

# *Hyla perrini*: UNE NOUVELLE ESPÈCE DE RAINETTE EN SUISSE

Christophe Dufresnes



The  
University  
Of  
Sheffield.

*Unil*

UNIL | Université de Lausanne

**Hintermann  
Weber.ch**

Ökologische Beratung, Planung  
und Forschung



Espèce différentes ou pas?

# Espèce différentes ou pas?

- ▶ Approche phénotypique  
couleur, forme, comportement



# Espèce différentes ou pas?

► Approche phénotypique  
couleur, forme, comportement

► Approche écologique  
habitat, période de reproduction



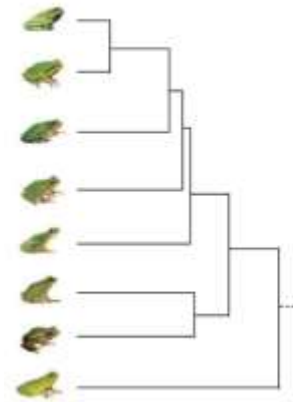
# Espèce différentes ou pas?

► Approche phénotypique  
couleur, forme, comportement



► Approche écologique  
habitat, période de reproduction

► Approche phylogénétique  
divergence génétique



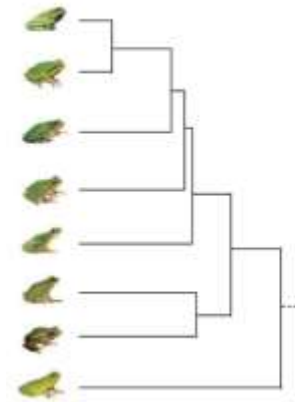
# Espèce différentes ou pas?

► Approche phénotypique  
couleur, forme, comportement



► Approche écologique  
habitat, période de reproduction

► Approche phylogénétique  
divergence génétique



► Approche reproductive:  
concept d'espèce biologique



# Taxa cryptiques

- ▶ Approche phénotypique  
couleur, forme, comportement
- ▶ Approche écologique  
habitat, période de reproduction
- ▶ Approche phylogénétique  
divergence génétique
- ▶ Approche reproductive:  
concept d'espèce biologique



**Similaire**

# Taxa cryptiques

- ▶ Approche phénotypique  
couleur, forme, comportement
- ▶ Approche écologique  
habitat, période de reproduction
- ▶ Approche phylogénétique  
divergence génétique
- ▶ Approche reproductive:  
concept d'espèce biologique



Similaire



ADN mitochondrial  
seulement



# Taxa cryptiques

► Approche phénotypique  
couleur, forme, comportement

► Approche écologique  
habitat, période de reproduction

► Approche phylogénétique  
divergence génétique

► Approche reproductive:  
concept d'espèce biologique

Similaire

ADN mitochondrial  
seulement

Pas toujours de  
contact naturel

# Taxa cryptiques

► Approche phénotypique  
couleur, forme, comportement

► Approche écologique  
habitat, période de reproduction

► Approche phylogénétique  
divergence génétique

► Approche reproductive:  
concept d'espèce biologique

Similaire

ADN mitochondrial  
seulement

Pas toujours de  
contact naturel

⇒ Besoin d'études moléculaires adaptées (phylogénies, analyses de zone hybride)

# La (Les?) rainette(s?) Italienne(s?)

## ► *Hyla intermedia*

- Séparé de *Hyla arborea* en 1995 par Nascetti et al., sur la base de différences protéiques (allozymes)
- Pas de critères phénotypiques
- Répartition en Péninsule Italienne + Sicile + Tessin Suisse + Grangettes (introduction)



