la création de connectivité. De plus, ces milieux peuvent apparaître sur des espaces initialement imperméables (e.g. milieu agricole), et par conséquent être à l'origine d'un gain net de connectivité (e.g hypothèses formulées pour les sites L et P). Ainsi, l'effet de la carrière est dépendant du contexte paysager.

Outre la question de la dispersion, cette diversité d'habitat peut jouer un rôle en termes de diversité démographique pour *B. bufo*. En effet, à l'instar de nombreuses espèces d'amphibiens, le cycle de vie de *B. bufo* nécessite une diversité d'habitats : zones humides pour la reproduction, zones boisées pour le nourrissage et l'hivernage. Ainsi, la diversité d'habitat produite par les carrières pourrait

jouer le rôle d'espaces complémentaires pour cette espèce. Par exemple, la création de plans d'eau issus de l'exploitation des carrières alluvionnaires constitue des zones de reproductions avérées pour *B. bufo*, d'autant que ces plans d'eau sont souvent connectés par des ripisylves et milieux boisés annexes (Fig. 12). En effet, 65 % de nos sites d'échantillonnage de *B. bufo* correspondent à des plans d'eau réaménagés. L'exemple des plans d'eau est intéressant car il montre d'une part que milieux de reproduction et milieux de dispersion ne sont pas systématiquement synonymes, mais également que ces milieux fragmentant jouent un rôle en complément à d'autres milieux, et dans ce cas peuvent jouer un rôle favorable sur la dynamique de populations, et donc des flux de gènes.



Figure 12 : Illustration des potentialités des zones humides issues des carrières pour la reproduction de *B. bufo*. A gauche, l'exemple d'une ancienne carrière alluvionnaire réaménagée en plan d'eau présentant une connexion boisée. La complémentarité zone humide/réaménagement boisé offre un cadre favorable pour la reproduction de *B. bufo*, comme le montre la quantité de pontes fréquemment trouvées sur les rives d'un plan d'eau de carrières (à droite).

B. De l'espèce à la communauté

Notre étude s'est concentrée uniquement sur deux espèces. Par conséquent, nos conclusions ne sauraient être directement généralisées à l'ensemble des espèces. Il nous est néanmoins possible de d'extrapoler des hypothèses à partir de la biologie des deux espèces cibles.

En effet, nous avons initialement considéré *B. calamita* et *B. bufo* comme deux espèces parapluies, i.e. représentatives d'écosystèmes spécifiques (Caro *et al.*, 2005). En effet du point de vue de la dispersion, *B. calamita* est considéré comme représentatif des milieux ouverts et pionniers, et *B. bufo* des milieux forestiers et végétalisés (voir références citées en Partie I). De plus, la corrélation entre connectivité, modèle de niche écologique et données d'inventaires a été démontré (Wang *et al.*, 2008). Ainsi, à partir de la connaissance des inventaires d'espèces et de milieux sur sites de carrières (e.g. Kovacs, 2001 ; Voetzel *et al.*, 2008) il est possible d'estimer l'effet potentiel des carrières sur les cortèges inféodés aux milieux pionniers et végétalisés. Nous faisons donc l'hypothèse que les sols nus de carrières créent un gain de connectivité pour le cortège inféodé aux

milieux ouverts alors que l'effet sur le cortège inféodé au milieu végétalisé aura une connectivité maintenue si les réaménagement sont diversifiés (e.g. contrairement à la généralisation des grands plans d'eau). Nous proposons dans la tableau 3 des exemples d'espèces issus de ces deux cortèges inventoriés sur 17 sites de carrières de roches meubles et 35 sites de roches massives réparties sur l'ensemble du territoire français (Kovacs, 2001 ; Voetzel *et al.*, 2008) et pour lesquelles nous proposons avec forces précautions une extrapolation de nos conclusions.

Tableau 3 : Exemple d'espèces inféodés aux milieux cortèges ouverts et végétalisés inventoriés sur site de carrières (Kovacs, 2001 ; Voetzel *et al.*, 2008) pour lesquels nous prédisons avec précaution les conclusions établies sur l'exemple de *B. calamita* et *B. bufo*.

	Milieux végétalisés	Milieux ouverts
Odonates	Sympétrum méridional (<i>Sympetrum meridionale</i>) Cordulie métallique (<i>Somatochlora metallica</i>)	Leste sauvage (<i>Lestes barbarus</i>) Orthétrum bleuissant (<i>Orthetrum coerulescens</i>)
Orthoptère	Gomphocère roux (<i>Gomphocerippus rufus</i>) Criquet des Génévriers (<i>Euthystira Brachyptera</i>) Criquet ensanglanté (<i>Stetophyma grossum</i>) Conocéphale des roseaux (<i>Conocephalus dorsalis</i>)	Oedipode aigue-marine (<i>Sphingonotus caeruleans</i>) Tétrix des vasières (<i>Tetrix ceperoi</i>)
Lépidoptères	Piéride de la moutarde (<i>Leptidea sinapis</i>) Sylvaine (<i>Ochlodes venatus</i>) Citron (<i>Gonepteryx rhamni</i>) Tircis (<i>Pararge aegeria</i>) Carte géographique (<i>Araschnia levana</i>)	Agrete (<i>Hipparchia semele</i>) Mégère (<i>Lasiommata megera</i>) Silène (<i>Brintesia circe</i>) Sylvandre (<i>Hipparchia fagi</i>) Némusien (<i>Lasiommata maera</i>)
Amphibiens	Rainette verte (<i>Hyla arborea</i>) Salamandre tachetée (<i>Salamandra salamandra</i>) Triton alpestre (<i>Ichthyosaura alpestris</i>) Triton crêté (<i>Triturus cristatus</i>)	Sonneur à ventre jaune (<i>Bombina variegata</i>) Pélodyte ponctué (<i>Pelodytes punctatus</i>) Crapaud vert (<i>Bufo viridis</i>)
Oiseaux	Chardonneret élégant (<i>Carduelis carduelis</i>) Bruant zizi (<i>Emberiza cirrus</i>) Pic épeiche (<i>Dendrocopos major</i>) Gobemouche gris (<i>Muscicapa striata</i>) Tarin des aulnes (<i>Carduelis spinus</i>)	Oedicnème criard (<i>Burhinus oedicnemus</i>) Petit gravelot (<i>Charadrius dubius</i>) Sterne pierregarin (<i>Sterna hirundo</i>) Sterne à ventre noir (<i>Sterna acuticauda</i>) Mouette mélanocéphale (<i>Ichthyaetus melanocephalus</i>)
Reptiles	Vipère aspic (<i>Vipera aspis</i>) Lézard vert occidental (<i>Lacerta bilineata</i>) Vipère péliade (<i>Vipera berus</i>)	Lézard des murailles (<i>Podarcis muralis</i>) Couleuvre de Montpellier (<i>Malpolon monspessulanus</i>) Psammodrome algire (<i>Psammodromus algirus</i>)

C. Carrières, dispersion et évolution

Au-delà des questions de résistance au mouvement, il est intéressant de considérer l'influence des carrières sur la dispersion d'un point de vue évolutif. Wright (1931) a été le premier à souligner l'influence de la dispersion et de la structure des populations à l'échelle du paysage sur les processus évolutifs. Si l'étude de cette relation n'est pas nouvelle, l'essor de la génétique évolutive du paysage, appelée également génomique du paysage, promet de nouvelles avancées en la matière (Manel & Holderegger, 2013). L'analyse des processus évolutifs nécessite l'étude de loci codant pour des traits adaptatifs (Petren, 2013). Nos travaux étant basés uniquement sur des marqueurs neutres (i.e. microsatellites), il nous est impossible à ce stade de conclure quant à l'effet des carrières sur l'évolution des traits de dispersion. La question nous semblant pertinente, notamment au regard de *B. calamita*, nous souhaitons néanmoins émettre des hypothèses et des pistes de réflexions pour de futures recherches.

Les résultats présentés dans le cadre de cette thèse démontrent que l'exploitation des carrières est favorable à la diversité génétique et aux flux de gènes de *B. calamita* (parties II, III et IV). Cette influence peut d'abord être expliquée par le simple fait qu'une carrière produit un habitat favorable à la fois à la dispersion (augmentation des flux de gènes) et plus généralement à l'ensemble du cycle de vie (e.g. reproduction, hivernage, nourrissage...) de cette espèce. Néanmoins, il est bon de se rappeler le caractère fondamentalement industriel d'une carrière et les fortes pressions anthropiques s'y appliquant : émission de bruit, poussière, vibrations, trafic routier, et activités de terrassement. Ces impacts peuvent exercer des pressions de sélection sur de nombreux traits d'histoire de vie. Nous souhaitons ici nous concentrer sur la question de la dispersion.

L'effet évolutif de la carrière peut être envisagé à la fois à l'échelle du site et du réseau de sites. A l'échelle du site, l'exemple des paysages hyper-dynamiques (cf. Partie V, chapitre I.A.3) nous rappelle que l'exploitation d'une carrière engendre une modification du milieu extrêmement rapide, pouvant atteindre plus de 10ha/an de surfaces converties (cf Partie II), des surfaces de l'ordre de 4 ha pouvant être décapées en l'espace d'une dizaine de jours. Ainsi, au sein d'un site, la survie du *B. calamita* est conditionnée à sa capacité à se déplacer rapidement d'une zone anciennement exploitée à la zone nouvellement décapée. De ce fait, le type disperseur est supposé être positivement sélectionné par rapport au phénotype philopatric. Cette pression de sélection peut être exacerbée à l'échelle d'un réseau de sites. Sachant que (1) une fois l'exploitation terminée, le milieu intra-carrière se referme et devient défavorable, (2) une carrière est généralement localisée au sein d'un réseau de carrières en activité offrant d'autres habitats favorables et (3) les carrières constituent souvent l'unique habitat au sein de paysages non pionniers, il peut s'avérer que la survie

du *B. calamita* soit également conditionnée à sa capacité à atteindre une nouvelle carrière en activité après la fermeture de son site d'origine. Le fait que les sites de carrières peuvent être séparés par de relativement grandes distances (e.g. 500 m à plus de 10 km sur notre échantillonnage, 1 km en moyenne), cette pression tendrait à sélectionner le type « super-disperseur ». De plus, la fermeture d'une carrière induit généralement une perte brutale d'habitat liée au réaménagement des zones pionnières imposé par l'arrêté préfectoral. Cette perte brutale d'habitat est généralement suivie d'une forte mortalité, et conduit les derniers individus à coloniser de nouveaux milieux, et généralement de nouvelles carrières relativement distantes.

Un premier effet des carrières à l'échelle du site et du réseau de sites consisterait donc en la sélection de « super-disperseurs ». De plus, cette sélection serait amplifiée par le phénomène de « mutation surfing », i.e. l'accroissement de la fréquence d'une nouvelle mutation liée à l'effet fondateur conséquent à une colonisation (Klopfstein *et al.*, 2005; Excoffier *et al.*, 2009). Si cette pression de sélection est effective, les carrières pourraient constituer des « îles de divergence », i.e. des zones où l'exercice d'une pression de sélection maintient les différences adaptatives entre les populations (Ellegren *et al.*, 2012 ; Renaut *et al.*, 2013). Pour aller plus loin, pourrait-on parler d'un sauvetage évolutif lié aux carrières (Gonzalez *et al.*, 2012) ? En effet, nous pourrions supposer qu'un réseau de carrières soit à l'origine d'une rapide évolution des traits de dispersion du *B. calamita* du fait de (1) les fortes pressions de sélection et (2) l'offre d'habitats favorables aux flux de gènes et au cycle de vie de l'espèce. Cette rapide évolution permettrait de sélectionner un type disperseur permettant de rétablir des populations menacées d'extinction de par l'accroissement de la fragmentation des paysages et de la dégradation des habitats naturels. L'adaptation de type disperseur en réponse à l'instabilité de l'habitat a en effet été mis en évidence chez les invertébrés (e.g. *Sitobion avenae*, Kennedy et Storer, 2000). De même, une sélection de phénotype disperseur au niveau du front de colonisation a été observé chez le crapaud buffle (*Bufo marinus*), soulignant l'existence d'une sélection sur les capacités de dispersion chez les amphibiens (Phillips *et al.*, 2006). Il reste toutefois probable que le phénotype philopatryque soit maintenu au niveau des installations de traitement. Ces milieux constituent en effet des habitats favorables, pionniers et en même temps pérennes (e.g plusieurs décennies).

Ces hypothèses pourraient être validées par des approches comportementale et/ou génétique. Le but est de tester l'existence d'un type « super-migrant » sélectionné par un système de carrières par comparaison à un type « non-migrant » adapté à un milieu naturel peu dynamique (i.e. milieu dunaire). Nous pourrions également comparer la sélection exercée par un système de carrières de roches meubles, supposé très dynamique, avec celle exercée par un système de carrières de roches

massives, moins dynamiques. Concernant l'approche comportementale, une méthode rigoureuse d'estimation des capacités de déplacement du *B. calamita* a été développée par Stevens *et al.* (2004, 2006). La comparaison des capacités de déplacement de plusieurs échantillons d'adultes et de juvéniles provenant de systèmes de carrières de roches meubles, roches massives et de milieu dunaire permettrait d'identifier la sélection de traits spécifiques. Ces échantillons pourraient également être comparés sur une base génétique. L'approche génétique requiert l'analyse de marqueurs non neutres impliqués dans les phénomènes d'adaptation, i.e. impliqués dans l'expression des traits associés au comportement de dispersion. Le développement de la génomique du paysage et des technologies analytiques associées offre pour cela de nombreuses opportunités (Schwartz *et al.*, 2010 ; Elshire *et al.*, 2011).

D. Vers une exploitation compatible avec la conservation de la connectivité?

1. Démarche générale

A travers nos différents travaux, nous avons pu mettre en avant les potentialités des carrières en termes de création de connectivité à la fois au niveau des zones pionnières en exploitation par l'exemple du *B. calamita* et des zones réaménagées par l'exemple du *B. bufo* et du *B. calamita* (chapitres II, III et IV). Sur le terrain, il revient donc à l'exploitant d'optimiser ces potentialités tout en minimisant les impacts en termes de fragmentation identifiés dans les parties III et IV. D'une manière générale, l'exploitant peut avoir deux échelles d'actions : (1) à l'échelle de chaque site de carrière et (2) à l'échelle du réseau de carrières. Ces deux échelles d'action sont développées ci-dessous.

2. Actions à l'échelle du site

A partir de l'exemple de nos deux espèces cibles, nous avons identifié trois principaux enjeux à l'échelle du site : (1) la cohérence de l'aménagement de la carrière avec le paysage environnant, (2) l'aménagement des zones humides issues des carrières alluvionnaires et (3) le maintien des zones pionnières.

a. Cohérence de l'aménagement de la carrière avec le paysage environnant

D'une manière générale, nous recommandons de rendre cohérent l'aménagement d'une carrière avec son paysage environnant afin de minimiser les risques de rupture, et au contraire de maximiser la connectivité locale. Cette démarche se limite aux contraintes de l'activité : l'exploitation de granulats s'accompagne nécessairement d'une création de milieu pionnier généralement très différent du paysage environnant. Néanmoins, il est utile de rappeler que ces milieux pionniers peuvent représenter une faible, voire très faible proportion du site (i.e. les surfaces pionnières

représentaient 22 % des surfaces de carrière en 2012 ; cf. chapitre III.A.2). Ainsi, les réaménagements peuvent supporter la majeure partie de la connectivité de la carrière. Une attention particulière doit donc être portée au plan de remise en état et de réaménagement. « Rendre cohérent » l'aménagement de la carrière avec le paysage environnant ne signifie pas systématiquement la reproduction à l'identique des milieux majoritaires du paysage, mais la cohérence avec les enjeux de connectivité locaux.

Par exemple, au sein de l'aire d'études « V », les carrières s'inscrivent au sein d'un paysage homogène d'agriculture intensive. Néanmoins, les enjeux écologiques locaux concernent davantage la recréation de connectivité des populations de *B. calamita* en déclin au sein des mares rurales et le maintien d'un continuum de pelouses sèches calcaires favorables aux oiseaux de plaines tels que l'Œdicnème criard (*Burhinus oedicnemus*) ou l'Alouette calandrelle (*Calandrella brachydactyla*). Ces enjeux sont identifiés par le DOCOB du site Natura 2000 FR2410002 (arrêté du 26/04/2006). Ainsi, dans cette zone, il apparaît judicieux de concevoir des aménagements de carrières qui favorisent le maintien des zones pionnières et la création de pelouses sèches plutôt que le réaménagement de terres agricoles labourables. Dans l'exemple du site G, l'activité d'extraction remplace des boisements denses par des milieux pionniers. Or ces milieux pionniers créent une connectivité pour les espèces de milieux steppiques tels que l'Œdicnème criard (*Burhinus oedicnemus*) identifié par le DOCOB du site Natura 2000 FR1112012 (arrêté du 25/04/2006). Là encore, l'enjeu vise préférentiellement la création de continuités ouvertes que la recréation de boisements relativement communs sur le secteur.

