

Découverte d'une population mixte de Grenouille de Pérez (*Pelophylax perezii*) et de Grenouille de Graf (*P. kl. grafi*) en Ardèche

Discovery of a mixed population of Pérez's Frog (*Pelophylax perezii*) and Graf's Frog (*P. kl. grafi*) in the Ardèche departement

Loup NOALLY⁽¹⁾, Rémi DUGUET⁽²⁾ et Pierre-André CROCHET⁽³⁾

⁽¹⁾ 4 avenue des bourgs, 42130 Sainte-Agathe-la-Bouteresse

⁽²⁾ Alcedo Faune et Flore, 1 chemin du Grésas, 30330 Pognadoresse

⁽³⁾ CEFE, CNRS, Univ Montpellier, EPHE, IRD, Montpellier, France

Auteur correspondant : Loup NOALLY - noaloup@gmail.com

Résumé – Nous présentons dans cet article la découverte en juin 2022 d'une population de grenouilles vertes du système PG (*Pelophylax perezii* - *grafi*) dans le ruisseau de Fontgraze, un ruisseau temporaire du sud de l'Ardèche. Identifiée d'abord sur un enregistrement, des analyses génétiques ont ensuite permis de confirmer la présence de nombreux individus de *P. perezii* et *P. kl. grafi*, ainsi que d'au moins un individu de *P. ridibundus*. Jusqu'ici, seule une donnée de *P. kl. grafi* obtenue en 2013 témoignait de la présence passée de ce complexe en Ardèche et plus largement en Auvergne-Rhône-Alpes. Le système PG est fortement menacé dans le sud de la France par l'expansion de *P. ridibundus* ; il est possible que les conditions particulières du ruisseau de Fontgraze permette ici la persistance du système PG mais seul un suivi régulier de cette population permettra de savoir si elle résiste à la compétition de *P. ridibundus*.

Mots-clés - amphibiens, anoures, grenouilles vertes, distribution, écologie, conservation

Summary – In this article we present the discovery in June 2022 of a population of the PG system (*Pelophylax perezii* - *grafi*) in the Fontgraze stream, a temporary stream in the south of the Ardeche department. Initially identified from a sound recording, genetic analyses subsequently confirmed the presence of numerous individuals of *P. perezii* and *P. kl. grafi*, as well as at least one individual of *P. ridibundus*. Until now, only one record of *P. kl. grafi* obtained in 2013 testified to the past presence of this complex in the Ardeche department and in the whole Auvergne-Rhône-Alpes region. The PG system is under serious threat in the south of France from the expansion of *P. ridibundus*; it is possible that the particular conditions of the Fontgraze stream have allowed the PG system to persist here, but only regular monitoring of this population will reveal whether it is resisting competition from *P. ridibundus*.

Keywords - amphibians, Anura, water frogs, distribution, ecology, conservation

INTRODUCTION

La France métropolitaine, Corse non comprise, est habitée par cinq taxons indigènes du genre *Pelophylax* (grenouilles vertes) dont deux sont des « kleptons » au sens de Dubois (1977). Ces kleptons sont des taxons d'origine hybride, formés le plus souvent d'un jeu de chromosomes de Grenouille rieuse *P. ridibundus* (Pallas, 1771) transmis de manière clonale et combiné à chaque génération à un jeu de chromosomes obtenu par accouplement avec une espèce parente. L'espèce parente est la Grenouille de Lessona *P. lessonae* (Camerano, 1882) pour le klepton *P. kl. esculentus* (Linnaeus, 1758), formant ainsi le système *lessonae*-

esculentus (ci-après référencé LE), ou la Grenouille de Pérez *P. perezii* (Lopez Seoane, 1885) pour *P. kl. grafi* (Crochet, Dubois, Ohler & Tunner, 1995) formant le système *perezii-grafi* (ci-après référencé PG, voir Demay et al. 2023 pour une explication plus complète).

La Grenouille de Pérez et son klepton associé la Grenouille de Graf *P. kl. grafi* comptent parmi ces taxons indigènes de grenouilles vertes. Dans les populations naturelles en France, elles ont jusqu'ici toujours été trouvées ensemble en populations mixtes, qui forment le système PG. Ce système occupe le sud de la France, entre le delta du Rhône et la côte Atlantique, où il se trouve

des Pyrénées-Atlantiques à la Vendée ; l'origine (naturelle ou anthropique) d'une population isolée en Loire-Atlantique reste incertaine (Evrard et al. 2015). Une population isolée en Provence témoigne probablement d'une aire de répartition passée plus étendue vers l'est (Doniol-Valcroze et al. 2022). Les deux espèces du système PG ont été classées comme quasi-menacées dans la liste rouge des amphibiens de France métropolitaine (UICN France et al. 2015). La cause principale de leur régression est l'expansion naturelle de la Grenouille rieuse à partir de ses foyers d'introduction. En effet, plusieurs lignées du complexe de la Grenouille rieuse au sens large ont été introduites en Europe de l'Ouest (Dufresnes et al. 2024) et ont colonisé la majeure partie du territoire métropolitain au cours de la seconde moitié du XX^e siècle, entraînant dans le même temps une régression à large échelle des

grenouilles vertes indigènes, à l'exception notable de la frange méditerranéenne de l'Occitanie à l'ouest de la vallée de l'Hérault (Demay et al. 2023).