**Nombreux travaux moléculaires:**

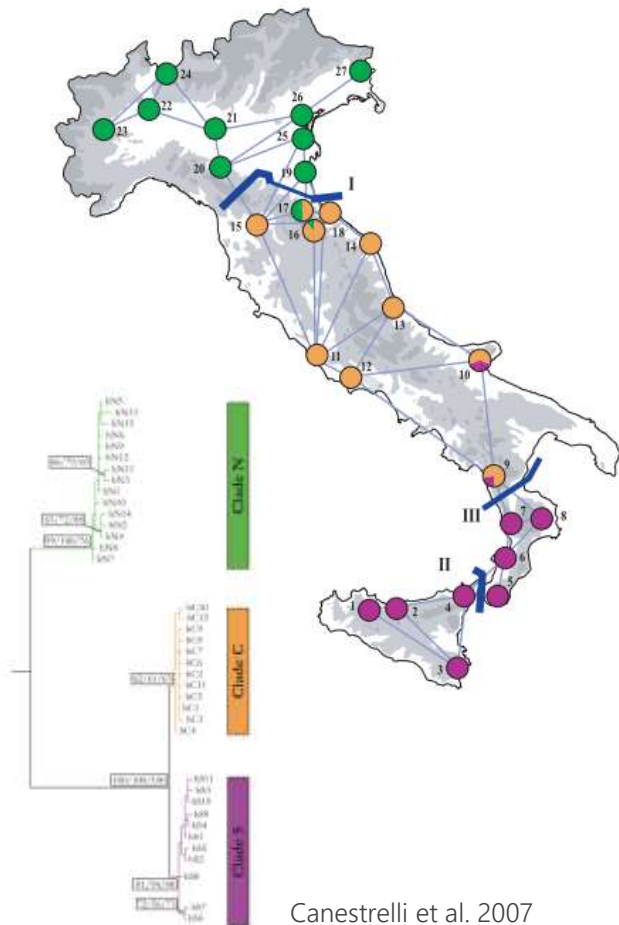
Soupçons de groupes génétiques distincts entre le nord et le sud de la Péninsule

# La (Les?) rainette(s?) Italienne(s?)

Différences nord-sud marquées sur l'ADN mitochondrial...

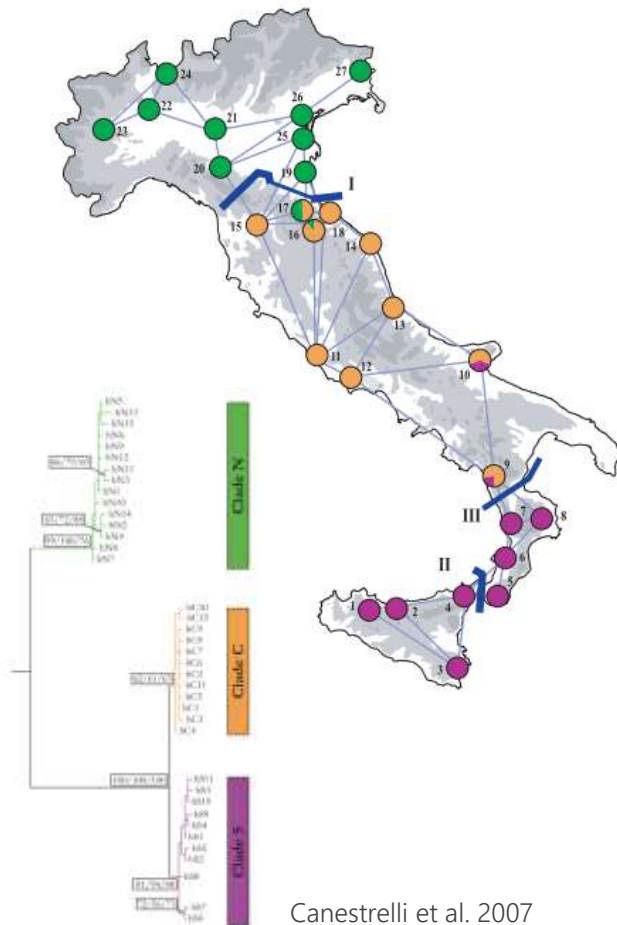
# La (Les?) rainette(s?) Italienne(s?)

Différences nord-sud marquées sur l'ADN mitochondrial...