La distinction entre enjeu écologique local (en termes de connectivité) et élément du paysage dominant souligne les incohérences liées au principe de compensation dans sa dimension « No net loss (NNL) », i.e. pas de perte d'habitat (DFO, 1986 ; USEPA/USACE, 1990). Nous rappelons que le principe de compensation constitue l'étape ultime de la minimisation d'un impact sur la biodiversité, intervenant après les étapes d'évitement et de réduction de l'impact (MEDDE, 2012). En suivant attentivement le principe NNL, les exemples précités auraient conduit aux réaménagements respectifs de terres agricoles labourables et de boisements denses, sans prise en compte des enjeux écologiques de connectivité identifiés par le réseau Natura 2000. Dans un tel contexte, il nous paraît important que la concertation entre l'exploitant de carrière et l'autorité environnementale intègre au niveau de la réflexion autour du projet de remise en état la prise en compte de sa cohérence avec le paysage environnant en termes d'enjeu local identifié plutôt que sur l'application systématique du principe de NNL et la reproduction de l'élément dominant du paysage.

Afin d'être effectif au regard de la connectivité du paysage, le réaménagement doit se concentrer majoritairement sur l'habitat ciblé par l'enjeu écologique local. Néanmoins, afin de minimiser la fragmentation liée à l'impact de ces réaménagements sur le déplacement des cortèges défavorisés par l'habitat ciblé, nous conseillons de diversifier les réaménagements aux abords du site, orientés vers la création d'habitats complémentaires (i.e. destinés aux espèces de comportement de dispersion opposé aux espèces cibles). De plus, la diversification des milieux est un gage de résilience des écosystèmes de par le soutien à la dynamique des populations et des interactions entre espèces (Polis *et al.*, 2004 ; Fisher *et al.*, 2006). Enfin, cette diversité de milieux peut supporter plusieurs cortèges d'espèces, et ainsi constituer une connectivité multifonctionnelle (i.e. notion de corridor robuste ; Opdam *et al.*, 2008).

Ceci étant, de quelle manière aménager la carrière pour garantir à la fois une connectivité fonctionnelle pour les espèces cibles et d'autres espèces de biologie contrastée ? Nous avons tenté de répondre à cette question sur la base des calibrations de résistances au déplacement. Sur la base des paysages historiques significatifs et des valeurs de résistances obtenues, nous avons calibré la résistance des différents sites de carrières pris isolément les uns des autres. La carrière est alors décrite selon une unique classe d'occupation du sol, correspondant à l'ensemble des surfaces dont les usages ont été impactés par l'exploitation. Cette typologie ne recoupe pas forcément le périmètre administratif : nous incluons des réaménagements qui ne sont plus sous la propriété ou la gestion de l'exploitation, mais nous excluons les réserves foncières dont l'usage n'a pas été modifié par l'activité. En première approche, chacun des sites est alors calibré au regard des valeurs de résistances extrêmes, i.e. $r=1$ ou $r=100$. Nous avons ensuite procédé à une analyse multicritères permettant de tester l'influence des proportions et surfaces de chacun des usages composant le site, afin d'identifier des tendances et seuils éventuels de surfaces sur la dispersion de nos deux espèces cibles. Néanmoins, aucune conclusion n'a pu être tirée de ces analyses. Nous suspectons la question des paysages hyper-dynamiques de brouiller les tendances spatiales. Il serait donc nécessaire de réitérer ces analyses sur la base de données de taux de migration récents.

b. La restauration de zones humides issues des carrières alluvionnaires

Une des particularités de l'extraction de granulat en milieu alluvionnaire se rapporte aux potentialités de création de zones humides (Kovacs, 2001 ; Lefeuvre, 2012). Nous rappelons également que la restauration des continuums de zones humides constitue un enjeu majeur à l'échelle mondiale, et particulièrement en France (Barnaud & Le Bloch, 1998 ; MEDDE 2010a ; MEDDE, 2010b). L'enjeu consiste d'abord à garantir le bon fonctionnement des zones humides à

l'échelle du site pour ensuite mener une reconnexion de ces milieux à l'échelle régionale (voir chapitre III.C.3).

Les zones humides issues de l'exploitation de carrières alluvionnaires sont généralement formées de plans d'eau relativement profonds (de quelques mètres à plusieurs dizaines de mètres dans le cas particuliers de fossés d'effondrement – Alsace, Limagne - ou zones de formation périglaciaire) et rapidement empoissonnés (i.e. empoissonnement d'origine anthropique ou naturelle). Nous rappelons que sur notre échantillonnage, les plans d'eau représentent 97% des surfaces de zones humides. Les fonctionnalités écologique des plans d'eau restent néanmoins limitées, à l'exception du cas des oiseaux d'eau (Santoul *et al.*, 2000, 2009). De plus, ils peuvent constituer une fragmentation (e.g. cas de *B. bufo*). Ainsi, la généralisation de réaménagement sous forme de grand plan d'eau monospécifique doit être évitée. Nous proposons ainsi un réaménagement aboutissant à la création d'une diversité de zones humides dont l'empoissonnement est limité : petits plans d'eau pour les oiseaux d'eau, zones de haut fond, mares et prairies humides pour les autres cortèges d'espèces (Kovacs, 2001). Cette diversité de zones humides constitue un gage de résilience des écosystèmes de zone humide en vue du changement climatique. Ces réaménagements peuvent recourir au comblement partiel du plan d'eau issu de l'extraction par des déchets inertes (e.g. béton, brique, céramique, tuile, terres, bitumes ; voir le décret n° 2010-369 du 13 avril 2010 pour une définition détaillée). Cette procédure est autorisée par l'arrêté ministériel du 24 septembre 1994 et précisé par la circulaire n° 96-52 du 2 juillet 1996, et peut réduire les frais engagés par les travaux d'ingénierie écologique (le remblaiement de déchets inertes pouvant être facturé à 18€/tonne ; ADEME, 2012).

c. Le maintien à long terme des milieux pionniers

Parmi le large éventail de milieux produits par l'exploitation du granulat, les milieux pionniers relèvent sans aucun doute du plus grand intérêt écologique de par leur rareté dans le contexte actuel de conservation des milieux (Van Swaay, 2002). L'intérêt écologique de ces milieux a été abondamment décrit par la littérature (Partie I, chapitre II.B.2), et démontré du point de vue de la connectivité dans la présente thèse (chapitres II, III et IV). Les milieux pionniers sont créés et maintenus durant l'activité d'extraction, et semblent écologiquement fonctionnels en dépit des pressions industrielles qui s'y exercent (exemple du *B. calamita* dans cette présente thèse). Ainsi à court terme, l'activité d'extraction peut constituer une gestion à moindre coût des milieux pionniers. Néanmoins, le maintien à long terme de ces espaces reste problématique en raison de la fermeture naturelle du milieu. Ainsi, deux actions doivent être engagées : (1) le choix du réaménagement et (2) la gestion à long terme des milieux réaménagés.

Tout d'abord, la pérennité des milieux pionniers est clairement un paramètre à prendre en considération dans la réflexion menant à concevoir un projet de réaménagement. Aujourd'hui encore, l'autorité environnementale exige trop souvent l'effacement paysager de la carrière par le remblai de terre végétale et l'aménagement de prairies et/ou de boisements (Stys & Branis, 1999). A contrario, il nous semble fondé de limiter ce type de remblai au strict nécessaire (mise en sécurité) pour maintenir les milieux pionniers en l'état et laisser place aux processus spontanés de succession biologique lorsque le contexte environnemental le permet (i.e. absence de risque d'érosion, de glissement de terrain, de contamination de la ressource en eau ou d'impact paysager traumatisant). L'évolution du milieu naturellement lente voire bloquée en raison de propriétés du sol issu de l'exploitation (e.g. faible réserve utile, faible concentration de nutriments, tassement du sol...) permet de maintenir la présence de milieux pionniers, au moins à court terme. D'un point de vue général, l'absence de réaménagement actif sera préféré en raison de l'intérêt écologique associé aux successions naturelles et son absence de coûts (Prach & Pysek, 2001 ; Prach & Hobbs, 2008 ; Tropek *et al.*, 2010).

Conséquemment au choix du réaménagement (ou à son absence) permettant d'obtenir des milieux pionniers, une attention particulière doit être portée à sa gestion à long terme. D'une manière générale, la conservation des milieux ouverts requiert une gestion par pâturage ou par débroussaillage classique, avec export éventuel de la matière organique. Néanmoins, le maintien de zones humides pionnières telles que celles utilisées par *B. calamita* nécessite un entretien spécialisé requérant l'aménagement de mares artificielles de faible profondeur, bâchées voire bétonnées, associé à un système de vidange saisonnier (Mermod *et al.*, 2010). D'une manière générale, il est préférable de créer ces aménagements dans des secteurs relativement isolés (limitation des dérangements et éloignement des zones de roulement d'engins de chantier). Par ailleurs, la sensibilisation du personnel des exploitations de carrières aux enjeux de la conservation des espèces est aussi une mesure d'accompagnement recommandé.

3. Actions à l'échelle du réseau de sites

Dans le cadre de cette présente thèse, nous avons pu démontrer la capacité d'un réseau de carrières à jouer un rôle structurant pour la connectivité du paysage (parties II, III et IV), et par extension pour la Trame Verte et Bleue. Nous pensons que cette dimension réseau doit être intégrée dans la planification de l'activité à l'échelle régionale. Rappelons que la localisation de l'activité est réglementée par les Schémas Départementaux de Carrières (SDC), bientôt élaborés à l'échelle régionale. De même, les enjeux en termes de connectivité sont décrits à l'échelle régionale au sein de Schémas Régionaux de Cohérence Ecologiques (SRCE). Ainsi, la prise en compte des SRCE par les

SDC permettra d'optimiser la planification des réseaux de carrières en continuum ou pas japonais en fonction du cortège d'espèces ciblé. A l'échelle d'une vallée par exemple, et lorsque la ressource alluvionnaire est étendue, la connectivité de milieux pionniers serait favorisée par une planification de l'exploitation selon un réseau étendu, peu dense en pas japonais plutôt qu'une forte concentration de carrières sur une zone donnée. Par ailleurs, les réseaux de carrières alluvionnaires pourraient être utilement utilisés pour la restauration de l'hydrodynamisme naturel des cours d'eau chenalés : la connexion des plans d'eau partiellement remblayés (e.g. hauts-fonds, prairies humides...) aux cours d'eau par des annexes fluviales artificielles permettrait de recréer un tressage naturel ainsi qu'une connexion des milieux humides associés, favorables à l'ensemble des taxons (Lefeuvre, 2012 ; Goetghebeur, 2013).

4. Carrières et Trame Verte et Bleue : Land sparing ou land sharing ?

Nous avons démontré les potentialités des carrières sur le déplacement du *B. bufo* et du *B. calamita* et proposé des conditions de planification de leur exploitation pour un effet optimal sur la connectivité du paysage. A ce stade de la réflexion se pose la question de l'intégration ou non des carrières dans le zonage de la Trame Verte et Bleue, i.e. au sein du SRCE. Deux options peuvent alors être envisagées : (1) le « land sparing », i.e. la séparation spatiale des activités anthropiques et des milieux naturels (Phalan *et al.*, 2011a, 2011b) ou (2) le « land sharing », i.e. leur intégration (Van Noordwijk *et al.*, 1997 ; Fischer *et al.*, 2008).

Dans le cas général, le « land sparing » semble peu adapté car enlèverait à la Trame Verte et Bleue l'opportunité d'intégrer des réseaux de carrières fonctionnels et (2) désengagerait la profession du granulat des démarches d'amélioration environnementales. Ainsi, nous préconisons le « land-sharing » couplé à une démarche d'évitement, de réduction et voire de compensation lorsque les impacts touchent des milieux à enjeux. Dans le cas particulier l'exploitation menace directement des milieux et espèces à enjeux, le land sparing peut se justifier davantage. Ainsi, nous invitons l'autorité environnementale et la profession à travailler conjointement dans une démarche d'intégration de l'activité d'extraction au sein des SRCE. Cette intégration doit être cohérente avec les enjeux écologiques et économiques aux échelles locales et régionales. Une attention particulière devra être portée à la relation entre les Schémas Régionaux de cohérence Ecologique et des Schémas régionaux de Carrière. Plus largement, nous nous faisons l'avocat de la solidarité écologique, i.e. une gestion intégrée de la biodiversité à l'échelle du territoire, et ce afin de marier définitivement anthropocentrisme et écocentrisme (Mathevet *et al.*, 2011).

E. Valorisation des résultats et poursuite des programmes d'étude

Ce projet de recherche a permis d'apporter des connaissances fondamentales sur le fonctionnement des écosystèmes en carrières, et notamment dans sa composante fonctionnelle, dynamique et paysagère. Ces résultats ont vocation à être valorisés par la profession du granulat sur deux principaux axes.

Axe 1 : la mise en œuvre de mesures concrètes pour la prise en compte de la fonctionnalité de la Trame Verte et Bleue à l'échelle du site et de la planification à l'échelle locale (plan de phasage) et régionale (Schéma Régional des Carrières). Cette mise en œuvre sera supportée par la rédaction d'un guide de bonnes pratiques destiné aux adhérents de l'UNPG, et idéalement par la formation du personnel sur le terrain (e.g. formations gérées par la Charte Environnement des Industries de Carrières).

Axe 2 : Ce projet de recherche s'inscrit dans une démarche d'études plus large initiée par l'UNPG depuis une trentaine d'années. Alors que les précédentes études se concentrent sur les inventaires d'espèces et d'habitats, ce projet ouvre la perspective de l'analyse en intégrant les dimensions de fonctionnalité, de paysage et de dynamique. Ces résultats peuvent ainsi alimenter les futurs thèmes de recherches telles que celui des services écosystémiques. Ce sujet à enjeux pourra notamment être traité dans le cadre d'un projet de recherche réunissant différents acteurs de l'aménagement du territoire tels que les infrastructure linéaires.

Références

- ADEME (2012) Etude sur les prix d'élimination des déchets inertes du BTP. Etude réalisée pour le compte de l'ADEME par PÖYRY SAS. 14pp
- Amsallem J, M Deshayes et M Bonneville (2010) Analyse comparative de méthodes d'élaboration de trames vertes et bleues nationales et régionales. *Sciences Eaux & Territoires* 3 : 40-45.
- Banks B et JC Beebee (1987) Factors influencing breeding choice by the pioneering amphibian *Bufo calamita*. *Holarctic Ecology* 10: 14-21
- Banks B, Beebee TJC, Cooke AS (1994) Conservation of the Natterjack toad *Bufo calamita* in Britain over the period 1970–1990 in relation to site protection and other factors. *Biological Conservation*, 67, 111–118.
- Barnaud G. et Le Bloch F. 1998. Entre Terre et Eau, Agir pour les zones humides, Dossier d'information. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement, Paris, France.
- Beebee TJC, JS Denton et J Buckley (1996) Factors affecting population densities of adult natterjack toads *Bufo calamita* in Britain. *Journal of Applied Ecology*. 33:263-268.
- Berli P, Felsenstein J (1999) Maximum-likelihood estimation of migration rates and effective population numbers in two populations using a coalescent approach. *Genetics*, 152, 763–773.
- Berli P, Felsenstein J (2001) Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 98, 4563–4568.
- Berli, P. 2004. Effect of unsampled populations on the estimation of population sizes and migration rates between sampled populations. *Mol. Ecol.* 13:827–836.
- Berli F (2012) MIGRATE v3.2.1 documentation. <http://popgen.sc.fsu.edu/Migrate/Migrate-n.html>
- Berhe, A. A. 2007. The contribution of landmines to land degradation. *Land Degradation & Development* 18: 1–15. DOI: 10.1002/ldr.754
- Binzenhofer B, Schroeder B, Strauss B et al (2005) Habitat models and habitat connectivity analysis for butterflies and burnet moths—the example of *Zygaena carniolica* and *Coenonympha arcania*. *Biol Conserv* 126:247–259. doi:10.1016/j.biocon.2005.05.009
- Bohonak AJ (1999) Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quarterly Review of Biology*, 74, 21–45.
- Bolliger J, Keller D et R Holderegger (2011) When landscape variables do not explain migration rates: An example from an endangered dragonfly, *Leucorrhinia caudalis* (Odonata, Libellulidae). *Eur. J. Entomol.* 108: 327–330
- Broquet T, Yearsley J, Hirzel AH, Goudet J et N Perrin (2009) Inferring recent migration rates from individual genotypes. *Molecular Ecology* 18 : 1048–1060
- Caro, T. M., Eadie, J. & Sih, A. (2005). Use of substitute species in conservation biology. *Conservation Biology* 19, 1821–1826.
- Clark RW, Brown WS, Stechert R et KR Zamudio (2010) Roads, Interrupted Dispersal, and Genetic Diversity in Timber Rattlesnakes. *Conservation Biology*, Volume 24, No. 4, 1059–1069
- Clements R, Sodhi NS, Schiltuizen M, et KLNG Peter (2006) Limestone Karsts of Southeast Asia: Imperiled Arks of Biodiversity. *BioScience* 56 : 733-742
- Cooke AS (1972) Indications of recent changes in status in the British Isles of the frog (*Rana temporaria*) and the toad (*Bufo bufo*). *Journal of Zoology* 167 : 161-178
- Cooke AS, Oldham RS (1995) Establishment of populations of the common frog, *Rana temporaria*, and common toad, *Bufo bufo*, in a newly created reserve following translocation. *Herpetol* 5:173–180
- Crispo E, Bentzen P, Reznick DN, Kinnison MT, Hendry AP (2006) The relative influence of natural selection and geography on gene flow in guppies. *Molecular Ecology*, 15, 49–62.
- Crooks KR, Sanjayan MA (2006) *Connectivity Conservation: Maintaining Connections for Nature*. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- Crow JF, Aoki K (1984) Group selection for a polygenic behavioral trait – estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences*, 81, 6073–6077.
- Cushman SA, Landguth EL (2010) Scale dependent inference in landscape genetics. *Landscape Ecology*, 25, 967–979.
- Denton J. S. and T. Beebee 1994. The basis of niche separation during terrestrial life between two species of toad *Bufo bufo* and *Bufo calamita*: competition or specialisation? *Oecologia* 97:390-398.
- DFO (Fisheries and Oceans Canada).1986. Policy for the management of fish habitat. Ottawa, Ontario, 28 pp.
- Edmands S (2007) Between a rock and a hard place: evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation and management. *Molecular Ecology*, 16, 463–475.
- Ellegren, H., L. Smeds, R. Burri, P. I. Olason, N. Backström, T. Kawakami, A. Künstner, H. Mäkinen, H. Nadachowska-Brzyska, A. Qvarnström, et al. 2012. The genomic landscape of species divergence in *Ficedula* flycatchers. *Nature* 491:756–760.