A l'est de cette vallée, le système PG parvient à se maintenir principalement dans des environnements de marais littoraux (Fig. 1). En dehors de la frange littorale, les populations à l'est du fleuve Hérault sont fragmentées et isolées au sein d'une matrice de populations de Grenouille rieuse. Une partie de ces populations en zone de garrigue a d'ailleurs disparu entre les années 1990 (début des suivis) et maintenant (Demay et al. 2023). Les données récentes les plus septentrionales d'Occitanie rapportées dans Demay et al. (2023) concernaient la plaine de Pompignan (garrigues en limite Gard et Hérault) et les environs de Saint-Hippolyte-du-Fort (Gard, contrefort sud des Cévennes).

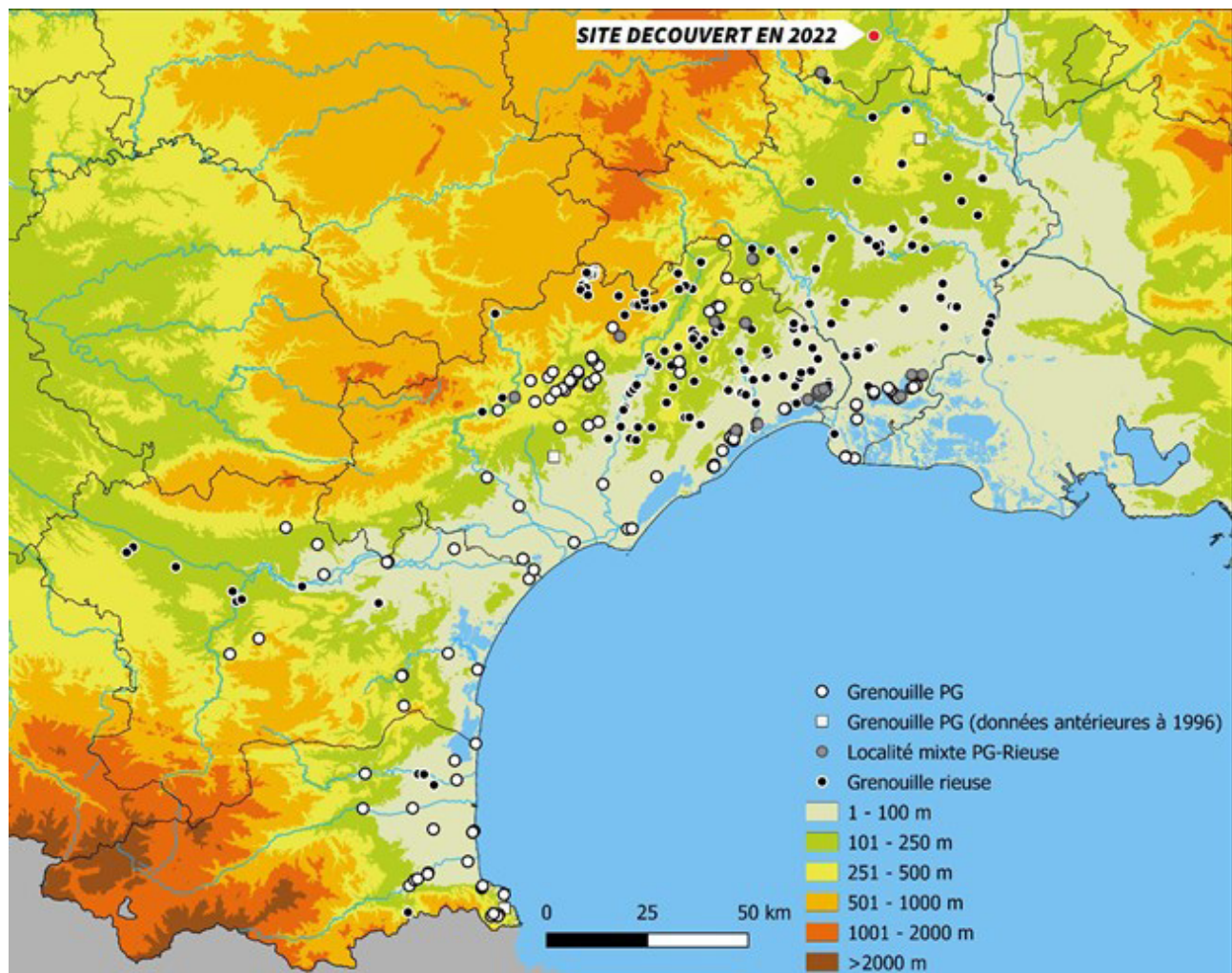


Figure 1 - Distribution des observations de grenouilles du système PG et des autres espèces de *Pelophylax* dans l'aire méditerranéenne française à l'ouest du Rhône (d'après Demay et al. 2023, 10.48716/bullshf.182-1 adapté) et localisation de la nouvelle population du ruisseau de Fontgraze (point rouge et flèche blanche).

Figure 1 - Known distribution of water frogs of the PG system in the Mediterranean part of their French range (adapted from Demay et al. 2023, 10.48716/bullshf.182-1) and localisation of the new locality in the Fontgraze stream (red dot and white arrow).

Plus au nord, en région Auvergne-Rhône-Alpes, la seule donnée certaine attestant de la présence du système PG était jusqu'à maintenant un individu, sans doute *P. kl. grafi*, enregistré au milieu de nombreuses Grenouilles rieuses dans le bois des Bartres (commune de Banne, Ardèche) par P. Geniez, R. Dallard et J.-S. Riou en 2013 (P. Geniez com. pers., Duguet & Joly 2015, Demay *et al.* 2023) et dont l'identification avait pu être confirmée à l'époque par l'un d'entre nous (PAC) sur la base des critères acoustiques publiées depuis par Gomes de Almeida *et al.* (2024). Plusieurs visites ciblées depuis 2013 n'ont pas permis d'y recontacter le système PG, celui-ci semblant maintenant complètement remplacé par *P. ridibundus*.