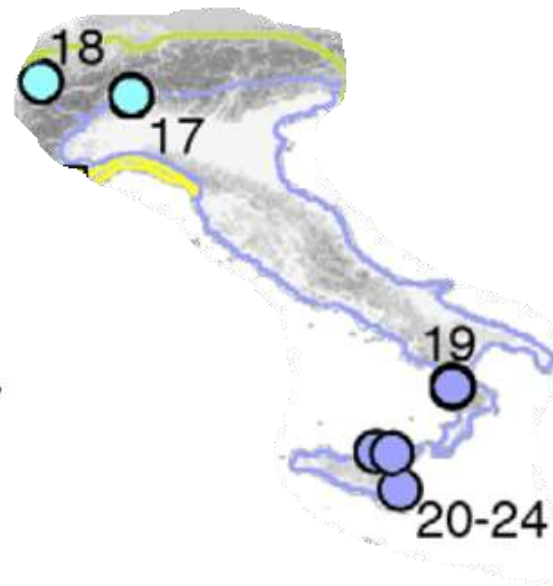


# La (Les?) rainette(s?) Italienne(s?)

Différences nord-sud marquées sur l'ADN mitochondrial...



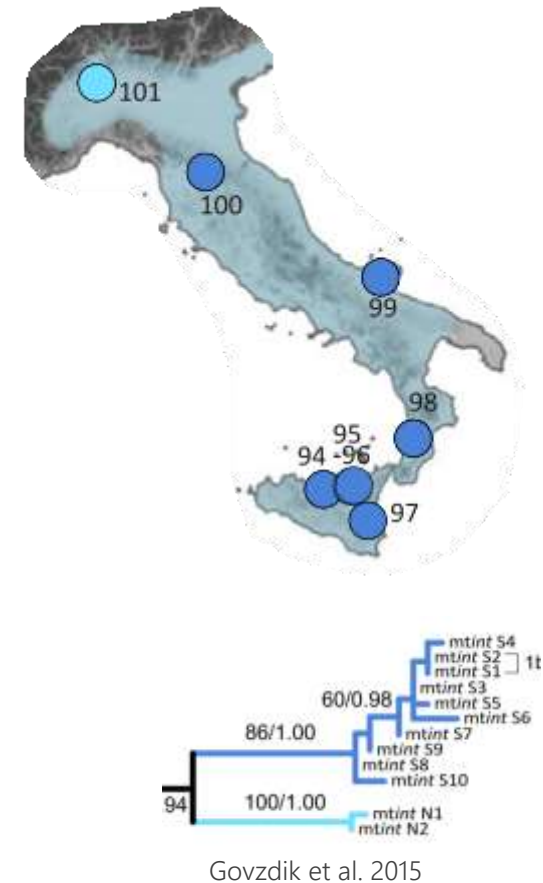
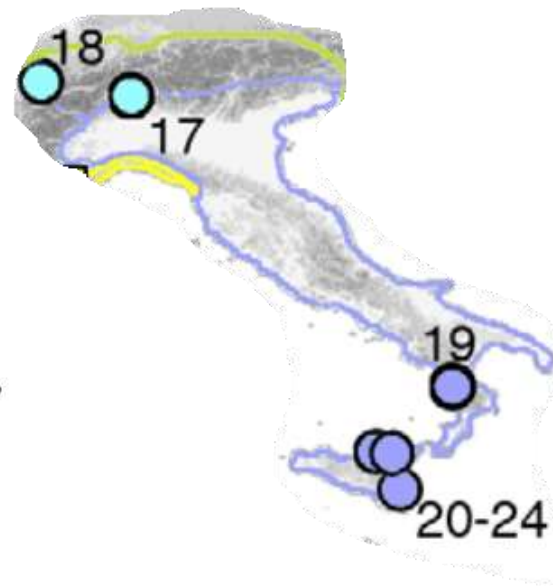
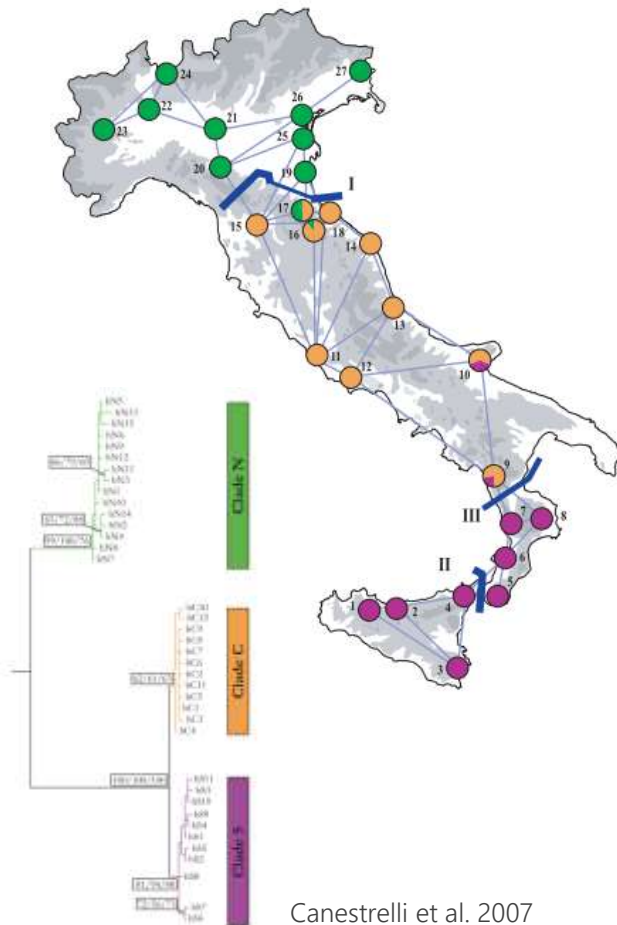
Canestrelli et al. 2007