- Elshire, R. J., J. C. Glaubitz, Q. Sun, J. A. Poland, K. Kawamoto, E. S. Buckler, and S. E. Mitchell. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE* 6:e19379.
- Epps CW, Wasser SK, Keim JL, Mutayobas BM and Brashares JS (2013) Quantifying past and present connectivity illuminates a rapidly changing landscape for the African elephant. *Molecular Ecology* 22, 1574–1588
- Excoffier, L., M. Foll, and R. J. Petit. 2009. Genetic consequences of range expansions. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40:481–501.
- Fahrig L (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34:487–515
- Faubet, P. & Gaggiotti, O. E. (2008). A new bayesian method to identify the environmental factors that influence recent migration. *Genetics* 178, 1491–1504.
- Fischer J, Lindenmayer DB, et AD Manning (2006) Biodiversity, ecosystem function, and resilience: ten guiding principles for commodity production landscapes. *Front Ecol Environ* 4: 80-86.
- Fischer, J., Brosi, B., Daily, G.C., Ehrlich, P.R., Goldman, R., Goldstein, J., et al. (2008) Should agricultural policies encourage land sparing or wildlife-friendly farming? *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6, 380 – 385
- Goetghebeur P (2013) Exploitation des carrières et hydrodynamisme fluvial. Présentation Agence de l'eau Rhin-Meuse. AG UNICEM Lorraine, 28 juin 2013
- Gonzalez A, Ronce O, Ferriere R, Hochberg ME (2012) Evolutionary rescue: an emerging focus at the intersection between ecology and evolution. *Phil Trans of R Soc- Biol Sci* 368:1610
- Holzhauser SIJ, Ekschmitt K, Sander AC, Dauber J, Wolters V (2006) Effect of historic landscape change on the genetic structure of the bush-cricket *Metrioptera roeseli*. *Landscape Ecology*, 21, 891-899.
- Janin A, Léna JP, Deblois S et P Joly (2012) Use of Stress-Hormone Levels and Habitat Selection to Assess Functional Connectivity of a Landscape for an Amphibian. *Conservation Biology*, Volume 26, No. 5, 923–931
- Kennedy GG et Storer NP (2000) Life systems of polyphagous arthropod pests in temporally unstable cropping systems. *Annual Review of entomology*. 45: 467-493
- King AW et KA With (2002) Dispersal success on spatially structured landscapes: when do spatial pattern and dispersal behavior really matter? *Ecological Modelling* 147 : 23–39
- Kingman, J. F. C. (1982a). The coalescent. *Stochastic Processes and their Applications*, 13(3) :235–248.
- Kingman, J. F. C. (1982b). On the genealogy of large populations. *J. Appl. Probability*, 19A :19–27.
- Klopfstein, K., M. Currat, and L. Excoffier. 2005. The fate of mutations surfing on the wave of a range expansion. *Mol. Biol. Evol.* 23:482–490.
- Kovacs J.C. 2001 Le patrimoine écologique des zones humides issues de l'exploitation des carrières. Etude Ecosphère- Comité Nationale de la Charte Environnement de l'UNPG. 9 septembre 2001.
- Lameed GA and Ayodele AE (2010) Effect of quarrying activity on biodiversity: Case study of Ogbere site, Ogun State Nigeria. *African Journal of Environmental Science and Technology* 4 : 740-750
- Landguth EL, Cushman SA (2010) CDPOP: an individual based, cost-distance spatial population genetics model. *Molecular Ecology Resources*, 10, 156–161.
- Landguth EL, Cushman SA, Schwartz MK, McKelvey KS, Murphy M, Luikart G (2010) Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Mol Ecol* 19:4179–4191
- Lange R, Durka W, Holzhauser SIJ, Wolters V et T Diekötter (2010) Differential threshold effects of habitat fragmentation on gene flow in two widespread species of bush crickets
- Lefeuvre JC (2012) Carrières, biodiversité et fonctionnement des hydrosystèmes. Editions Buchet Chastel, 384 pages.
- Lee-Yaw JA, Davidson A, McRae B et DM Greens (2009) Do landscape processes predict phylogeographic patterns in the wood frog? *Molecular Ecology* 18, 1863–1874
- Lindborg R, Eriksson O (2004) Historical landscape connectivity affects present plant species diversity. *Ecology*, 85, 1840–1845
- Lowe WH et Allendorf FW (2010) What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology* 19, 3038–3051
- Marchi C, Andersen LW, Damgaard C, Olsen K, Jensen TS et Loeschke V (2013) Gene flow and population structure of a common agricultural wild species (*Microtus agrestis*) under different land management regimes. *Heredity* (2013) 111, 486–494
- Manel S & Holderegger R (2013) Ten years of landscape genetics. *Trends in Ecology & Evolution* xx (2013) 1–8
- Mathevet R, Thompson J, Delanoe O, Cheylan M, Gil-Fourrier C et M Bonin (2011) La solidarité écologique : un nouveau concept pour une gestion intégrée des parcs nationaux et des territoires. *Natures Sciences et Société* 18 :424-433
- McRae BH (2006) Isolation by resistance. *Evolution*, 60, 1551– 1561.
- MEDDE (2012) Doctrine relative à la séquence éviter, réduire et compenser les impacts sur le milieu nature. Version modifiée après examen par le comité de pilotage du 6 mars 2012, 9 pp.

- MEDDE (2010a) Les zones humides : un enjeu national – Bilan de 15 ans de politiques publiques. DGALN.96 pp.
- MEDDE (2010b) Plan national d'action en faveur des zones humides. DGALN. 28 pp.
- Mermod M, Zumbach S, Aebischer A, Leu T, Lippuner M et Schmidt B (2010) Notice pratique pour la conservation du crapaud calamite *Bufo calamita*. Centre de coordination pour la protection des amphibiens et des reptiles de Suisse. 2à décembre 2010, 21pp.
- Moré J (1978) The Levenberg-Marquardt algorithm: implementation and theory. *Numerical analysis* 0: 105-117.
- Mota JF, Sola AJ, Dana ED et ML Jimenez-Sanchez (2003) Plant succession in abandoned gypsum quarries in SE Spain. *Phytocoenologia* 33: 13-28
- Murphy MA, Evans JS, Cushman SA, Storfer A (2008) Representing genetic variation as continuous surfaces: an approach for identifying spatial dependency in landscape genetic studies. *Ecography*, 31, 685–697.
- Nosil P, Vines TH, Funk DJ (2005) Perspective: reproductive isolation caused by natural selection against immigrants from divergent habitats. *Evolution*, 59, 705–719.
- Novak J et K Prach (2003) Vegetation Succession in basalt quarries: Pattern on a landscape scale. *Applied Vegetation Science* 6 : 111-116
- Olden JD, Schooley RL, Monroe JB et N Leroy Poff (2004) Context-dependent perceptual ranges and their relevance to animal movements in landscapes. *Journal of Animal Ecology* 73:1190- 1194.
- Opdam P, Pouwels R, van Rooij S , Steingröver E et Vos CC (2008) Setting biodiversity targets in participatory regional planning: introducing ecoprofiles. *Ecology and Society* 13(1): 20.
- Palmer SCF, Coulon A et JMJ Travis (2010) Introducing a 'stochastic movement simulator' for estimating habitat connectivity. *Methods in Ecology & Evolution* doi: 10.1111/j.2041-210X.2010.00073.x
- Pe'er G et S Kramer-Schadt (2008) Incorporating the perceptual range of animals into connectivity models. *Ecological modelling* 213: 73–85
- Pechmann JHK et HM Wilbur (1994) Putting declining amphibian population in perspective: natural fluctuations and human impacts. *Herpetologica* 50 : 65-84
- Polis GA, Power ME et GR Huxel (2004) Food webs at the landscape levels. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA. 548 pp.
- Petren K (2013) The evolution of landscape genetics. *Evolution* 67-12: 3383–3385
- Phalan, B., *et al.*, (2011a). Minimising the harm to biodiversity of producing more food globally. *Food Policy* 36, 562–571.
- Phalan, B., *et al.*, (2011b). Reconciling food production and biodiversity conservation: land sharing and land sparing compared. *Science* 333, 1289–1291
- Phillips BL, Brown GP, Webb JK et R Shine (2006) Invasion and the evolution of speed in toads. *Nature* 439 (16) 803
- Prach K and Pysek P (2001) Using spontaneous succession for restoration of human-disturbed habitats: experience from Central Europe. *Ecol. Eng.* 17, 55–62.
- Prach, K., Hobbs, R.J., 2008. Spontaneous Succession versus technical reclamation in the restoration of disturbed sites *Restor. Ecol.* 16, 363–366.
- Rannap R, Lohmus A, Jakobson K (2007) Consequences of coastal meadow degradation: The case of the natterjack toad (*Bufo calamita*) in Estonia. *Wetl* 27:390–398
- Rayfield B, Fortin MJ et A Fall (2010) The sensitivity of least-cost habitat graphs to relative cost surface values. *Landscape Ecol* 25:519–532
- Reading CJ, Loman J, Madsen T (1991) Breeding pond fidelity in the common toad, *Bufo bufo*. *J Zoo Soc Lond* 225:201–211
- Renaut, S., C. J. Grassa, S. Yeaman, B. T. Moyers, Z. Lai, N. C. Kane, J. E. Bowers, J. M. Burke, and L. H. Rieseberg. 2013. Genomic islands of divergence are not affected by geography of speciation in sunflowers. *Nat. Comm.* 4:1827.
- Riley SPD, Pollinger JP, Sauvajot RM, York EC, Bromley C, Fuller TD et RK Wayne (2006) A southern California freeway is a physical and social barrier to gene flow in carnivores. *Molecular Ecology*. 15: 1733-1741
- Rittenhouse TA, Harper EB, Rehard LR, Semlitsch RD (2008) The role of microhabitats in the desiccation and survival of Anurans in recently harvested oak-hickory forest. *Copeia*, 2008, 807–814.
- Rothermel BB (2004) Migratory success of juveniles: A potential constraint on connectivity for pond-breeding amphibians. *Ecological Applications* 14: 1535- 1546
- Rowe G, Beebee TJC (2005) Intraspecific competition disadvantages inbred natterjack toad (*Bufo calamita*) genotypes over outbred ones in a shared pond environment. *Journal of Animal Ecology*, 74, 71–76.
- Santoul F (2000) L'avifaune aquatique des gravières de la plaine alluviale de la Garonne Dissertation, University of Toulouse III
- Santoul F, Gaujard A, Angélibert S, Mastrorillo S, Céréghino R (2009) Gravel pits support waterbird diversity in an urban landscape. *Hydrobiol* 634:107–114
- Schlupp I, Podloucky R (1994) Changes in breeding site fidelity: a combined study of conservation and behaviour in the common toad *Bufo bufo*. *Biol Cons* 69:285–291

- Schwartz, M., Luikart, G., McKelvey, K. & Cushman, S. (2010). Landscape genomics: a brief perspective. In *Spatial Complexity, Informatics, and Wildlife Conservation* (eds F. Huettmann and S. Cushman), pp. 165–174. Springer-Verlag, Berlin.
- Shirk AJ, Wallin DO, Cushman SA, Rica CG, Warheit KI (2010) Inferring landscape effects on gene flow: a new model selection framework. *Mol Ecol* 19:3603–3619
- Sinsch U (1997) Postmetamorphic dispersal and recruitment of first breeders in a *Bufo calamita* metapopulation. *Oecol* 112:42–47
- Slatkin M (2005) Seeing ghosts: the effect of unsampled populations on migration rates estimated for sampled populations. *Molecular Ecology*, 14, 67–73.
- Spear SF, Balkenhol N, Fortin MJ, McRae BH, Scribner K (2010) Use of resistance surfaces for landscape genetic studies: considerations for parameterization and analysis. *Mol Ecol* 19:3576–3591
- Stevens VM, Polus E, Wesselingh RA, Schtickzelle N, Baguette M (2004) Quantifying functional connectivity: experimental evidence for patch-specific resistance in the natterjack toad (*Bufo calamita*). *Landsc Ecol* 19:829–842
- Stevens VM, Leboulengé E, Wesselingh RA et Baguette M (2006) Quantifying functional connectivity: experimental assessment of boundary permeability for the natterjack toad (*Bufo calamita*). *Oecologia* 150:161–171.
- Stys, S. & Branis, M. (1999) Czech school of land reclamation. *Acta Universitatis Carolinae–Environmentalica*, 13, 99–109.
- Telleria, J. L., E. Virgos, R. Carbonell, J. Perez-Tris, and T. Santos. 2001. Behavioural responses to changing landscapes: flock structure and anti-predator strategies of tits wintering in fragmented forests. *Oikos* 95 :253–264.
- Tropek R, Kadlec T, P Karesova et al. (2010) Spontaneous succession in limestone quarries as an effective restoration tool for endangered arthropods and plants. *Journal of Applied Ecology* 47, 139–147
- USEPA/USACE (U.S. Environmental Protection Agency and U.S. Army Corps of Engineers). 1990. Memorandum of agreement between the Environmental Protection Agency and the Department of the Army concerning the determination of mitigation under the Clean Water Act Section 404(b)(1) guidelines. USEPA, Washington, DC
- Van Noordwijk, M., *et al.*, (1997) To Segregate – Or to integrate: the question of balance between production and biodiversity conservation in complex agroforestry systems. *Agroforest. Today* 9, 6–9.
- Van Swaay CAM. 2002. The importance of calcareous grasslands for butterflies in Europe. *Biological Conservation* 104: 315–318. DOI: 10.1016/S0006-3207(02)00235-5
- Varvio SL, Chakraborty R, Nei M (1986) Genetic-variation in subdivided populations and conservation genetics. *Heredity*, 57, 189–198.
- Voetzel, D., M. Rohaut and M. Arbion 2008. Potentialités écologiques des carrières de roches massives. *Etude UNPG*, 304 pages
- Wang YH, Yang KC, Bridgman CL et LK Lin (2008) Habitat suitability modelling to correlate gene flow with landscape connectivity. *Landscape Ecol* 23:989–1000
- Wang IJ, Savage WK, Shaffer B (2009) Landscape genetics and least-resistance path analysis reveal unexpected dispersal routes in the California tiger salamander (*Ambystoma californiense*). *Mol Ecol* 18:1365–1374
- Whitlock MC, McCauley DE (1999) Indirect measures of gene flow and migration: $F(ST) \approx 1/(4Nm + 1)$. *Heredity*, 82, 117–125.
- Wilson GA, Rannala B. 2003. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics* 163: 1177–1191.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16:97–157.
- Zeller KA, McGarigal K, Whiteley AR (2012) Estimating landscape resistance to movement: a review. *Landsc Ecol* 2012;27(6):777 – 97
- Zellmer AJ and Knowles LL (2009) Disentangling the effects of historic vs. contemporary landscape structure on population genetic divergence. *Molecular Ecology* 18, 3593–3602