En 2022, deux d'entre nous (LN et RD) ont détecté des grenouilles vertes à chant rapide dans le ruisseau de Fontgraze (commune de Chandolas, Ardèche, 44,42747°N/4,26412°E, WGS84, altitude 140 m, Fig. 2), soit à environ 12 km au nord-est du bois des Bartres. L'analyse acoustique des enregistrements obtenus et le génotypage de prélèvements non

invasifs réalisés dans cette population ont permis de confirmer qu'il s'agissait bien d'une population du système PG. Cette station devient donc la plus septentrionale connue de la zone méditerranéenne (Fig. 1). Nous présentons les résultats de l'analyse acoustique, morphologique et génétique ayant permis de confirmer cette découverte, ainsi que le contexte écologique et les menaces pesant sur cette population locale.

MÉTHODES

Site d'étude

Le ruisseau temporaire de Fontgraze appartient au réseau de ruisseaux de Bourbouillet, affluents de la rivière Chassezac (Fig. 3), dans l'écocomplexe de Païolive (Blandin *et al.* 2016). Il présente un lit peu ou pas marqué dans sa partie amont mais qui forme à l'aval un petit canyon de quelques centaines de mètres de long jusqu'à la résurgence de Fontaine Méjanne (ou Font Méjanne) en aval (Fig. 3). Environ une soixantaine de fosses



Figure 2 - Grenouille de Pérez/de Graf (*P. perezii/grafi*), identifiée sur la base du chant entendu lors de la photo (individu non capturé). Ruisseau de Fontgraze (Ardèche), 11/06/2022 (photo R. Duguet).

Figure 2 - Pérez's/Graf's Water Frog (*P. perezii/grafi*), identified on the basis of the mating calls heard in the field (individual not sampled). Fontgraze stream (Ardèche), 11/06/2022 (photo R. Duguet).

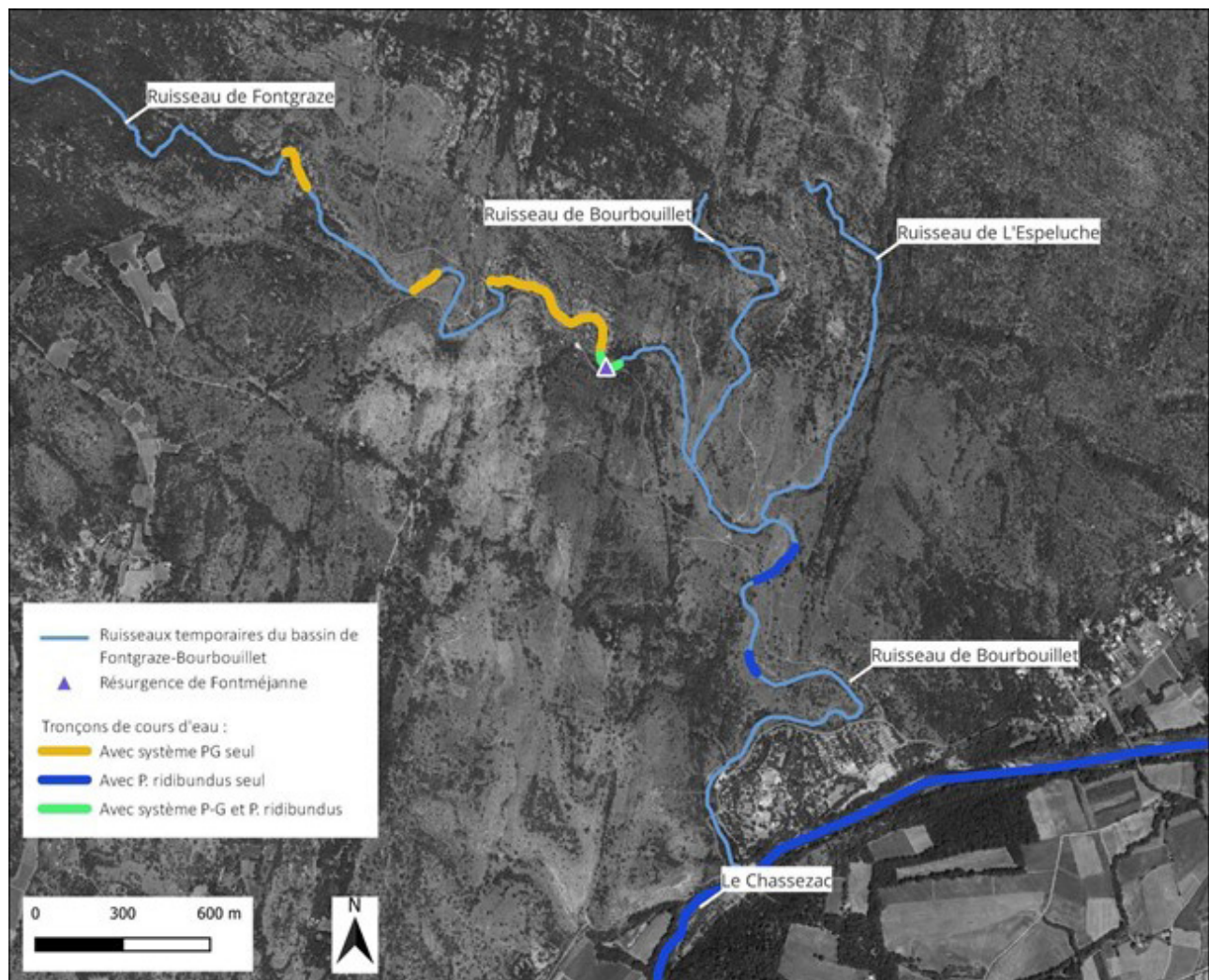


Figure 3 - Distribution observée en 2022 des espèces de *Pelophylax* dans le réseau de ruisseaux de Bourbouillet. Ligne bleu pâle = ruisseau, lignes oranges = système PG uniquement, lignes bleu foncé = *P. ridibundus* uniquement, ligne verte = système PG et *P. ridibundus*. Le triangle indique la résurgence de Fontaine Méjanne.