Stöck et al. 2008

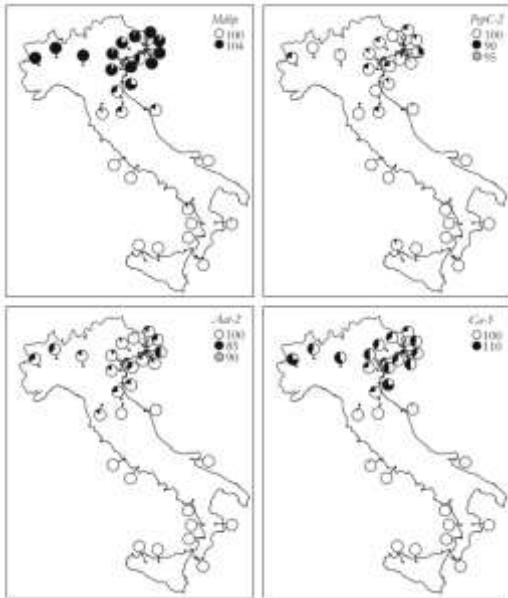
# La (Les?) rainette(s?) Italienne(s?)

Différences nord-sud marquées sur l'ADN mitochondrial...



# La (Les?) rainette(s?) Italienne(s?)

...mais pas au niveau nucléaire.

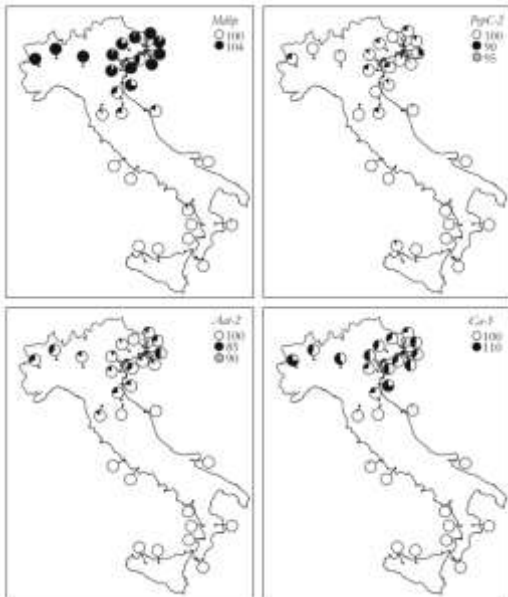


Canestrelli et al. 2007



# La (Les?) rainette(s?) Italienne(s?)

...mais pas au niveau nucléaire.



cf. *intermedia*\_G7.1\_Switzerland  
cf. *intermedia*\_Ti01\_Switzerland  
cf. *intermedia*\_Ti02\_Switzerland

*intermedia*\_NME916/01a\_Calabria  
*intermedia*\_NME915/01a\_Sicily  
*intermedia*\_101\_Sicily  
*intermedia*\_102\_Sicily  
*intermedia*\_103\_Sicily  
*intermedia*\_81\_Sicily