Annexes

Liste des Annexes

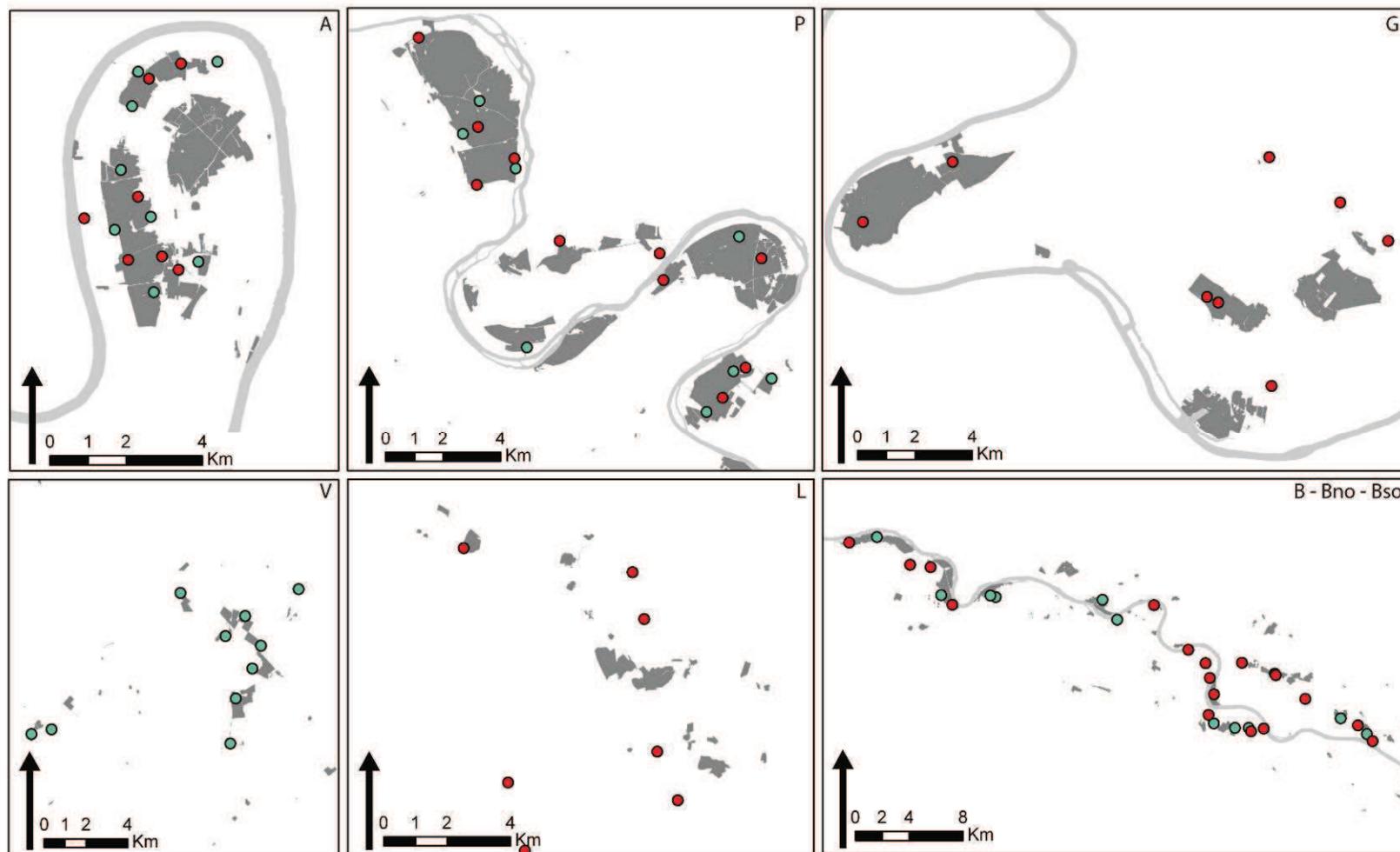
Annexe 1 : Echantillonnage

Annexe II : Cartographie historique des sites d'étude

Annexe III : Modélisation des résistances avec CIRCUITSCAPE

Annexe I : Echantillonnage

Nous présentons ici la localisation des sites d'échantillonnage (*B. bufo* : points rouges ; *E. calamita* : points bleus) au regard de la configuration des carrières (surfaces grisées) sur nos différents sites d'étude.



Choix des zones d'étude

Le choix des zones d'étude est conditionné par des contraintes méthodologiques présentées succinctement au sein de la partie I, et développée davantage ci-dessous au travers l'exemple de la sélection de zones d'études en Ile-de-France (Sources : Etude de faisabilité du projet de recherches « Carrières et connectivité », Flavenot 2010).

Méthode

1. Critère de sélection 1 : Isolement de l'effet de la carrière en termes de connectivité

Les flux de gènes mesurés aux abords des carrières seront comparés aux flux de gènes observés en l'absence de tout élément fragmentant. En fonction de l'écart entre ces valeurs seront déduits la nature de l'effet des carrières sur la connectivité : effet défavorable si les flux de gènes mesurés sont significativement inférieurs, favorable si les flux de gène sont identiques ou significativement supérieurs.

A l'échelle du territoire, les flux de gènes doivent donc suivre des tendances normales et ne doivent pas être perturbés par d'autres facteurs telles qu'un fort taux d'urbanisation ou une accumulation d'infrastructures linéaires (*Hyla arborea* : Pellet *et al.* 2004, Dubey 2009). De plus, nous cherchons à analyser l'effet seul de la carrière en termes de connectivité et non celui cumulé lié aux autres éléments fortement fragmentant du paysage (autoroutes, tissu urbain, réseau fluvial). Pour ces deux raisons, la carrière étudiée sera issu d'un territoire préférentiellement peu urbanisé (taux d'imperméabilisation <15 % dans un rayon de 500 m autour de la carrière, d'après Pellet *et al.* 2004) et ne devra pas être enclavé dans une matrice comportant des éléments fortement fragmentant dans un rayon égal à la distance de dispersion maximale de l'espèce considérée (e.g. nationale 2*2 voies, autoroutes et réseau fluvial).

2. Critère de sélection 2 : Présence de l'espèce cible

L'espèce cible doit évidemment être présente dans l'environnement proche de la carrière et éventuellement au sein même de la carrière. La distance maximale admise séparant la population environnante de la carrière est fonction de l'espèce : elle sera égale à la distance de dispersion maximale de l'espèce observée dans la littérature. Afin de mesurer d'éventuels flux de gènes entre population, la carrière doit être géographiquement encadrée par au minimum deux populations (voir Encadré 2, Fig. 18). Les données informant de la présence des espèces cibles sont alimentées par les institutions naturalistes (e.g. Société Herpétologique de France pour la classe des amphibiens et des reptiles), les inventaires issus des études d'impact ICPE de carrières et les associations locales de protection de la Nature.

3. Critère de sélection 3 : Sélection conforme aux niveaux de stratification

A partir du moment où est fixée la variable principale à tester, différents niveaux de stratification seront déclinés. Par exemple, si nous choisissons de tester la variable « superficie » de la carrière, les niveaux de stratification seront les différentes superficies que peut recouvrir une carrière. Dans ce cas, un exemple de stratification à 4 facteurs serait de prendre les superficies de [0-24] ha, [25-49] ha, [50-75] ha et >75 ha. Par la suite, il sera nécessaire d'obtenir le même nombre de sites à échantillonner pour chaque facteur de stratification.

4. Critère de sélection 4 : Sélection conforme aux variables de contrôle

Il est d'autant plus aisé de tester un paramètre de la carrière si les autres paramètres ne varient pas. Une fois la variable principale fixée, il sera nécessaire de contrôler les autres variables. Ces variables sont appelées variables de contrôle. Dans un but de généralisation évident, leur valeur sera à fixer en fonction des situations les plus fréquemment rencontrées sur l'hexagone.

Résultats

1. Critère de sélection 1 : isolement de l'effet de la carrière en termes de connectivité

Il est tout d'abord nécessaire de fixer l'échelle spatiale à laquelle peuvent s'observer des flux de gènes entre individus, et en particulier de fixer la distance de dispersion maximale des deux espèces cibles. D'une part, des observations notent cette distance respectivement à 5000 m et 4400 m pour *Bufo bufo* et *Bufo calamita* (Miaud *et al.* 2000). Cependant ces distances sont le plus souvent sous-estimées de part l'échelle d'étude (Trochet 2010, communication orale). Ainsi, Smith et Green (2005) proposent de fixer à 10 km l'échelle d'étude des amphibiens, échelle reprise également par Stevens *et al.* (2006b) pour *Bufo calamita*. Nous suivons donc cette option en fixant à 10 km la dispersion maximale de nos deux espèces cibles.

De ce fait, les zones d'études seront constituées des réseaux de carrières et à la zone de rayon 10 km entourant chaque site d'extraction (voir Fig. 22). En Ile-de-France, les 20 centres de production de roche meuble recensés (UNP 2010) se répartissent selon 50 sites d'extraction distincts (correspondant aux surfaces autorisées). Sans tenir compte des éléments fragmentant, l'ensemble de ces sites constituent 9 réseaux de carrière (voir Fig. 21 pour l'identification d'un réseau de carrières). Ensuite, les zones enclavées dans un rayon de 10 km par des éléments fragmentant forts tels qu'un réseau fluvial, un réseau routier large (2*2 voies ou plus) ou caractérisés par une urbanisation importante (>15 % dans le rayon des premiers 400 m) ont été éliminées. Il reste ainsi un total de 43 sites de roches meubles pour l'Ile de France, répartis selon 20 réseaux de densité variable.

Étant donné la faible représentativité des différents types de configuration, nous avons élargi l'étude aux carrières de sables industriels dont les caractéristiques des sites d'extraction et les pratiques d'exploitation s'apparentent aux carrières de roche meuble. Les tableaux 8 et 9 présentent les caractéristiques des réseaux d'étude retenus.

Tableau 1 : Synthèse de l'échantillon de réseaux d'étude potentiels.

Type de configuration	Nombre de réseaux d'étude	Densité min	Densité max	Densité moyenne	Ecart type
Réseau isolé	12	0,003	0,029	0,0127	0,0096
Réseau « 2-3 carrières »	10	0,009	0,045	0,0208	0,012
Réseau mosaïque	0				
Réseau linéaire	1	0,016	0,016	0,016	-

Nous obtenons une majorité de configurations de réseaux présentant peu de carrières (« carrières isolées » et « 2-3 carrières »). Ceci s'explique d'abord par le fait que les carrières en activité sont relativement distantes les unes des autres. D'autre part, l'importance des éléments fragmentant du paysage (réseau hydrographique) morcelle les réseaux potentiels en réseaux de plus petite taille. A titre d'exemple, la zone alluvionnaire de La Bassée (Seine-et-Marne) concentre à elle seule 16 sites d'extraction en activité distants de moins de 10 km. Néanmoins, la prise en compte du réseau hydrographique et du réseau autoroutier amène à ne retenir que 4 réseaux de 3 carrières ou moins (voir Tab.9, 2_RME_4, 2_RME_5, 2_RME_6 et 3_RME_1).

Tableau 2 : Liste des réseaux d'études potentiels et de leur caractéristiques : N sites prod = nombre de sites de production ; Stot sites prod = surface totale des sites de production au sein du même réseau ; S réseau = surface totale du réseau d'étude. La cartographie des différents réseaux est présentée en Annexe III.

Cas de figure	Nom réseau d'étude	N sites prod	Stot sites prod (ha)	S réseau (km ²)	Densité N/S (km ²)	Mode d'exploitation
Isolé	1_RME_1	1	28,7	304	0,003	Sablon, hors eau
	1_RME_2	1	49,2	197,7	0,005	Sablon, hors eau
	1_RME_3	1	197	118,1	0,008	Sablon, hors eau
	1_RME_4	1	66,5	173,3	0,006	Sablon, hors eau
	1_RME_5	1	11,9	38,9	0,026	Sablon, hors eau
	1_RME_6	1	1380,8	34	0,029	Alluvionnaire, en eau
	1_RME_7	1	32	35,2	0,028	Alluvionnaire, en eau
	1_RME_8	1	13,1	80	0,012	Sablon, hors eau
	1_RME_9	1	226,2	190	0,005	Sablon, hors eau
	1_RME_10	1	65,6	113	0,009	Sablon, hors eau
	1_RME_11	1	11,5	66,7	0,015	Sablon, hors eau
	1_RME_12	1	28,1	166	0,006	Sablon, hors eau
2-3 carrières	2_RME_1	2	5070	200,9	0,010	Sablon, hors eau
	2_RME_2	2	1077,7	72	0,028	Alluvionnaire, en eau
	2_RME_3	2	782,3	57,3	0,035	Alluvionnaire, en eau
	2_RME_4	2	552,6	144,9	0,014	Alluvionnaire, en eau
	2_RME_5	2	153,6	95,7	0,021	Alluvionnaire, en eau
	2_RME_6	2	859,1	97,1	0,021	Alluvionnaire, en eau
	2_RME_7	2	110,9	228,1	0,009	Sablon, hors eau
	3_RME_1	3	263,6	65,9	0,045	Alluvionnaire, en eau
	3_RME_2	3	66,3	323	0,009	Sablon, hors eau
	3_RME_3	3	482,5	187,7	0,016	Alluvionnaire, en eau
Réseau linéaire	5_RME_1	5	1961,3	317	0,016	Sables industriels

Bien que corrélée au nombre de carrières, la densité d'une configuration « carrière isolée » peut être plus importante que celle d'une configuration « 2-3 carrières » ; cette observation s'explique par la présence des éléments fragmentant qui réduisent la surface potentielle du réseau.

Enfin, et conformément aux attentes, les réseaux comportant 2 carrières ou plus sont principalement constitués de carrières alluvionnaires. En effet, le gisement alluvionnaire est restreint aux plaines alluviales, concentrant ainsi ce type d'exploitation à des zones de relativement faible étendue.

Le présent échantillon n'est pas représentatif pour les configurations de type « réseau linéaire et réseau mosaïque ». Un minimum de 3 réplifications par type de configuration est en effet requis.

2. Présence de l'espèce cible

L'information de la présence de l'espèce cible en Ile-de-France repose sur la base d'inventaires provenant de sources variées : professionnels du granulat, institutions scientifiques (Muséum National d'Histoire Naturelle : Service du Patrimoine Naturel), associations naturalistes (Société Herpétologique de France, Association des Naturalistes de la Vallée du Loing), collectivités (Institut d'Aménagement et d'Urbanisme Ile-de-France) et indépendants. La précision de la localisation des observations est variable (de la localisation GPS au lieu dit, voir à la commune). Dans le cas où seule la localisation communale est renseignée, nous avons croisé ces communes avec l'inventaire des mares réalisé par l'Institut d'Aménagement et d'Urbanisme Ile-de-France (Cauchetier et Féral 1999). Les mares retenues sont ensuite identifiées comme la localisation de populations potentielle pour l'espèce considérée. Ces mares seront désormais appelées mares potentielles. Le tableau 10 suivant présente l'abondance de populations d'espèces cible au sein des réseaux potentiels d'études (site d'extraction et zone tampon de 10 km, éventuellement contraint par les éléments fragmentant).

Aucun réseau ne comporte suffisamment de populations avérées pour garantir une analyse efficace des flux de gènes. Ceci s'explique principalement par la faible quantité d'informations d'inventaire et du peu d'exhaustivité des bases de données collectées jusqu'alors. Ce manque de données touche particulièrement le cas du Crapaud calamite, espèce pour laquelle la Société Herpétologique de France possède des données restreintes au Parc de la Courneuve. Ceci peut être dû au fait que la répartition francilienne du Crapaud calamite se cantonne essentiellement aux milieux pionniers, et plus particulièrement aux carrières. Hors, les inventaires de carrière sont encore peu connus car issus généralement d'études d'impact ICPE confidentielles. En effet, la formalisation d'inventaires spécifiques aux carrières n'a émergée que très récemment (e.g. Association des Naturalistes de la Vallée de Loing, programme Roselière). Enfin, la région Ile-de-France étant particulièrement urbanisée, les populations d'amphibiens peuvent y être particulièrement rares et fragmentées, rendant difficile l'identification de réseaux de populations.

Tableau 3 : Présence des populations d'espèces cibles au sein des réseaux potentiels d'étude (Sources non citées).