Figure 3 - Distribution of Water Frogs taxa recorded in 2022 in the Bourbouillet watershed (Ardèche). Narrow pale blue lines = stream, thick orange line = PG system only, thick dark blue line = *ridibundus* alone, thick dark green line = PG + *ridibundus*. The triangle shows the location of the Fontaine Méjanne spring.

(ou gours) au total présentent une profondeur moyenne de 25 cm et une surface moyenne de 10 m² au printemps (données association Païolive).

En raison d'une rare convergence de caractéristiques géologiques et hydrogéologiques, des suintements au niveau des inter-bancs marneux maintiennent les fosses en eau jusqu'en période estivale, même au cours de l'épisode de forte sécheresse de juin 2022 (Fig. 4), alors qu'au même moment ce ruisseau s'asséchait totalement plus en aval. En outre, des fosses connectées à la résurgence de Fontaine Méjanne alimentée par un réseau noyé restent en eau toute l'année (données association Païolive).

Collecte des données

Les visites se sont échelonnées le 08/06/2022 (LN) et entre le 10/06 et le 26/06/2022 (RD, Gaël Episse et Tania Hurter) pour un total de cinq visites, de jour ou de nuit. Huit enregistrements, comportant souvent plusieurs individus, ont été obtenus. Le 08/06 les enregistrements (n=2) ont été réalisés avec un téléphone portable. Les autres jours, les enregistrements (n=6) ont été obtenus avec un Zoom H4n Pro. Dix-huit individus adultes, capturés aléatoirement de manière opportuniste ou dans 20 nasses à vairon placées le 25/06 au soir et relevées le 26/06 au matin, ont été photographiés en main après capture, dont 12 ont fait l'objet de prélèvements pour analyse génétique par frotti buccal ; les



Figure 4 - Habitat du système PG ; fosse dans le ruisseau de Fontgraze à 500 m environ en amont de la résurgence de Fontaine Méjanne, 11/06/2022 (photo R. Duguet).

Figure 4 - PG system habitat; water hole in the Fontgraze stream approximately 500 m upstream the Fontaine Méjanne spring, 11/06/2022 (photo R. Duguet).

échantillons ont été placés dans des Eppendorf de 2 ml remplis d'éthanol à 96 % immédiatement sur le terrain. Ces prélèvements ont été intégrés à la collection de tissus des amphibiens et reptiles du Paléarctique occidental du CEFE (collection BEV, équipe Biogéographie et Ecologie des Vertébrés de l'EPHE et CEFE/CNRS, numéros BEV.T14659 à T14670). Les animaux ont tous été relâchés sur place après manipulation. À noter que les individus enregistrés ne sont pas nécessairement les mêmes que ceux génotypés et photographiés.

Identification sur la base de caractères morphologiques

En théorie, des grenouilles à chant rapide peuvent correspondre au système PG ou au système LE, puisque leur chants sont très similaires à l'oreille (Gomes de Almeida *et al.* 2024). En revanche, la morphologie des individus du système LE (pour « *lessonae-esculentus* ») diffère nettement de la

morphologie des individus du système PG (voir par exemple Speybroeck *et al.* 2016) et de la *G. rieuse*. L'identification morphologique a été réalisée par Pierre-André Crochet à partir des photos prises par Rémi Duguet lors de la manipulation pour les prélèvements.

Identification sur la base de caractères acoustiques

Pour séparer le système PG de la Grenouille rieuse, l'identification acoustique a été basée sur la méthode et les critères publiés par Gomes de Almeida *et al.* (2024). Comme indiqué dans cet article, la séparation de *P. perezii* et *P. ridibundus* est facile à l'oreille, mais la séparation acoustique de certaines *P. kl. grafi* avec *P. ridibundus* nécessite un examen des oscillogrammes, ce qui exige des enregistrements clairs d'un seul individu (pas de chevauchement de chant de plusieurs individus) sans sons « parasites » (cris ou chant d'autres

amphibiens). L'identification acoustique par analyse d'oscillogrammes a donc été utilisée dans un premier temps pour confirmer l'identification supposée à l'oreille. Les enregistrements ont été analysés à l'aide du logiciel Audacity (disponible sur <https://www.audacityteam.org/>). Notons que même en examinant les oscillogrammes, la séparation acoustique du système PG et du système LE demeure très difficile et pas toujours possible (Gomes de Almeida *et al.* 2024).