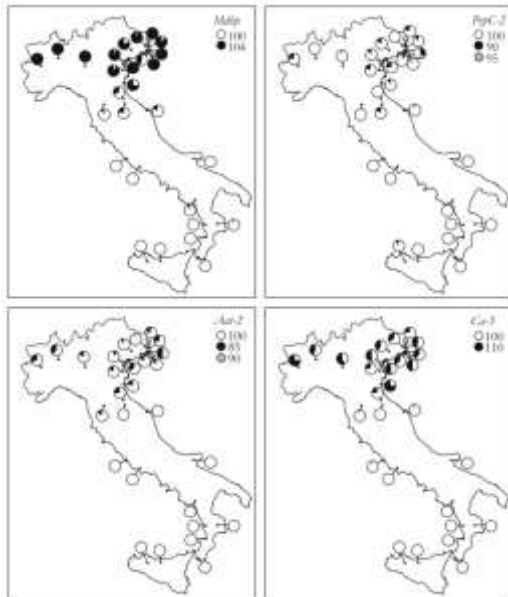
Hint\_PA13\_6cl\_loc. 50  
Hint\_PA2\_6cl\_loc. 50  
Hint\_PA6\_4cl\_loc. 50  
Hint\_PA12\_3cl\_loc. 50  
Hint\_NME916\_01\_1cl\_loc. 64  
70/ Hint\_Sicily103\_1cl\_loc. 60  
98/ 85/ HintNME915\_01\_12cl\_loc. 59  
Hint\_PA6\_2cl\_loc. 50  
100/ Hint\_NME915\_1cl\_loc. 59

Canestrelli et al. 2007

Stöck et al. 2008, 2012

# La (Les?) rainette(s?) Italienne(s?)

...mais pas au niveau nucléaire.



cf. *intermedia*\_G7.1\_Switzerland  
 cf. *intermedia*\_Ti01\_Switzerland  
 cf. *intermedia*\_Ti02\_Switzerland

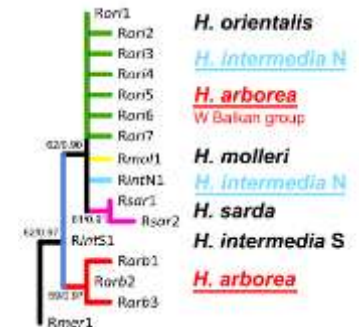
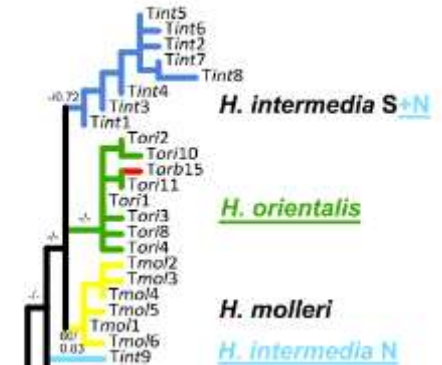
*intermedia*\_NME916/01a\_Calabria  
*intermedia*\_NME915/01a\_Sicily  
*intermedia*\_101\_Sicily  
*intermedia*\_102\_Sicily  
*intermedia*\_103\_Sicily  
*intermedia*\_81\_Sicily

Hint\_PA13\_6cl\_loc. 50  
 Hint\_PA2\_6cl\_loc. 50  
 Hint\_PA6\_4cl\_loc. 50  
 Hint\_PA12\_3cl\_loc. 50

70/  
 98 85/  
 100 Hint\_NME916\_01\_1cl\_loc. 64  
 Hint\_Sicily103\_1cl\_loc. 60  
 HintNME915\_01\_12cl\_loc. 59  
 Hint\_PA6\_2cl\_loc. 50  
 Hint\_NME915\_1cl\_loc. 59