Cas de figure	Nom réseau potentiel	Nombre total de mares	Crapaud calamite		Crapaud commun	
			Nombre de mares potentielles	Nombre d'observations avérées	Nombre de mares potentielles	Nombre d'observations avérées
Isolé	1_RME_1	431	0	0	0	0
	1_RME_2	333	0	0	0	0
	1_RME_3	141	0	0	0	0
	1_RME_4	73	0	0	0	0
	1_RME_5	22	0	0	1	0
	1_RME_6	49	0	0	0	0
	1_RME_7	47	0	0	0	1
	1_RME_8	137	0	0	69	0
	1_RME_9	318	0	0	0	0
	1_RME_10	168	0	0	0	0
	1_RME_11	181	0	0	120	0
	1_RME_12	115	0	0	2	0
2-3 carrières	2_RME_1	110	0	0	8	0
	2_RME_2	29	0	0	2	0
	2_RME_3	56	0	0	0	0
	2_RME_4	404	0	0	176	0
	2_RME_5	97	0	0	4	0
	2_RME_6	89	0	1	0	0
	2_RME_7	112	0	0	6	0
	3_RME_1	173	0	0	15	0
	3_RME_2	266	0	0	17	0
3_RME_3	48	0	1	3	1	
> 5 carrières mosaïque	-	-	-	-	-	-
> 5 carrières linéaire	5_RME_1	137	0	0	0	0

La cartographie des réseaux potentiels d'étude est présentée dans l'Annexe 2.

Conclusion

23 réseaux de roche meuble et sables industriels ont été identifiés sur l'Île-de-France. Cet échantillon important n'est cependant pas représentatif de l'ensemble des configurations susceptibles d'être testées, la majorité des réseaux présentant un faible nombre de sites d'extraction et une faible densité. Le plan d'échantillonnage n'est donc pas complet. De plus, trop peu de données d'inventaire ont été collectées, ce qui rend ici impossible toute formalisation du plan d'expérience.

Discussion

Tout d'abord, il faut souligner la difficile identification des sites de carrière éloignés d'éléments fortement fragmentant. D'un point de vue du gisement, les carrières alluvionnaires sont généralement disposées longitudinalement au cours d'eau. Il n'est pas possible alors de s'affranchir de l'axe fluvial. Ce cas doit essentiellement être étudié selon les flux de gènes longitudinaux au cours d'eau (Fig. 25a). Cette question n'est pas soulevée dans le cas de carrières de sables tertiaires et des carrières de roche massive pour lesquelles les flux de gènes peuvent être étudiés de manière multidirectionnelle.

Cependant, toute carrière se situe généralement proche de grandes infrastructures de communication pour cause de facilité de transports de granulats (Fig. 25b), rendant difficile l'isolement de l'effet carrière par rapport à ces éléments fragmentant. La place de ces éléments est d'autant plus importante que l'Ile-de-France est une région fortement urbanisée.

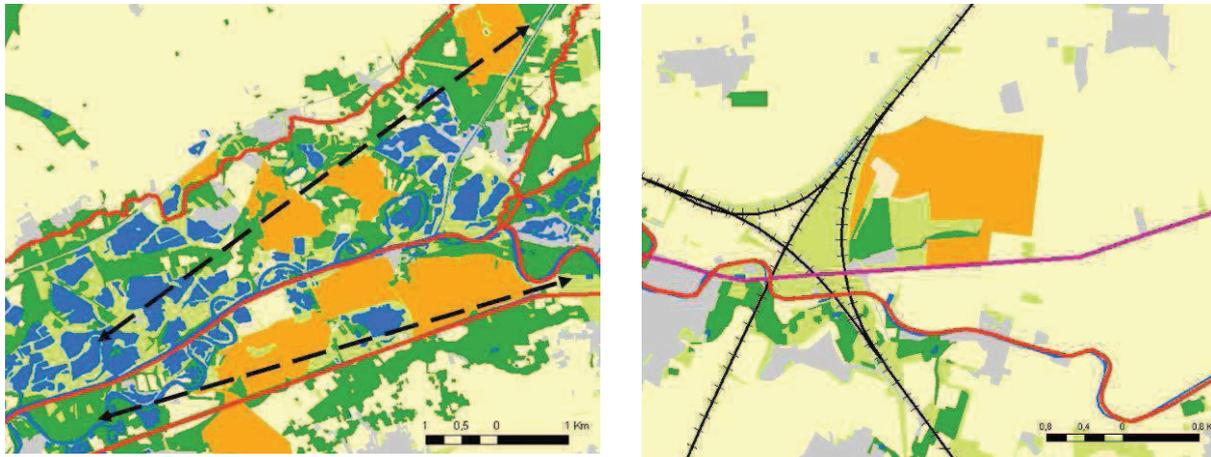


Figure 1 : (a) Structuration longitudinale des réseaux des carrières alluvionnaires (orange) le long des axes fluviaux (rouge) (b) : Structuration de l'environnement de la carrière par des grandes infrastructures de transport (ferré : tracé noir, autoroutier tracé violet, fluvial : tracé rouge). (Vert foncé : couvert arboré ; vert clair : couvert herbacé ; beige : espace agricole ; gris : espace urbain ; bleu : couvert en eau permanente. Sources : IAU IDF : MOS 2008, réseau ferré, réseau routier, réseau hydrographique).

L'importance des éléments fragmentant a ainsi rendu impossible l'analyse de 7 réseaux potentiels de roche meuble, ce qui ne signifie en rien que ces réseaux ne sont pas fonctionnels pour les espèces cibles considérées. D'autre part, ces réseaux confinés par les éléments fragmentant peuvent être fonctionnels pour certaines espèces susceptibles de s'affranchir de ces éléments (e.g. oiseaux).

Pour finir, le plan d'expérience n'a pas pu être finalisé car un trop faible nombre de populations d'amphibien a été identifié sur les réseaux potentiels. Ceci peut provenir du fait que les espèces cibles sont très peu abondantes sur nos zones d'étude. Cependant, il semble que ce constat ait principalement pour origine la faible quantité de données collectées au cours du stage. Les données issues des carrières en activité ont été d'autant plus rares en raison de la timide contribution de la profession du granulat à la constitution de la base de données régionale. De plus, il apparaît que la base de données proposée par la SHF intègre relativement peu d'inventaires réalisés par d'autres structures, des inventaires naturalistes ponctuels aux structures institutionnalisées (e.g. Système d'Information sur la Nature et les Paysages). En réponse, un effort particulier devra être mis en œuvre afin de solliciter davantage les professionnels du granulat. De plus, une prospection systématique de l'ensemble des sources de données doit être réalisée. A ce titre, la base de données régionale du Système d'Information sur la Nature et les Paysages sera prioritairement étudiée.

Annexe II : Cartographie historique des sites d'étude

Légendes

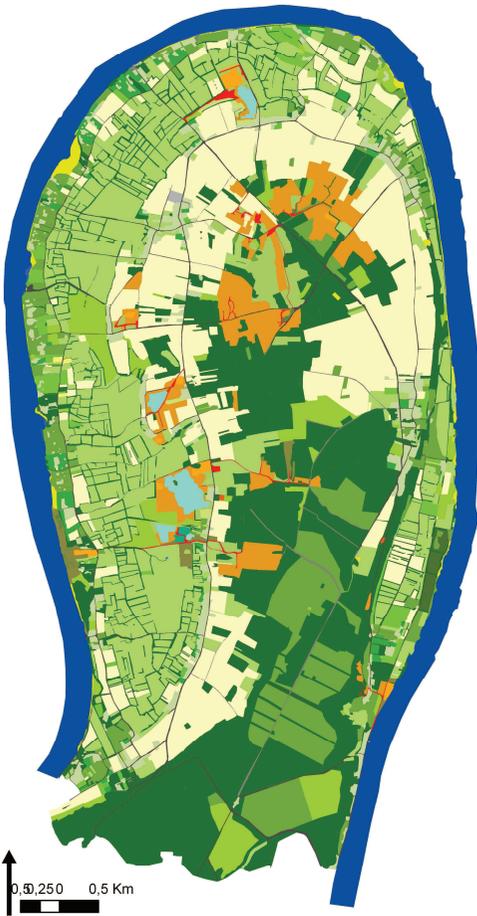
	Boisement dense		Réseau ferré		Carrière - bassin de décantation
	Sol nu		Nationale, autoroute		Carrière - surfaces terrestres en extraction
	Terre labourée		Route goudronnée		Carrière - décharge
	Prairie		Chemins non goudronnés		Carrière - zone humide
	Verger		Pelouse jardinée		Carrière - lande herbacée
	Maraîchage		Parc arbustif		Carrière - lande arbustive
	Serre		Carrière - installation de traitement		Carrière - voirie non goudronnée
	Eaux fermées		Carrière - boisement dense		Carrière - urbain diffu
	Cours d'eau mineur		Carrière - sol nu		Carrière - urbain dense
	Décharge		Carrière - terre labourée		Carrière - réseau ferré
	Cours d'eau majeur		Carrière - prairie		Carrière - nationale, autoroute
	Zone humide		Carrière - verger		Carrière - route goudronnée
	Lande herbacée		Carrière - maraîchage		Carrière - chemin non goudronné
	Lande arbustive		Carrière - serres		Carrière - pelouse jardinée
	Urbain diffu		Carrière - eaux fermées		Carrière - parc arbustif
	Urbain dense		Carrière - cours d'eau		

Site A

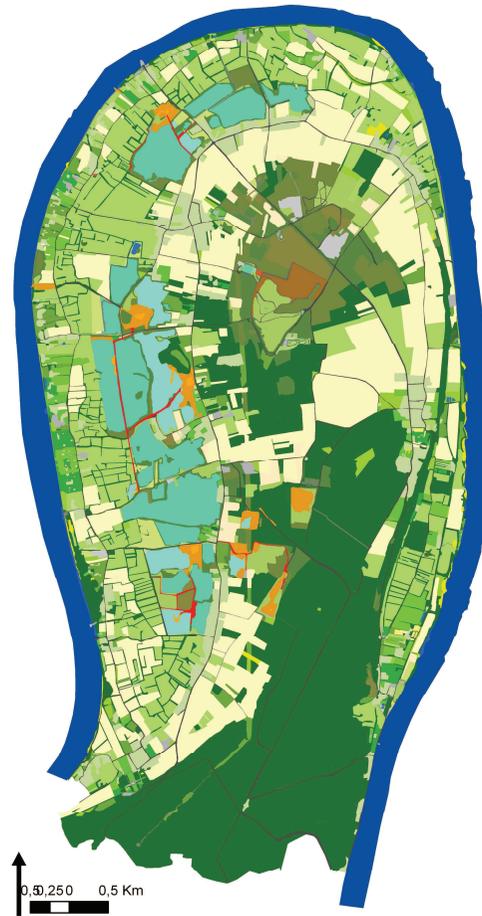
Années 1940

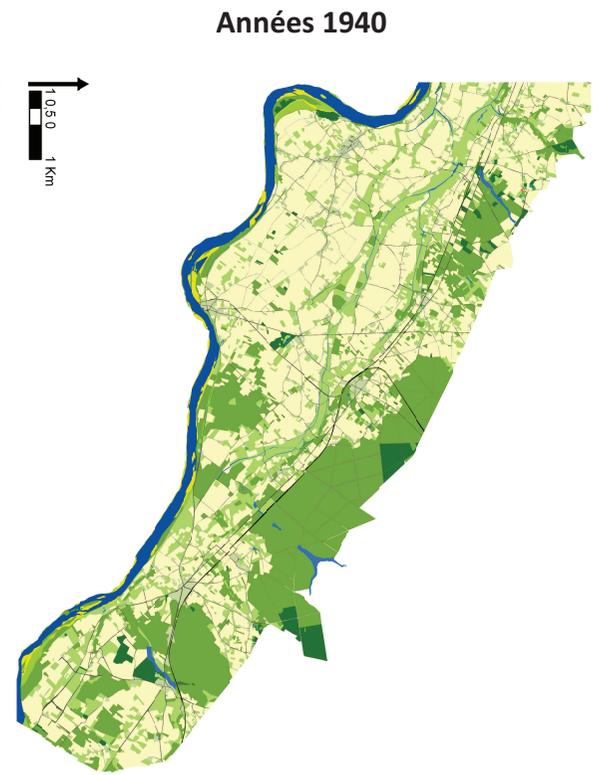
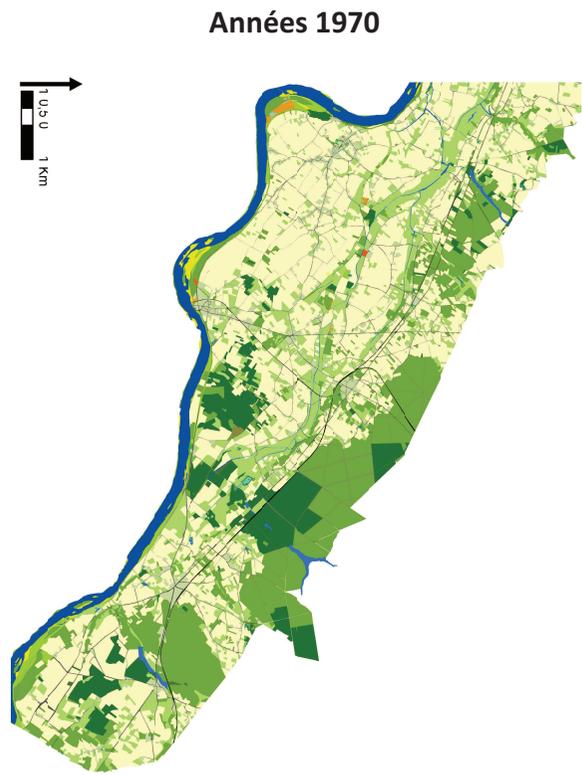
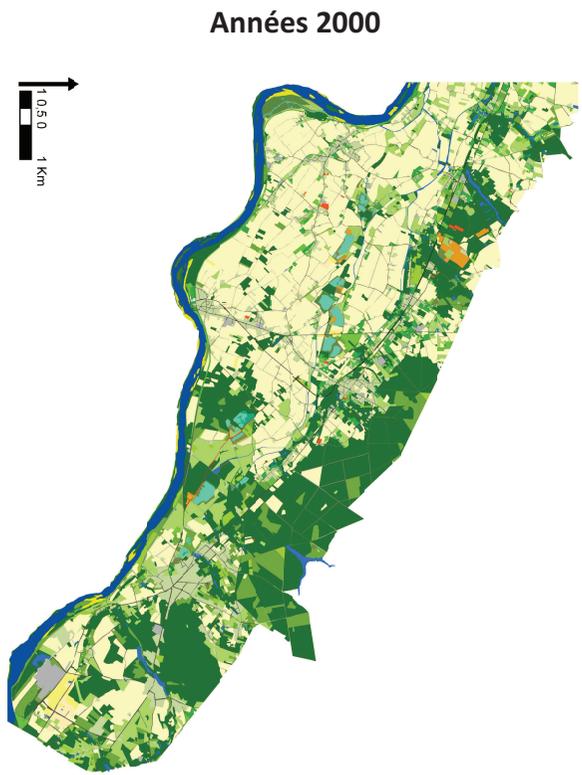