Identification génétique

Comme indiqué ci-dessus, une combinaison de photos et d'enregistrements d'une même population permet donc dans la plupart des cas de savoir si on a affaire à des individus du système PG, LE ou à des Grenouilles rieuses, et c'est la méthode qui a été utilisée ici pour déterminer le système auquel appartient cette population. Cependant, pour confirmer les identifications basées sur la combinaison du chant et de la morphologie et étudier la proportion de *P. perezii* et *P. kl. grafi* dans la population PG, nous avons appliqué la méthode de génotypage par PCR-RFLP de Cuevas *et al.* (2022). Brièvement, après extraction de l'ADN des échantillons, une amplification par PCR (polymerase chain reaction = réaction en chaîne par polymérase) de trois locus nucléaires suivie de la digestion des produits de PCR par des enzymes de restriction spécifiques et de leur migration sur gel (étape de RFLP pour restriction fragment length polymorphism = polymorphisme de longueur des fragments de restriction) permet de séparer les cinq taxons français. Nous avons aussi amplifié un fragment du gène mitochondrial COI (cytochrome oxydase 1) selon le protocole de Doniol-Valcroze *et al.* (2021) pour exclure le risque d'une introduction de taxons allochtones.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Identification

Des *Pelophylax* ont été détectés entre 44,43008/4,25974 et 44,42747/4,26412 (coordonnées en degrés décimaux, précisions de 5 m, individus contactés dans un rayon de 100 m à chaque fois), soit un linéaire de ruisseau de 570 m d'un seul tenant auquel s'ajoutent deux courts tronçons plus en amont (Fig. 3). Parmi les huit enregistrements, représentant un minimum de 20 individus différents, un seul individu de Grenouille rieuse a pu être identifié (enregistré depuis le

point 44,42747/4,26412, en arrière-plan sur cet enregistrement : https://www.faune-aura.org/index.php?m_id=54&id=119888876). Les autres individus ont des chants clairement de type PG ou LE (https://www.faune-aura.org/index.php?m_id=54&id=119951044). Deux exemples de chant de type *grafi* et *perezii* sont présentés en Figure 5. Morphologiquement, tous les individus photographiés en main (n=12) présentent des caractères de grenouilles vertes à petit tubercule métatarsien et coloration terne sur l'arrière des cuisses, excluant le système LE. La combinaison des caractères morphologiques et acoustiques permet donc une identification du système PG, sauf l'individu de Grenouille rieuse identifié au chant.

Les génotypages par PCR-RFLP ont permis une identification non-ambiguë pour 10 des 12 prélèvements disponibles (Tab. 1). Les deux autres individus n'ont fourni de produit de PCR que pour un des trois locus amplifiés en première analyse et les analyses n'ont pu être répétées pour ces deux individus faute de temps. Parmi ces 10 individus, on a trouvé 7 profils de RFLP correspondant à *P. perezii*, 2 à *P. kl. grafi* et 1 à *P. ridibundus* sensu lato (complexe de la Grenouille rieuse).

Onze des 12 individus ont pu être séquencés pour le gène COI. Les séquences ont été déposées dans Genbank (numéros de catalogue PP162963 et PP162970 à 162979). La concordance avec les identifications RFLP était parfaite puisque les 9 individus du système PG avaient des séquences de COI de type *perezii* (pour rappel *P. kl. grafi* porte normalement des mitochondries de *perezii*, cf. Dufresnes *et al.* 2024) et l'individu à RFLP de type *ridibundus* présentait une séquence de COI de *P. ridibundus* sensu stricto (similarité de plus 99.7% avec des séquences de *P. ridibundus ridibundus* dans Genbank, de moins de 99 % avec des séquences de *P. ridibundus kurtmuelleri* et encore plus faible avec les autres lignées du complexe de la Grenouille rieuse).

La combinaison des résultats acoustiques, de RFLP et de barcoding mitochondrial permet donc de tirer plusieurs conclusions : i) la population est essentiellement composée d'individus du système PG, avec une majorité de *P. perezii* dans les individus génotypés, ii) un individu au moins est une *P. ridibundus* (dans la mesure où les nasses à vairon ont été posées à l'endroit même où un individu de G. rieuse a été enregistré, il est possible que l'individu capturé soit celui qui a été enregistré), iii) d'après son ADN mitochondrial, ce spécimen n'est pas issu d'un croisement *P. kl. grafi* x *P. kl. grafi*