Canestrelli et al. 2007

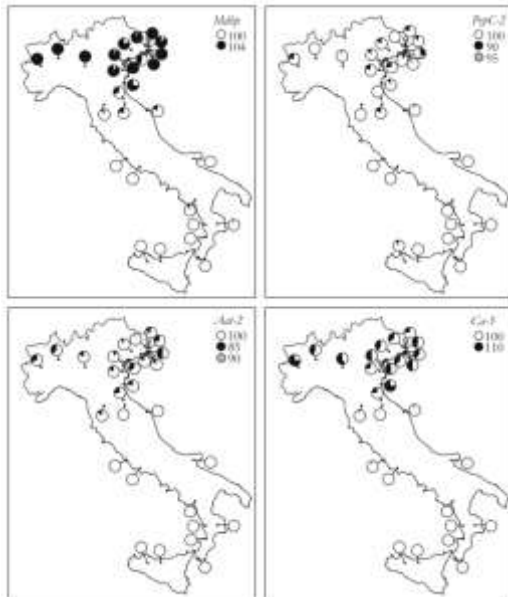
Stöck et al. 2008, 2012



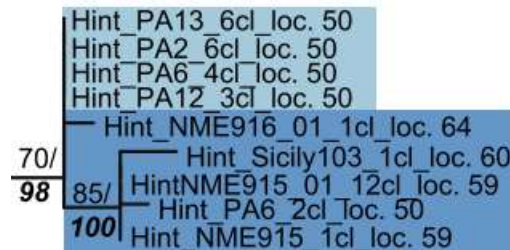
Govzdik et al. 2015

# La (Les?) rainette(s?) Italienne(s?)

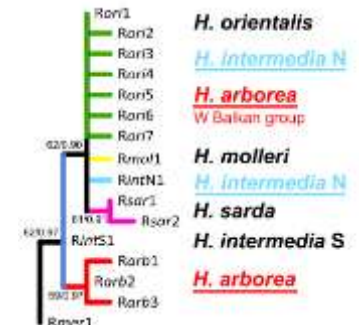
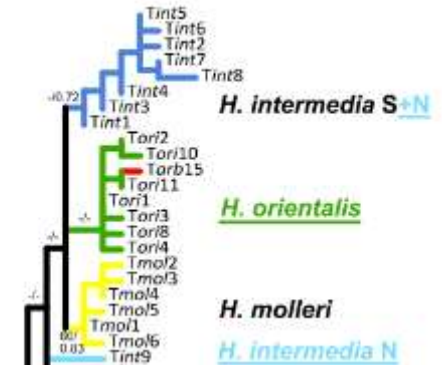
...mais pas au niveau nucléaire.



Canestrelli et al. 2007



Stöck et al. 2008, 2012



Govzdik et al. 2015

Polymorphisme ancestral à ces marqueurs? Hybridation massive? Taxa insuffisamment différenciées?

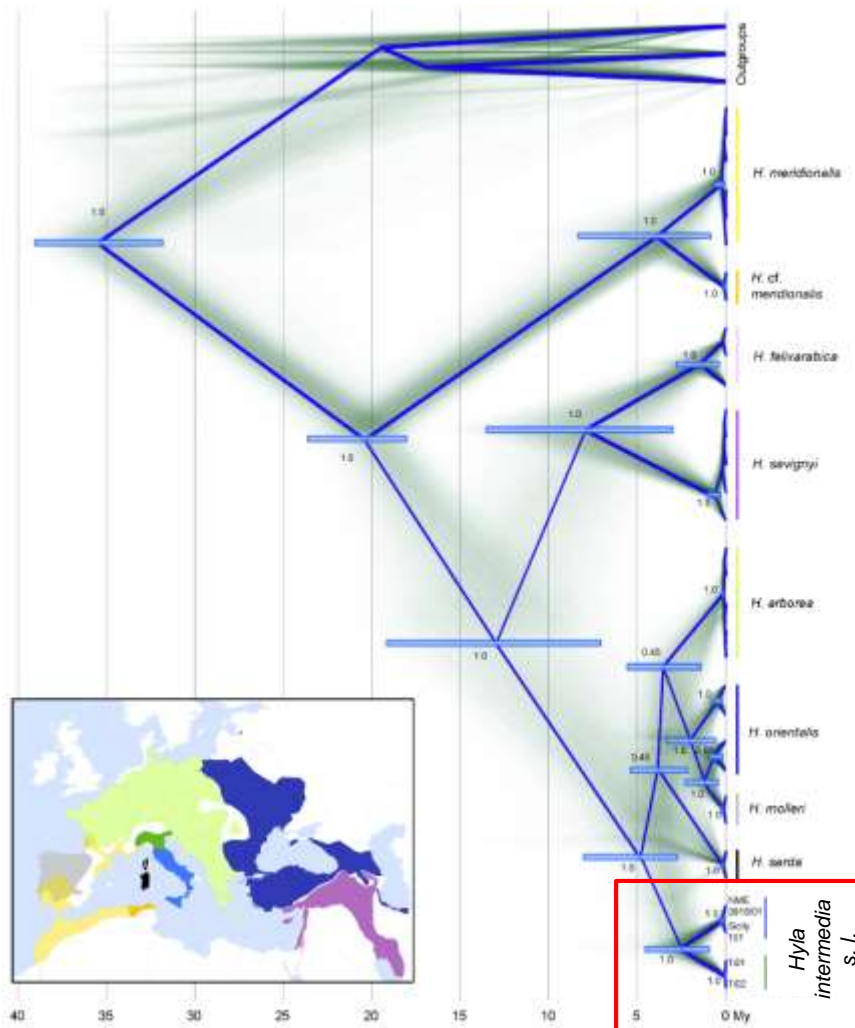
Espèces différentes ou pas?