Années 1970



Années 2000

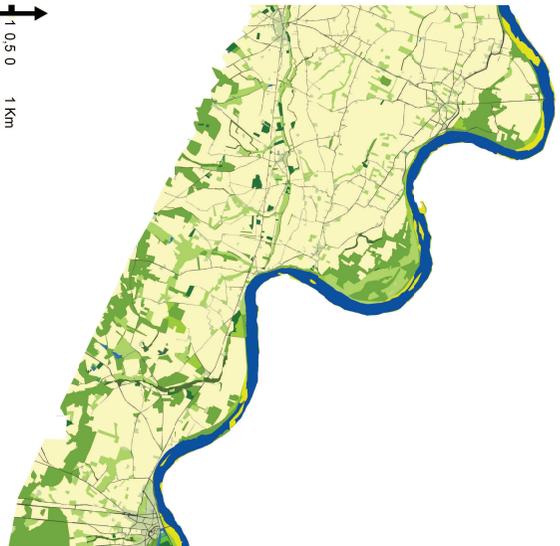




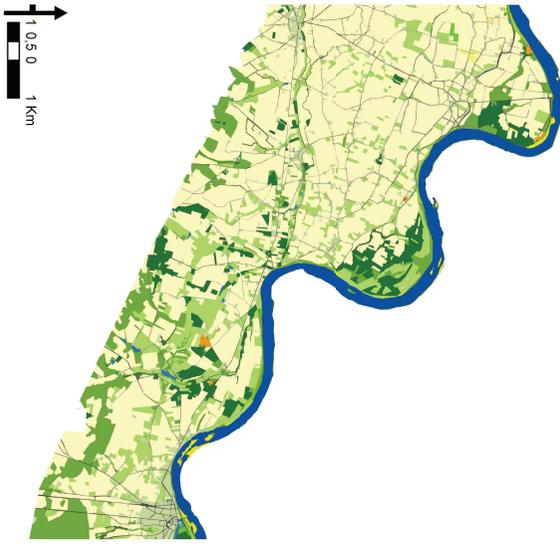
Site Bno

Site BSo^b

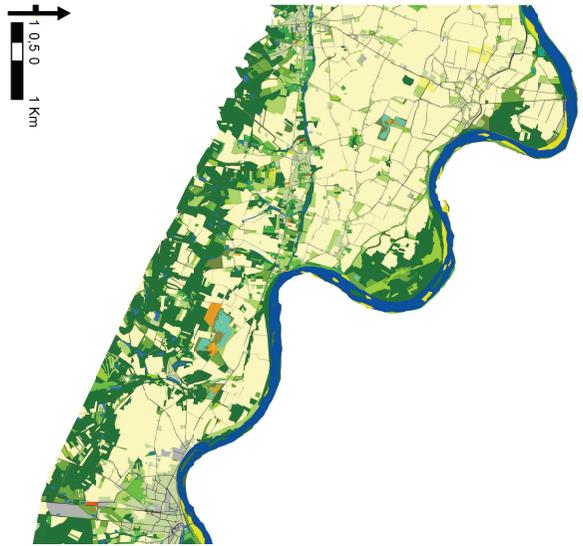
Années 1940



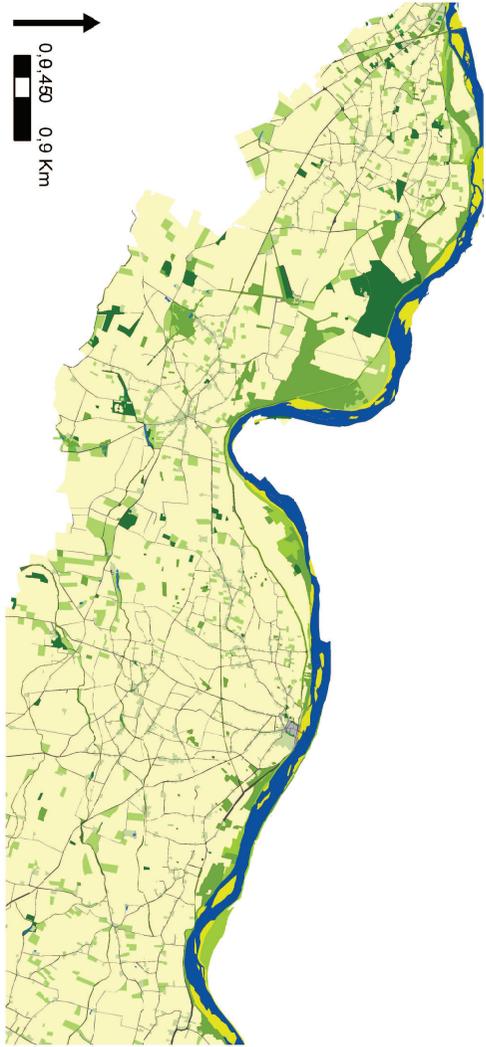
Années 1970



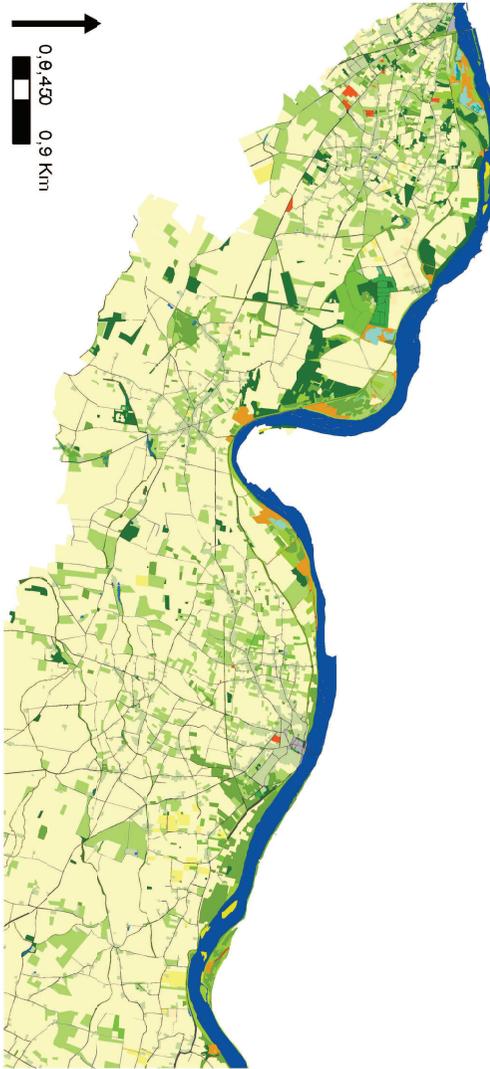
Années 2000



Années 1940

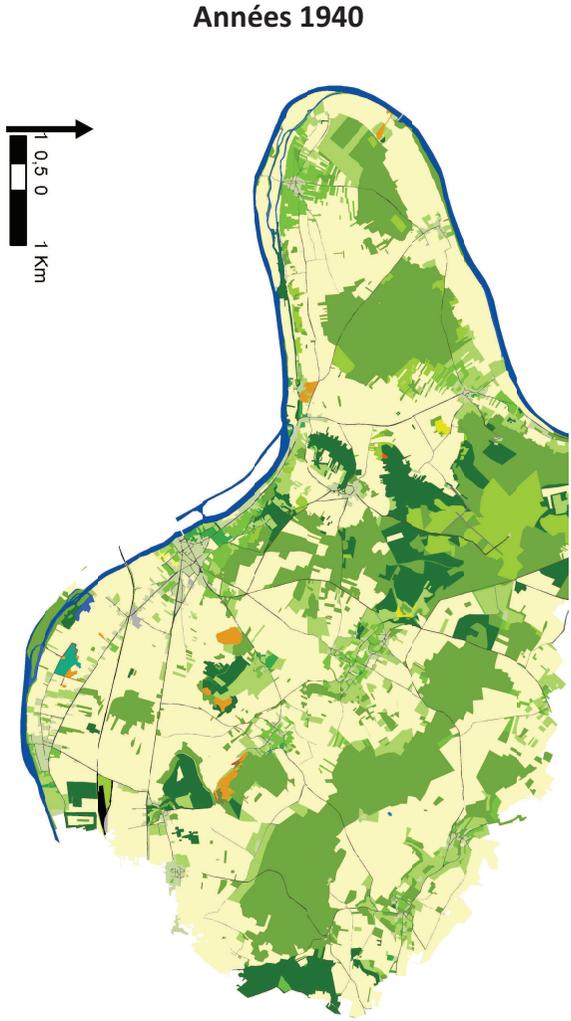
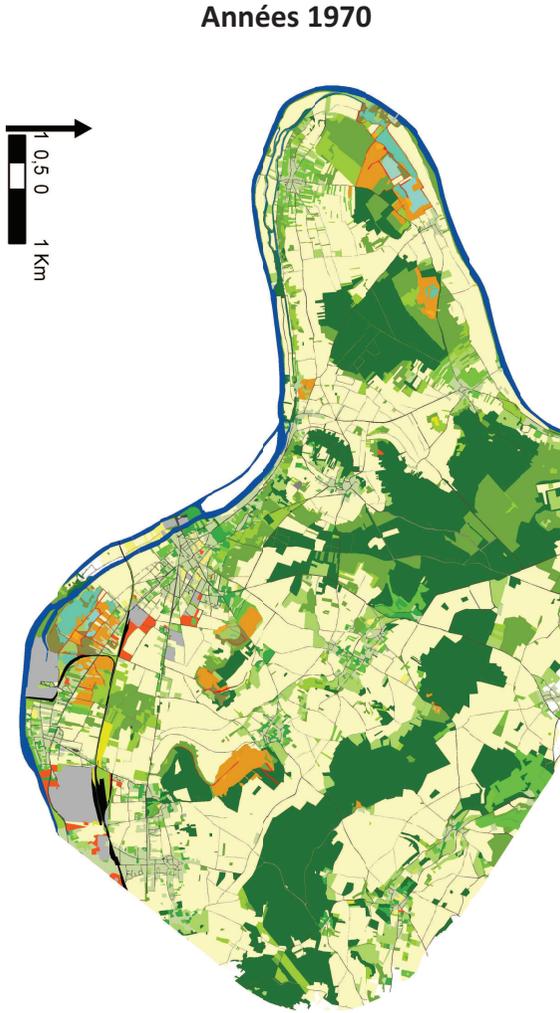
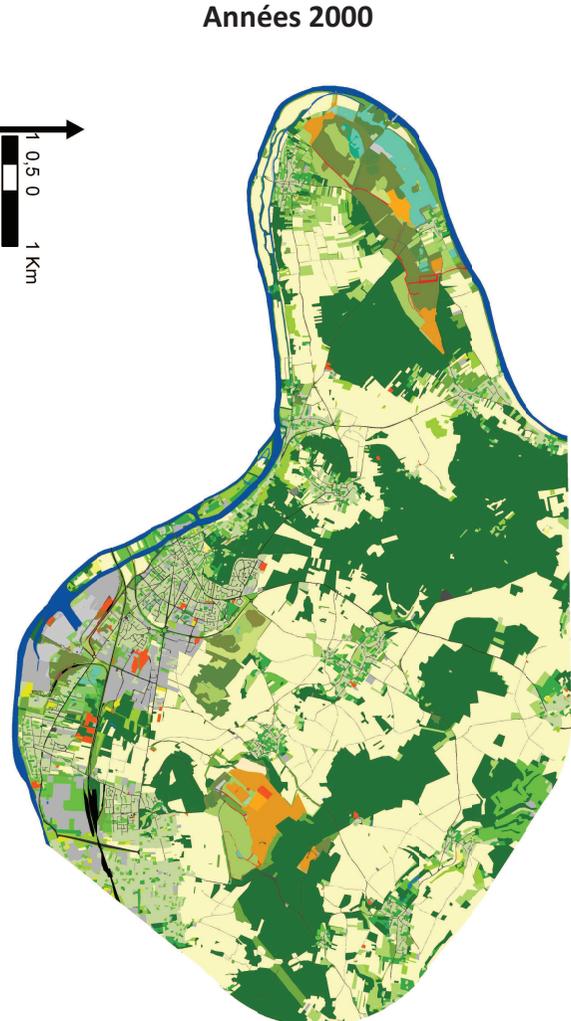