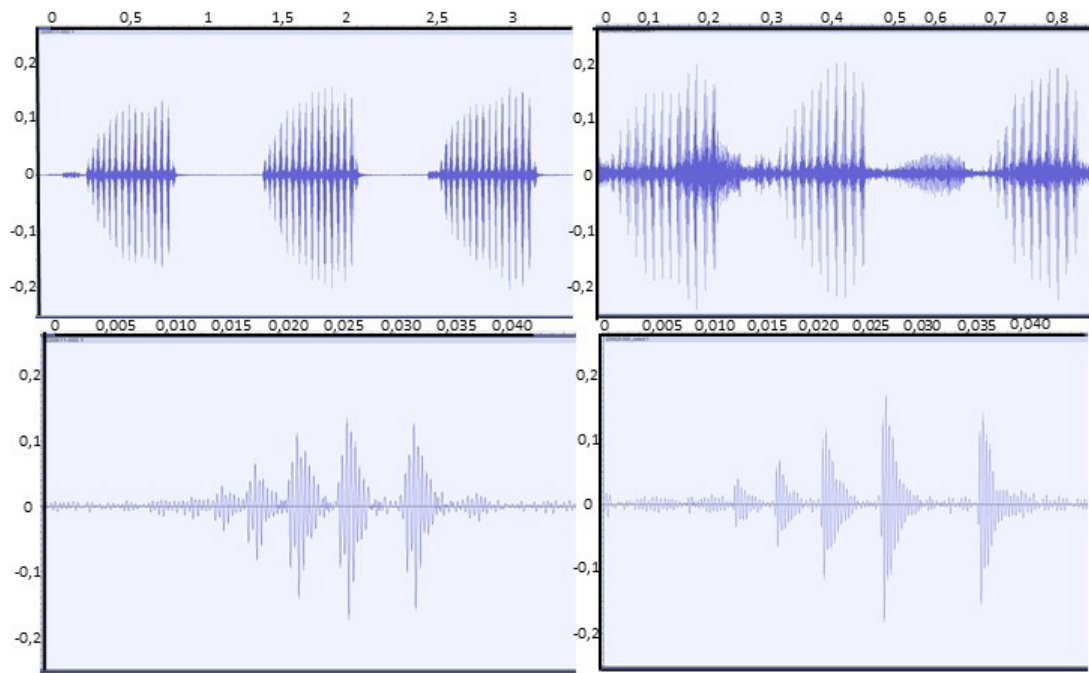


Figure 5 - Oscillogrammes de chants (en haut) et de notes (en bas) de grenouilles du système PG du ruisseau de Fontgraze (Ardèche). A gauche : trois phrases de chant (en haut) et une note (en bas) d'un chant de type *grafi* (coordonnées 44,42995/4,26060, précision 15 m, 11/06/2022, Rémi Duguet). A droite : trois phrases de chant (en haut, avec des notes de Rainette méridionale) et une note (en bas) d'un chant de type *perezii* (coordonnées 44,42747/4,26412, précision 35 m, 25/06/2022, Tania Hurter & Rémi Duguet). Les figures représentent la variation de l'intensité relative du signal (en décibel, ordonnées) selon le temps (en seconde, abscisses).

Figure 5 - Oscillograms of mating calls (above) and single notes (below) from water frogs of the PG system from the Fontgraze stream (Ardèche). Left: three calls (above) and one note (below) from a *grafi*-type mating call (coordinates 44.42995/4.26060, precision 15m, 11/06/2022, Rémi Duguet). Right: three calls (above) and one note (below) from a *perezii*-type mating call (coordinates 44.42747/4.26412, precision 35m, 25/06/2022, Tania Hurter & Rémi Duguet). The figures illustrate the variation of signal intensity (decibel, y-coordinates) with time (second, x-coordinates).

Tableau 1 - Récapitulatif de l'identification spécifique des 12 prélèvements de tissus réalisés le 26 juin 2022. La lignée mitochondriale a été identifiée sur la base d'une séquence du gène COI.

Table 1 - Summary of the specific identification of the 12 tissue samples taken on June 26, 2022. The mitochondrial lineage was identified based on a COI gene sequence.

Date de relevé : 26/06/2022		Latitude : 44,427466 - Longitude : 4,26412 (± 100m)		
N° terrain	N° tissu (collection BEV)	Lignée mitochondriale	Id génétique RFLP	Id morphologique
1230_ind1	T14659	<i>perezii</i>	<i>P. kl. grafi</i>	<i>P. kl. grafi</i> ?
1231_ind2	T14660	<i>perezii</i>	<i>P. perezii</i>	<i>P. perezii</i> ?
1232_ind3	T14661	<i>perezii</i>	NA	<i>P. perezii</i> ?
1233_ind4	T14662	<i>perezii</i>	<i>P. perezii</i>	<i>P. ridibundus</i> ?
1234_ind5	T14663	<i>ridibundus ridibundus</i>	<i>P. ridibundus</i>	<i>P. ridibundus</i> ?
1235_ind6	T14664	<i>perezii</i>	<i>P. kl. grafi</i>	<i>P. ridibundus</i> ?
1236_ind7	T14665	<i>perezii</i>	<i>P. perezii</i>	<i>P. perezii</i> ?
1237_ind8	T14666	<i>perezii</i>	<i>P. perezii</i>	<i>P. sp</i>
1238_ind9	T14667	NA	NA	<i>P. perezii/kl. grafi</i> ?
1239_ind10	T14668	<i>perezii</i>	<i>P. perezii</i>	<i>P. sp</i>
1240_ind11	T14669	<i>perezii</i>	<i>P. perezii</i>	<i>P. perezii</i> ?
1241_ind12	T14670	<i>perezii</i>	<i>P. perezii</i>	<i>P. sp</i>

mais bien de la lignée *P. ridibundus ridibundus* (lignée originellement répartie de l'est de la France à l'Europe centrale).

Conditions de la persistance de la population mixte PG

La population mixte *P. perezii* et *P. kl. grafi* du ruisseau de Fontgraze semble isolée dans une région, l'Ardèche méridionale, très largement colonisée par la Grenouille rieuse à partir de la seconde moitié du XX^e siècle (Duguet & Joly 2015). C'est aussi le cas d'autres populations mixtes du système PG comme celles en garrigue aux abords de Saint-Hippolyte-du-Fort (Gard, Demay *et al.* 2023) et du lac de l'Ecureuil dans le massif de l'Esterel (Var, Doniol-Valcroze *et al.* 2022), mais aussi de quelques populations de Grenouille verte *P. kl. esculentus* (Linnaeus, 1758) encore présentes dans le domaine continental ardéchois (Crochet *et al.* 2011).

Dans le secteur d'étude, les effectifs de la population de *P. perezii* et *P. kl. grafi* dépassent probablement la centaine d'adultes. Inversement, *P. ridibundus* semble peu abondante et localisée. L'état de conservation des Grenouilles de Graf et de Pérez dans le ruisseau de Fontgraze paraît donc plutôt favorable pour le moment, ce que devront confirmer néanmoins les suivis en cours (voir ci-après).