# Phylogéographie next-gen.

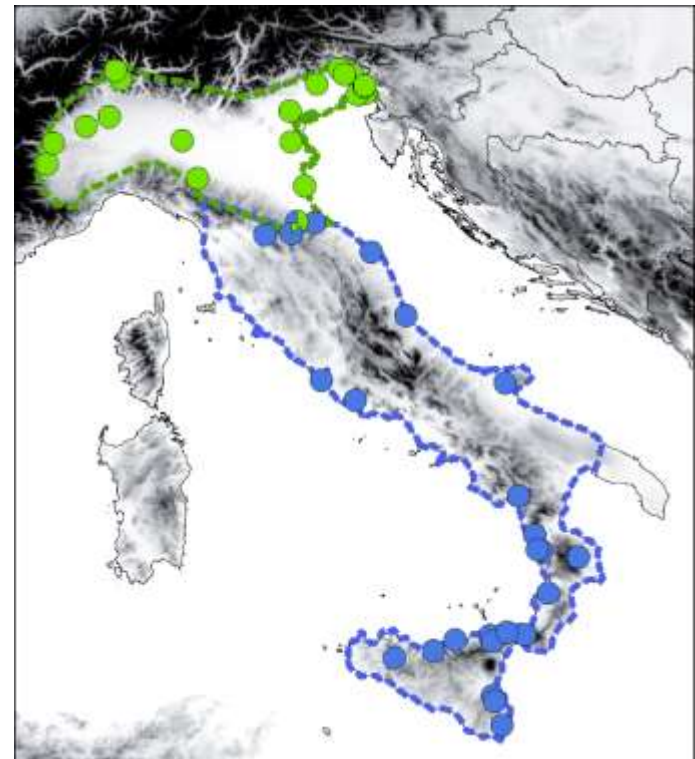
- ▶ **RAD-seq**: séquençage au débit fragment d'ADN sélectionné (par restriction enzymatique et taille).
- ▶ Méthode transférable entre organismes, coûts abordables (comparables à 20 microsatellites) et délais restreints (quelques semaines).
- ▶ Milliers de marqueurs génétiques utilisables pour des analyses classiques de phylogénie et génétique des populations

# Phylogénie des rainettes

- ▶ ADN mitochondrial (COI + *cyt-b*, 1.6kb)