Années 1970



Années 2000

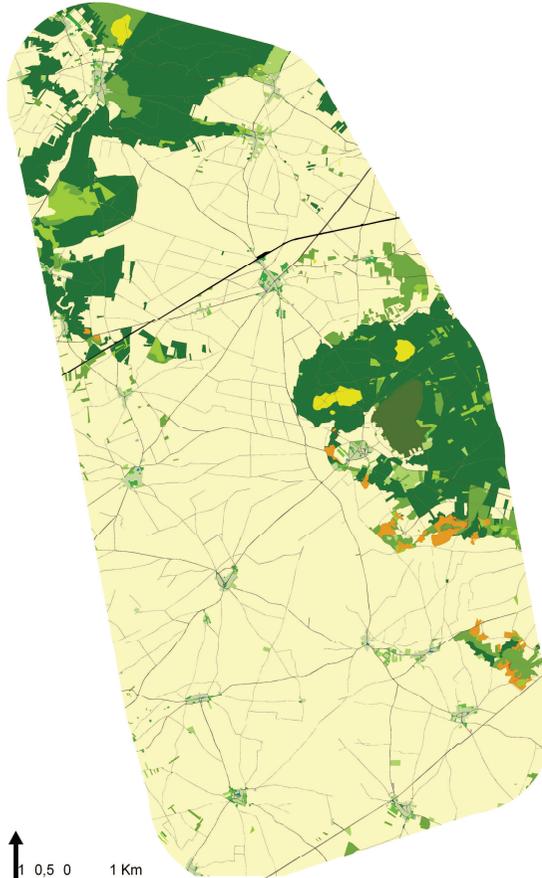




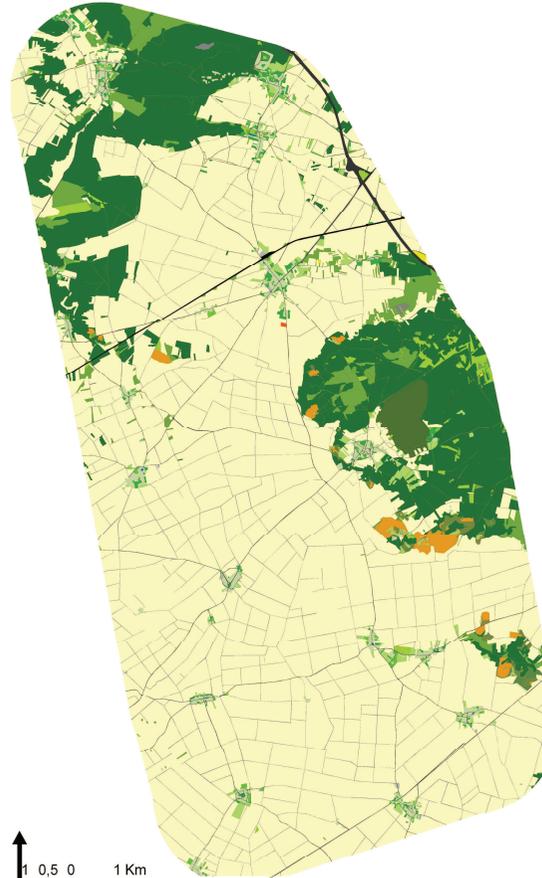
Site G

Site L

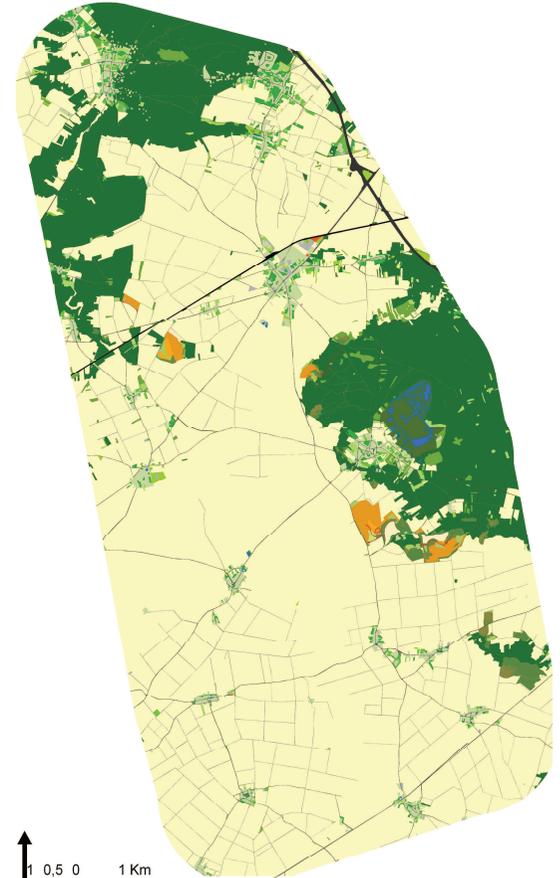
Années 1940



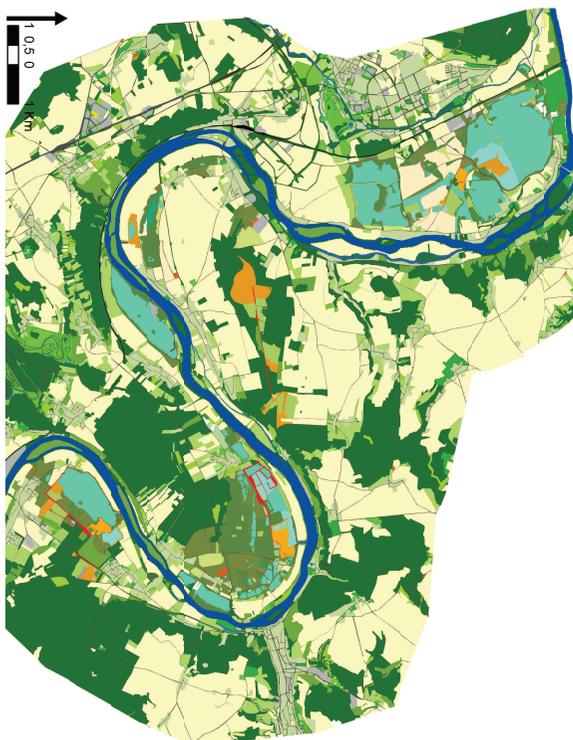
Années 1970



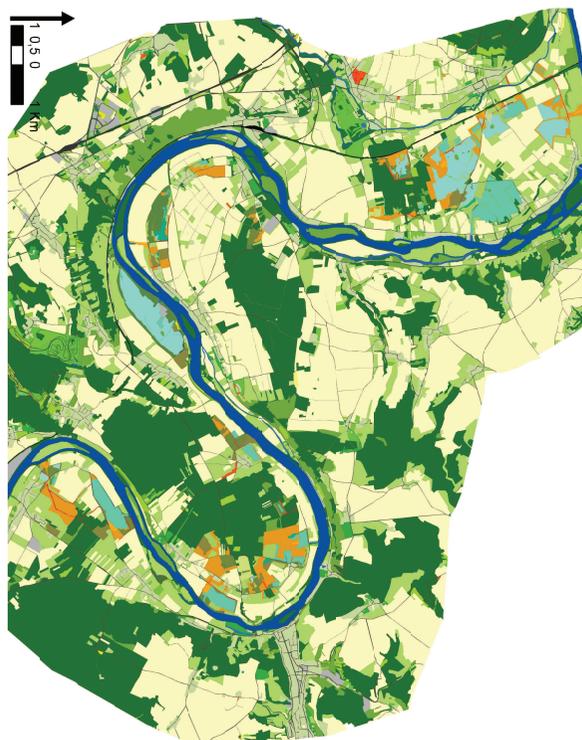
Années 2000



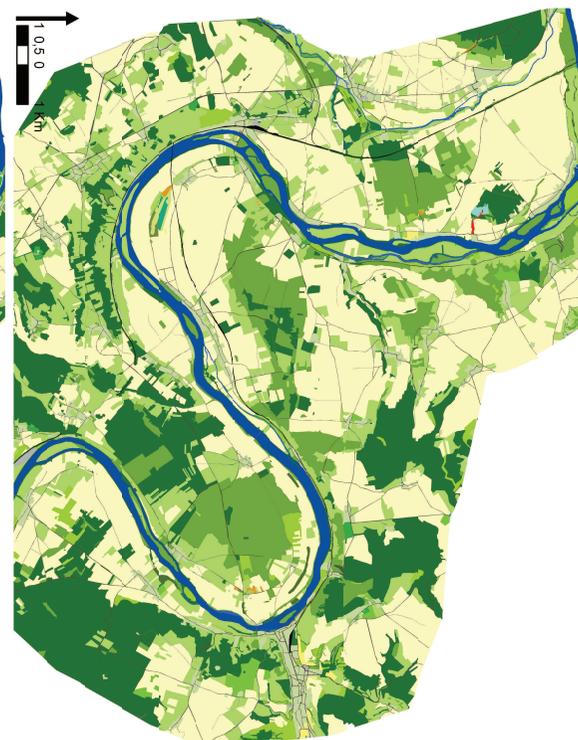
Années 2000



Années 1970

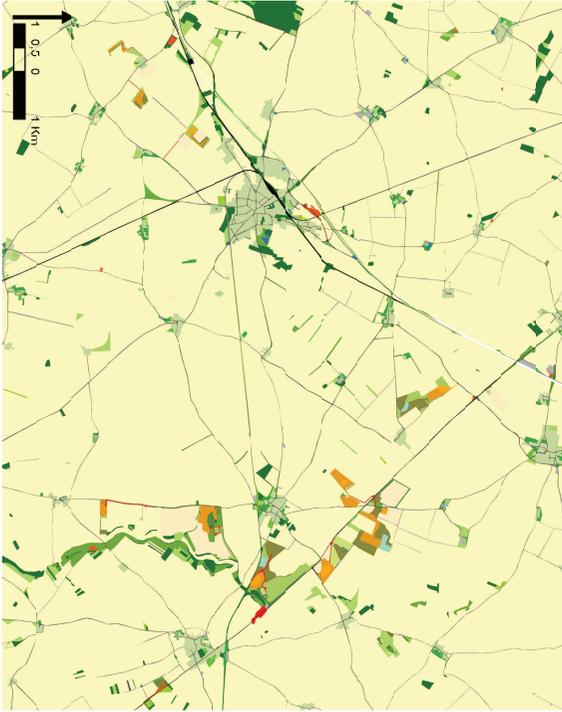


Années 1940

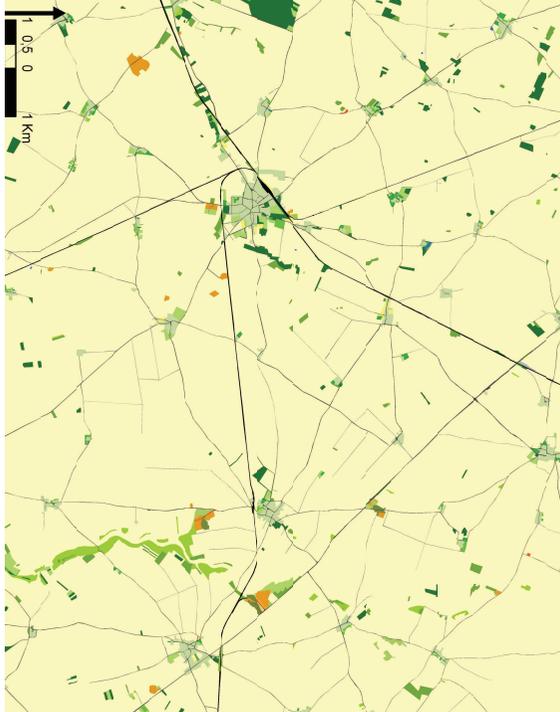


Site P

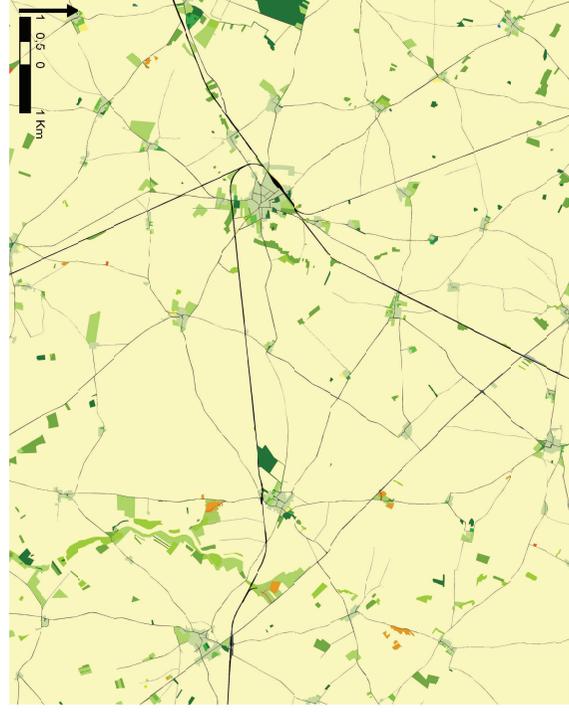
Années 2000



Années 1970



Années 1940

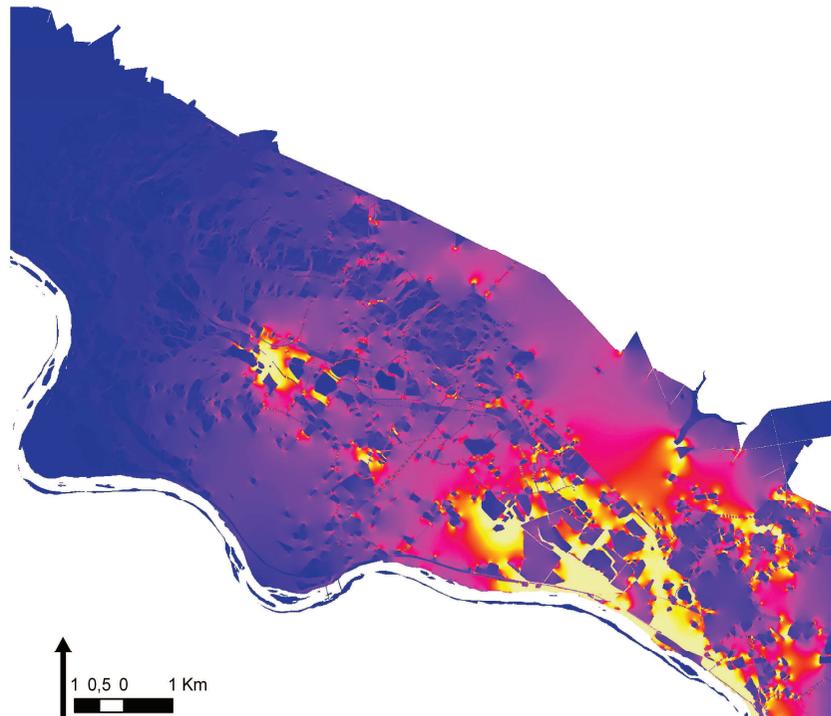
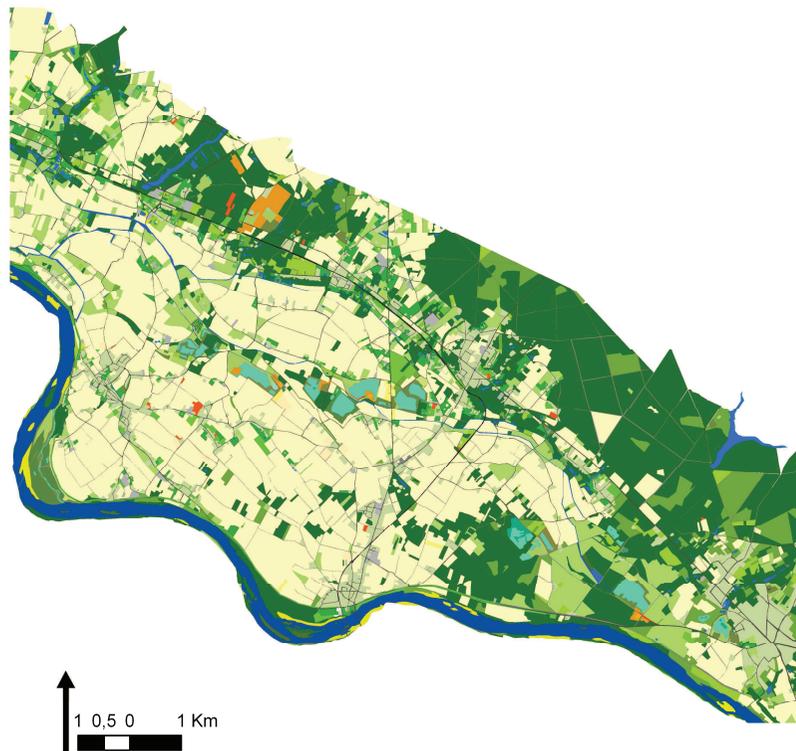


Site V

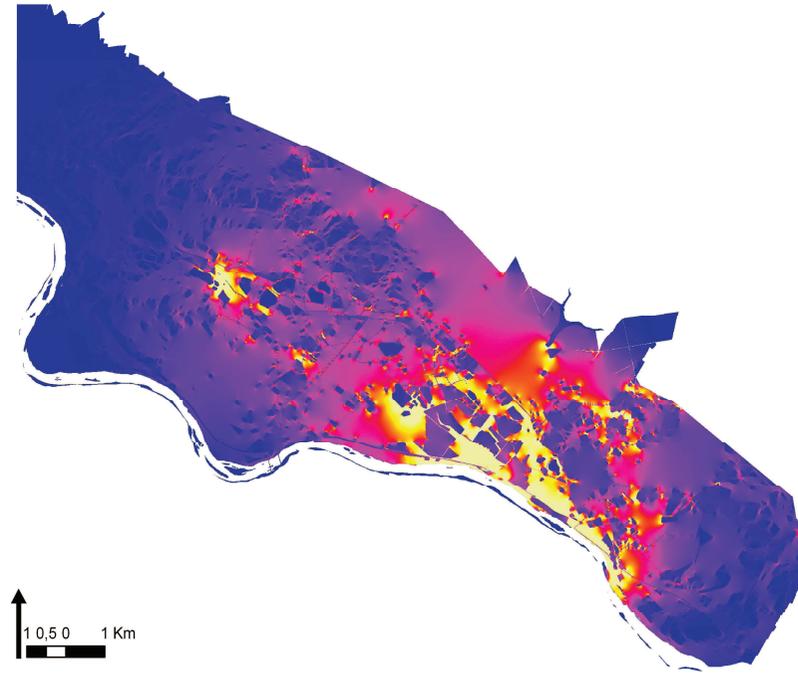
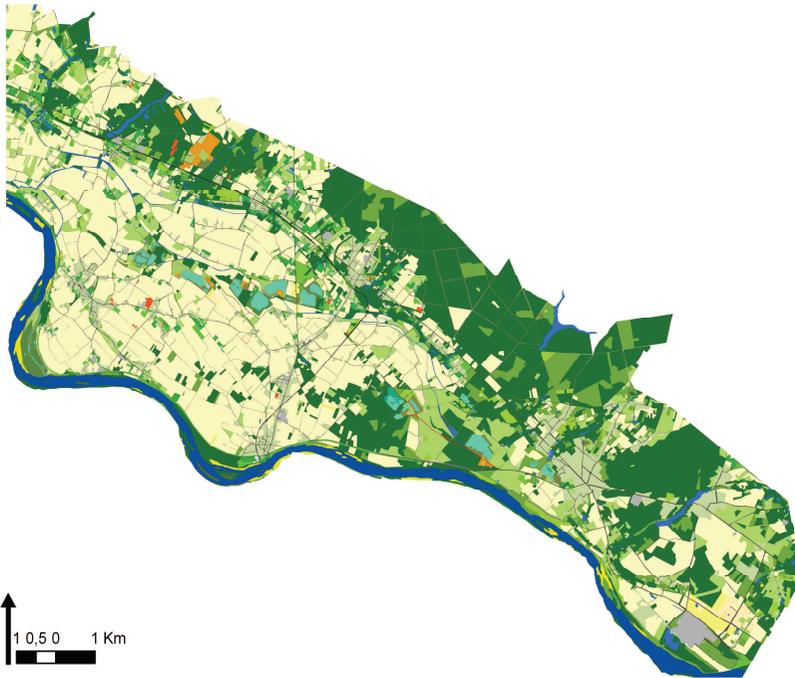
Annexe III : Modélisation des résistances avec CIRCUITSCAPE

L'intensité des flux modélisé par CIRCUITSCAPE est représentée par un gradient de couleurs froides (faibles flux) à chaudes (flux intenses).

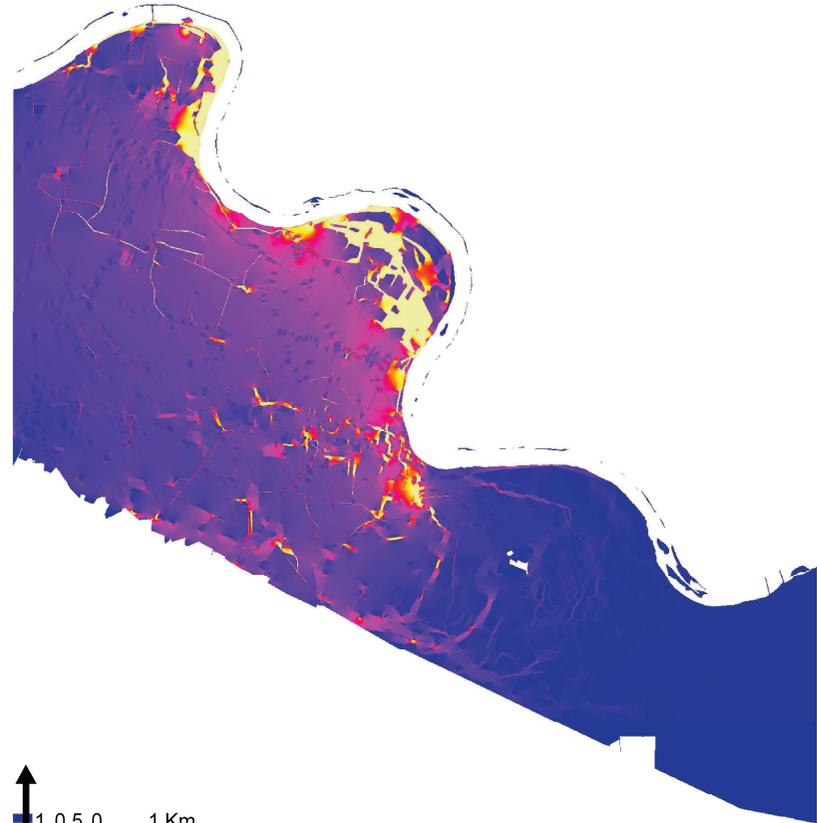
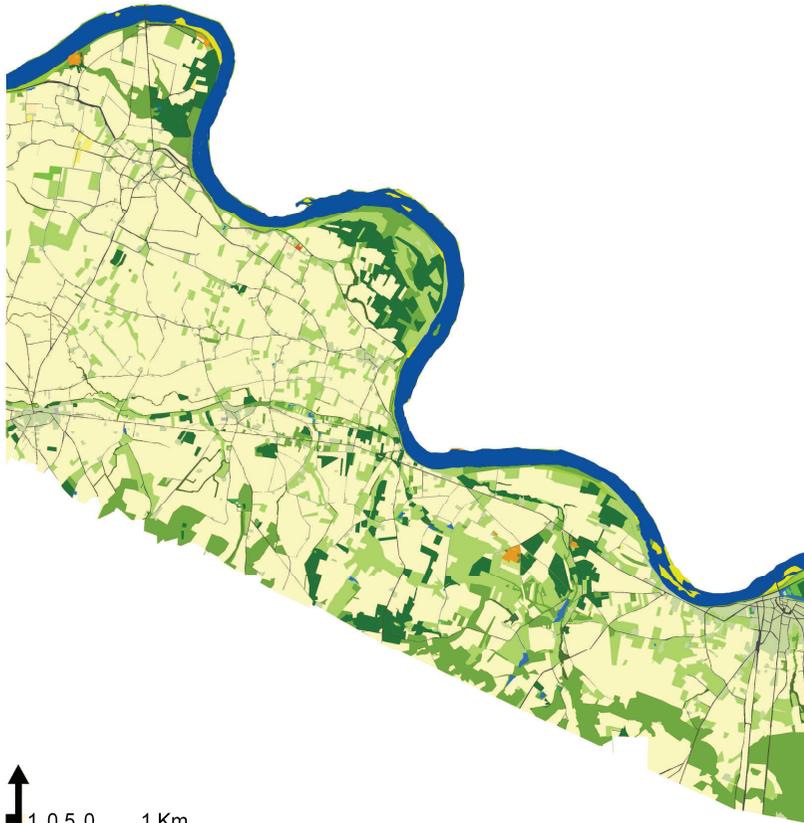
Site Bno (2000) – *B. bufo*