Les facteurs éco-éthologiques ayant probablement empêché la Grenouille rieuse de supplanter la population de grenouilles vertes indigènes présente sur ce site restent à éclaircir. Néanmoins, la large distribution des grenouilles vertes indigènes dans le lit du ruisseau implique que ces individus se reproduisent effectivement dans des fosses oligotrophes entre la fin du printemps et l'été avant que l'eau atteigne 35°C mi-août, date habituelle à laquelle la G. rieuse se métamorphose dans le réseau de ruisseaux de Bourbouillet (RD, obs. pers.). Inversement, la Grenouille rieuse se cantonne aux abords de la résurgence de Fontaine Méjanne dans des fosses relativement eutrophes (riches en ressources alimentaires disponibles) et plutôt fraîches car ombragées (Fig. 3). Or, des différences de disponibilités en ressources alimentaires et de températures de l'eau, et leurs interactions, ont une incidence déterminante sur le développement, la croissance et la survie des têtards des grenouilles vertes : en effet, leur chance de survie est négativement corrélée à l'irrégularité des ressources alimentaires disponibles et à l'augmentation des températures (Pesarakloo *et al.* 2015).

En outre, certaines populations de grenouilles vertes présentent une plasticité du développement larvaire plus importante sur les marges de leur aire de répartition que dans le centre, par exemple une période larvaire plus brève et un taux de croissance supérieur (Orizaola & Laurila 2016).

Cela suggérerait qu'une plus grande plasticité du développement larvaire des Grenouilles de Pérez et de Graf dans le ruisseau de Fontgraze leur permet d'utiliser des sites de reproduction caractérisés par leur oligotrophie et de très fortes températures estivales, tandis que la Grenouille rieuse se retrouverait limitée aux pièces d'eau les plus eutrophes et les plus stables thermiquement. Les conditions écologiques très particulières de ce ruisseau pourraient donc expliquer le maintien de cette population autochtone longtemps après le premier contact avec la Grenouille rieuse, une espèce envahissante fortement concurrentielle dans des conditions écologiques plus habituelles.

Malheureusement, ces hypothèses favorables sont à nuancer par les observations réalisées dans le département de l'Hérault où ce type de milieu (ruisseaux oligotrophes, parfois temporaires) a été colonisé par la Grenouille rieuse, parfois en remplaçant le système PG (obs. pers.). Un suivi régulier est donc nécessaire pour savoir si cette population relictuelle résistera à l'expansion de la Grenouille rieuse. En effet, il semble que le succès de la reproduction de la Grenouille rieuse dans le ruisseau de Bourbouillet ait tendance à devenir plus fréquent sur une période de 10 ans (Duguet 2022).

Remarquons que sur 3 km en aval, l'important linéaire de réseau de ruisseaux est habituellement asséché en été (Fig. 4), ce qui peut contribuer à ralentir le processus de colonisation de ce réseau par la Grenouille rieuse depuis la rivière Chassezac (Tréguier *et al.* 2018).

CONCLUSION

La découverte tardive de la présence du système PG dans le ruisseau de Fontgraze, un site pourtant considéré comme exhaustivement inventorié par les batrachologues, met en évidence la nécessité de réexaminer systématiquement les ruisseaux méditerranéens en tête de bassin hydrographique, notamment en Ardèche calcaire et sur le Piémont cévenol. Contrairement à une idée répandue, la présence de la Grenouille rieuse sur

un site ne constitue pas une preuve de l'absence du système PG. Il est donc impératif de prêter une attention particulière au chant étiré des grenouilles vertes autochtones, souvent masqué par les chœurs de Grenouille rieuse, afin d'identifier d'éventuelles populations relictuelles et isolées, dont la conservation revêt une importance écologique majeure.

Remerciements - Les prélèvements génétiques et les photographies ont été facilités par Tania Hurter. Le génotypage a été réalisé par Florian Plumel (CEFE-CNRS). L'association Païolive a fourni des relevés topographiques et faunistiques (Lena Kurowski et Valentin Lavalette), relevés de températures (Günther Fleck) et diverses documentations (Henri-Pierre Aberlenc, Simon Contant, Jean-François Holthof et Patrick Pailleret). Cet article a bénéficié du concours de Pierre Juliand, Gaël Episse et Marianne Georget (Gamar), Olivier Peyronel, Nicolas Blanchin (CBN Massif central) et Simon Bugnon.

Protection des espèces - Les captures ont été encadrées par l'arrêté préfectoral n°07-2022-06-17-00011.

REFERENCES

- Blandin P., Aberlenc H.-P., Bauvet C., Bianchin N., Cockle-Betian A., Coute A., Deso G., Duguet R., Gaymard M., Holtof J.-F., Hugonnot V., Ladet A., Lagarde F., Lhermenier W., Lhomme M., Morin D., Perrette C., Richard F. & Schwaab F. (2016). - L'éco-complexe de Païolive en Ardèche méridionale (France) : un pic de biodiversité du Hotspot méditerranéen. *Ecologia Mediterranea* **42**: 51-95.
- Crochet P.-A., Eble A. & Mansier Y. (2011). *Distribution de Pelophylax lessonae en zone méditerranéenne : synthèse des connaissances et prospections de terrain en juin et juillet 2011*. Rapport non publié. Montpellier et Paris (CEFE et Service du Patrimoine naturel) : 1-15 + annexes.
- Cuevas A., Patrelle C., Ciavatti F., Gendre T., Sourrouille P., Geniez P., Doniol-Valcroze P. & Crochet P.-A. (2022). A new PCR-RFLP method for the identification of parental and hybridogenetic western European Water Frogs, including the *Pelophylax perezii-grafi* system. *Salamandra* **53** : 218-230.
- Demay J., Ciavatti F., Cuevas A., Doniol-Valcroze P., Eble A., Leblanc E., Mansier Y., Martinossi-Alilibert I., Nicolas J., Pineau A., Raymond B., Geniez P., Gendre T., Bossaert M. et Crochet P.-A. 2023. Distribution des grenouilles vertes du système *perezii-grafi* et des autres espèces du genre *Pelophylax* (Amphibia : Ranidae) dans leur aire méditerranéenne française à l'ouest du Rhône. *Bulletin de la Société herpétologique de France* **182**: 1-11.
- Doniol-Valcroze P., Mazepa G., Grimal F., Sourrouille P., Perrin N., Litvinchuk S. N. & Crochet P.-A. (2021). Discovery of a *Pelophylax saharicus* (Anura, Ranidae) population in Southern France: a new potentially invasive species of water frogs in Europe. *Amphibia-Reptilia* **42**: 1-16.
- Doniol-Valcroze P., Arnaboldi F., Baudran C., Beaume S., Ricordel M. & Crochet P.-A. (2022). The easternmost contemporary record of *Pelophylax perezii* (Anura: Ranidae), a potential relict of the species past distribution? *Herpetology Notes* **15**: 539-543.
- Dubois A. (1977). - Les problèmes de l'espèce chez les Amphibiens Anoures. *Mémoires de la Société Zoologique de France* **39**, 161-284.
- Dufresnes C., Monod-Broca B., Bellati A., Canestrelli D., Ambu J., Wielstra B, Dubey S., Crochet P.-A., Denoël M. & Jablonski D. (2024). Piecing the barcoding puzzle of Palearctic water frogs (*Pelophylax*) sheds light on amphibian biogeography and global invasions. *Global Change Biology* **30** : e17180.
- Duguet R. (2017). Fréquence et succès de la reproduction du Pélobate cultripède *Pelobates cultripedes* (Cuvier, 1829) (Anura : Pelobatidae) dans un cours d'eau intermittent méditerranéen en Ardèche (France). *Bulletin de la Société herpétologique de France* **163**: 1-14.
- Duguet R. (2022). Breeding phenology of amphibians in a Mediterranean ephemeral stream. *Naturae* **2022**: 235-245.
- Duguet R. & Joly P. (2015). Grenouilles « vertes » (*Pelophylax* sp.). In : GHRA, LPO Rhône-Alpes, *Les amphibiens et reptiles de Rhône-Alpes*. Lyon (LPO coordination Rhône-Alpes : 258-269.
- Evrard, P., Montfort, D. & Crochet, P.-A. (2015). Découverte d'une population de Grenouille de Pérez *Pelophylax perezii* (Seoane, 1885) au nord de la Loire (France). *Bulletin de la Société des sciences naturelles de l'Ouest de la France, nouvelle série* **37**: 91-99.
- Geniez P. & Cheylan G. (2012). *Les Amphibiens et les Reptiles du Languedoc-Roussillon et régions limitrophes. Atlas biogéographique*. Mèze et Paris (Biotope Editions et Muséum national d'Histoire naturelle, Collection inventaires et Biodiversité) : 1-448.
- Gomes de Almeida F., Ciavatti F., Pulido A., Gendre T., Geniez P., Eble A., Leblanc E., Mansier Y., Martinossi-Alilibert I., Raymond B., Pineau A., Demay J. & Crochet P.-A. 2024. Acoustics of parental and hybridogenetic water frogs (*Pelophylax*: Amphibia: Ranidae): a tool for monitoring an invasive species. *Amphibia-Reptilia* **45**: 333-348.
- Ladet A., Bauvet C. & Jacob F. (2011). Inventaire des batraciens des ruisseaux de Fontgraze (dont Bourbouillet) et du Granzon. Synthèse des connaissances et prospections de l'année 2010. Rapport non publié (CORA Ardèche, FRAPNA Ardèche, Conseil général de l'Ardèche) :1-49.
- Orizaola G. & Laurila A. (2016). Developmental plasticity increases at the northern range margin in a warm-dependent amphibian. *Evolutionary Applications* **9**: 471-478.
- Pesarakloo A., Rastegar-Pouyani N., Rastegar-Pouyani E., Najibzadeh M., Gharzi A. & Shayestehfar A. (2015). Interactive effects of temperature and food availability on the Marsh Frog (*Pelophylax ridibundus*) tadpoles in Western Iran. *Asian Journal of Conservation Biology* **4**: 130-135.
- Speybroeck, J., Beukema, W., Bok, B. & Van Der Voort, J. (2016). Field Guide to the Amphibians and Reptiles of Britain and Europe. London (Bloomsbury) : 1-432.
- Stubbington R., Chadd R., Cid N., Csabai Z., Miliša M., Morais M., Munné A., Pařil P., Peřić V., Tziortzis I., Verdonschot

R.C.M. & Datry T. (2017). Biomonitoring of intermittent rivers and ephemeral streams in Europe: Current practice and priorities to enhance ecological status assessments. *Science of The Total Environment* **618**: 1096-1113.

Tréguier A., Roussel J.-M., Bélouard N. & Paillisson J.-M. (2018). Is it a hindrance for an invasive aquatic species to spread across scattered habitat patches? *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* **28**: 610-618.

UICN France, MNHN & SHF (2015). *La Liste rouge des espèces menacées en France - Reptiles et Amphibiens de France métropolitaine*. Paris, France.

Date de soumission : mardi 18 mars 2025

Date d'acceptation : dimanche 18 janvier 2026

Date de publication : vendredi 25 septembre 2026

Editeur-en-Chef : Jean-Marie BALLOUARD

Editeur associé : Jean SECONDI

Relecteur : Philippe GENIEZ