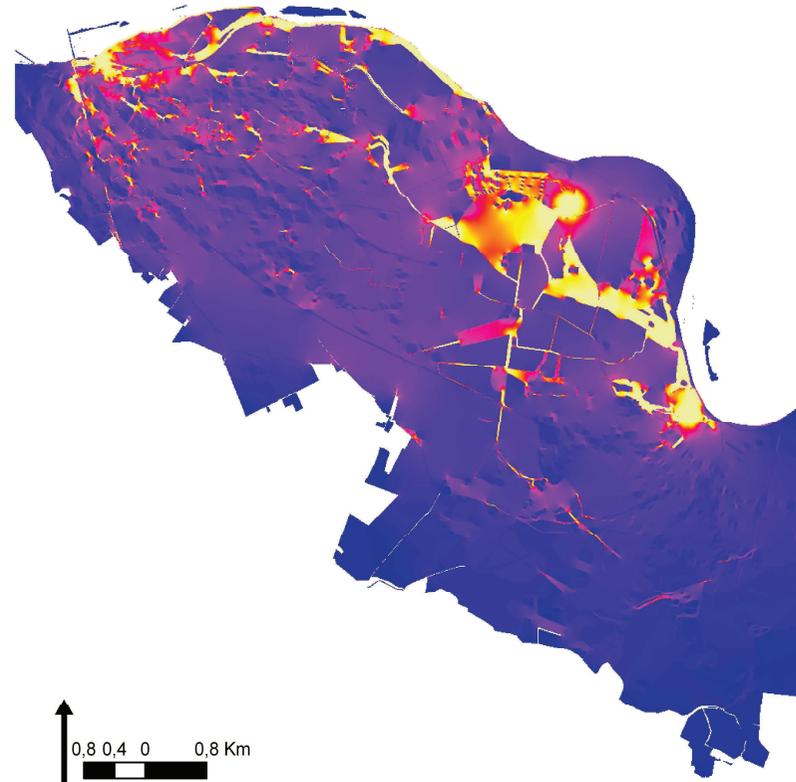
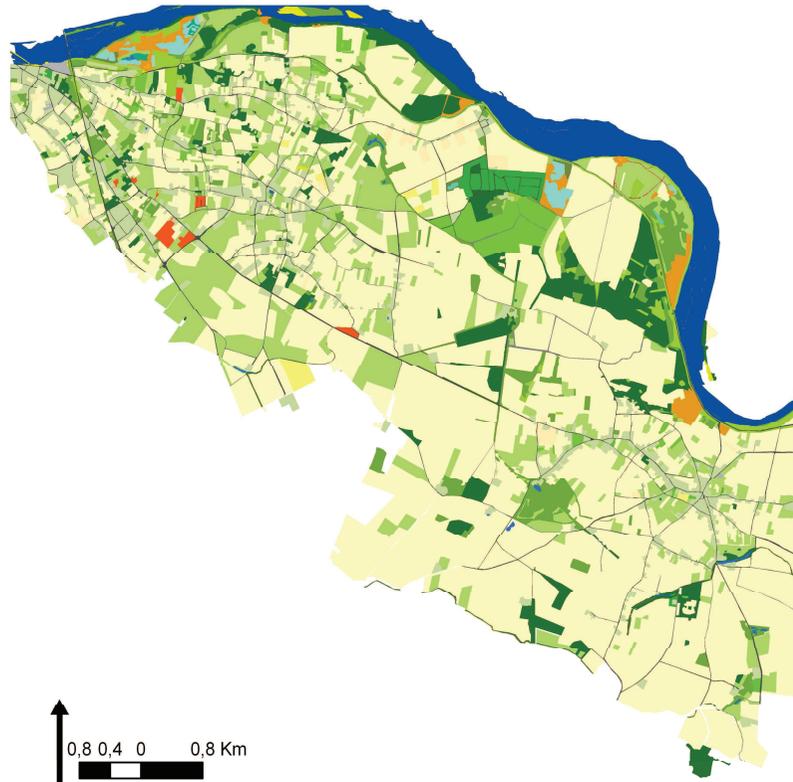
Site Bno (2000) – *E. calamita*



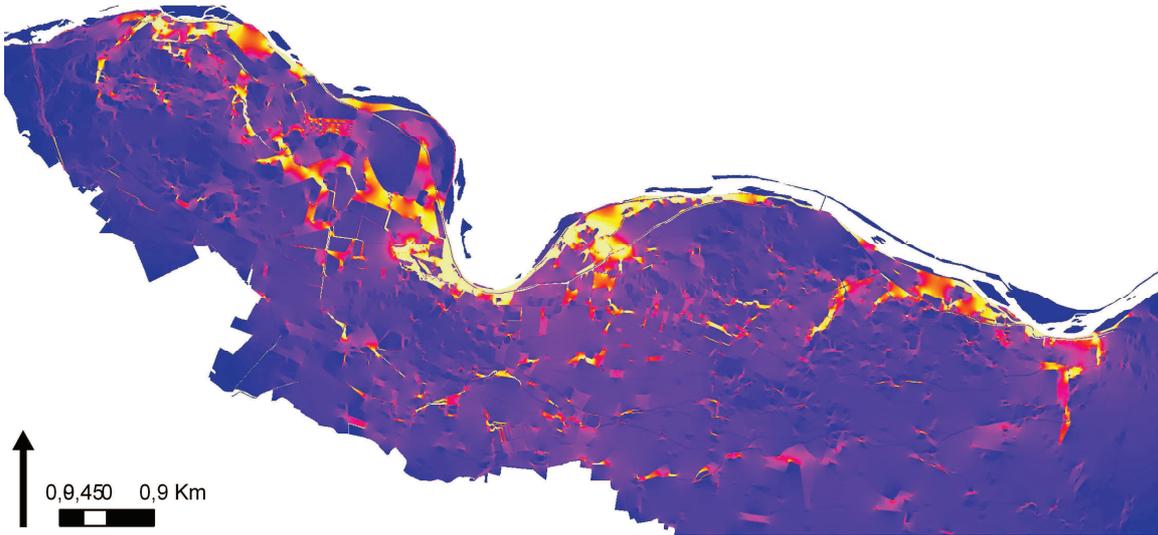
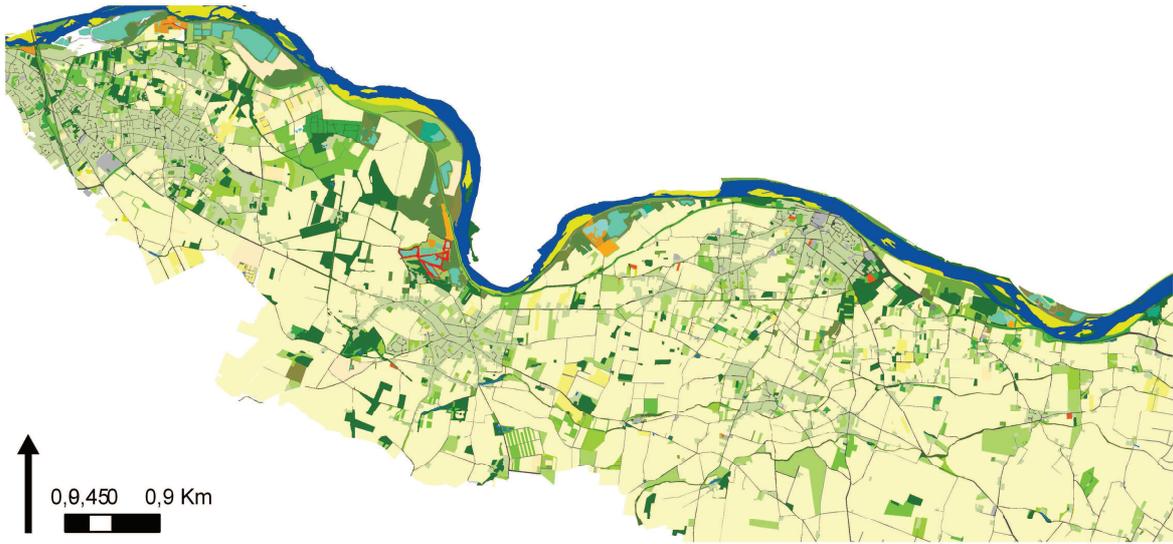
Site BSo^b (1968) – *B. bufo*



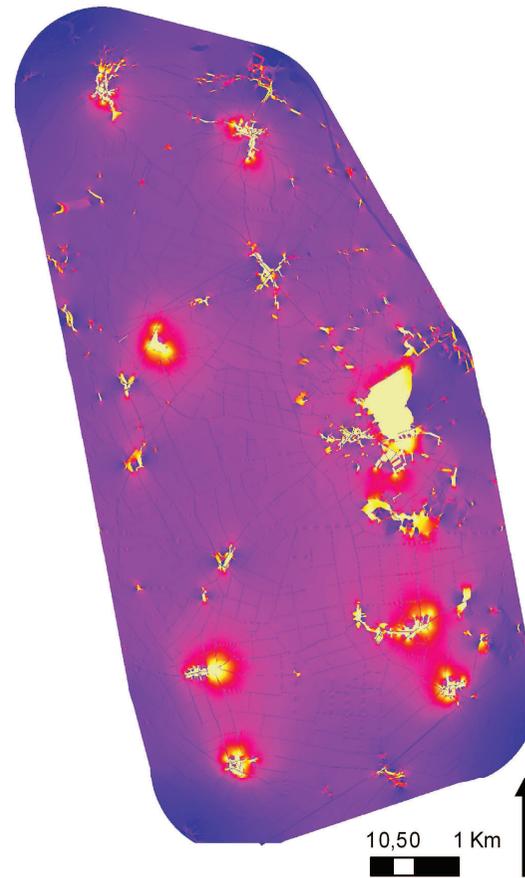
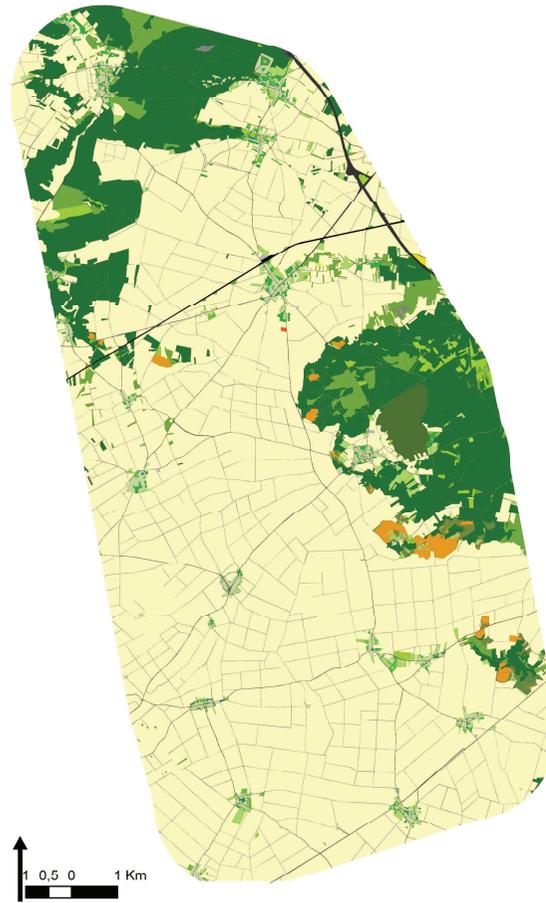
Site BSo^c (1968) – *B. bufo*



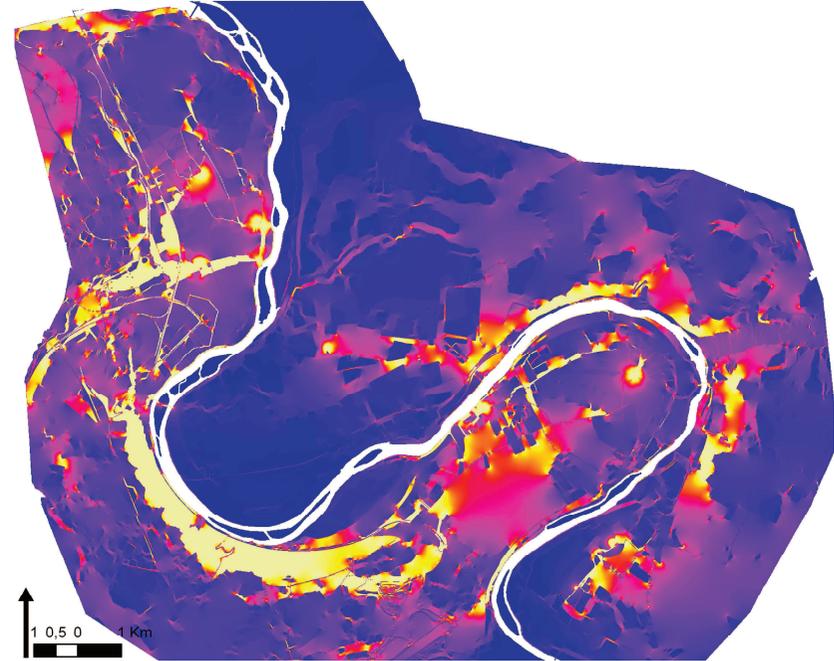
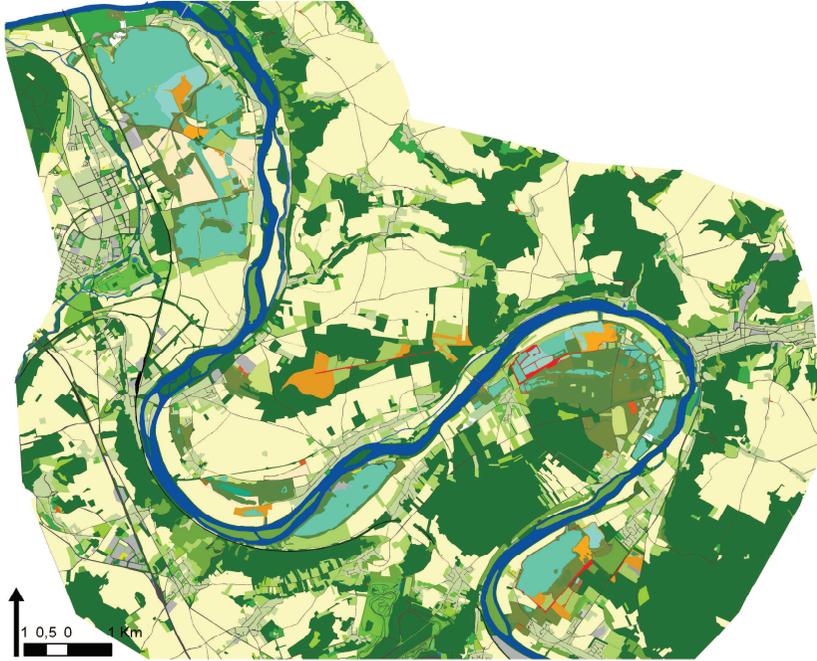
Site BSo^c (2000) – *E. calamita*



Site L (1968) – *B. bufo*



Site P (2000) – *B. bufo*



Site V (2000) – *E. calamita*