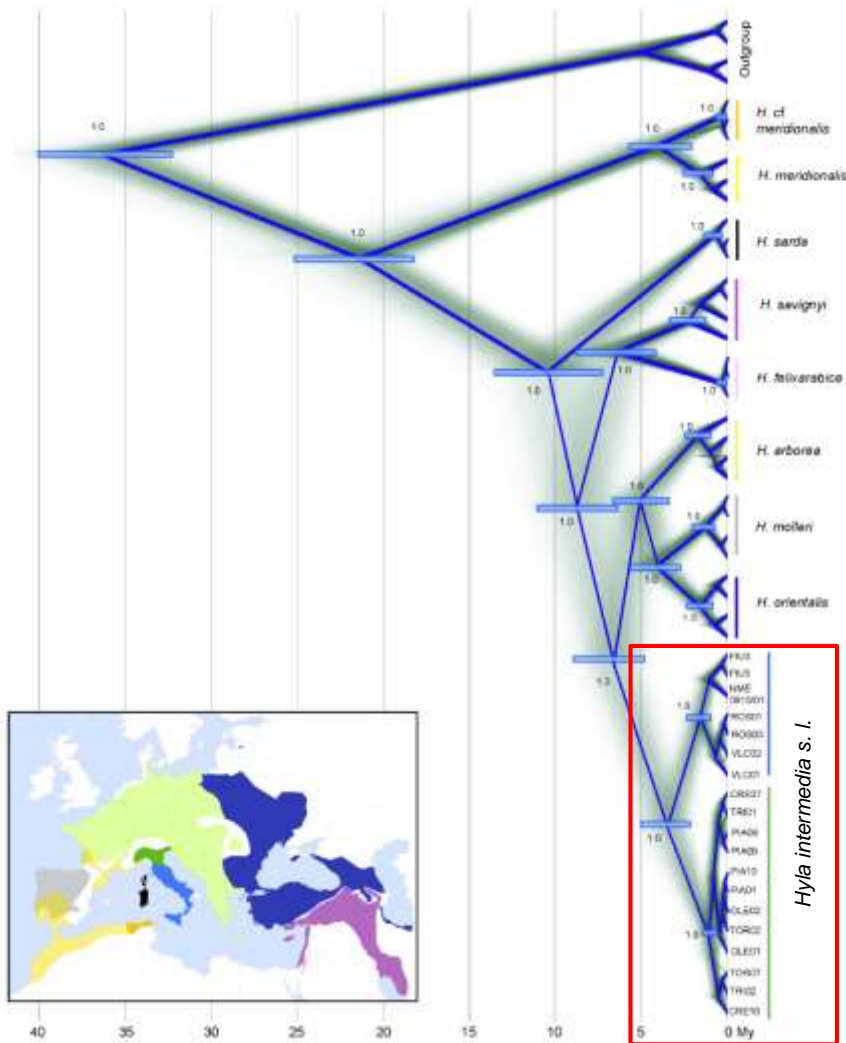


Lignées mitochondriales indépendantes estimées à ~2.5 millions d'années

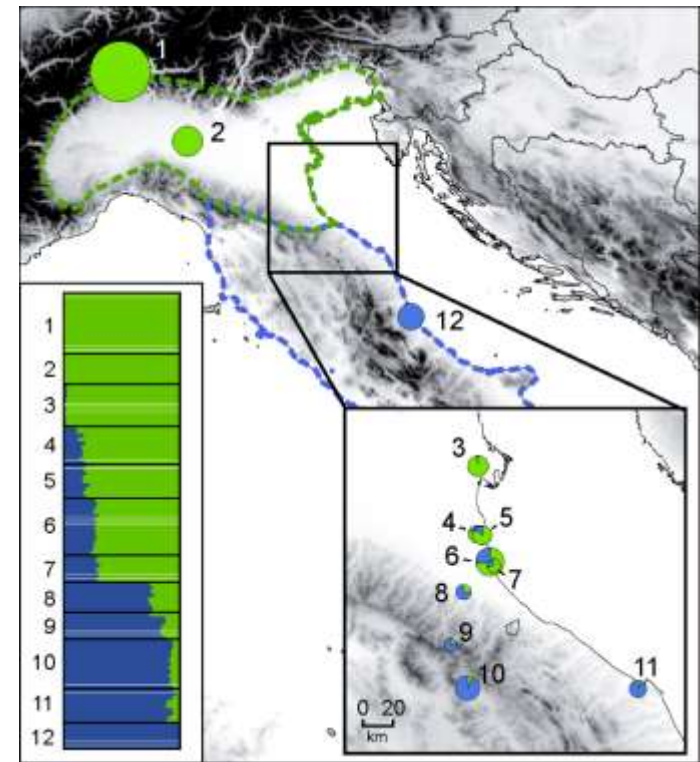


# Phylogénie des rainettes

- ADN nucléaire (621 RAD-tags, 42kb)

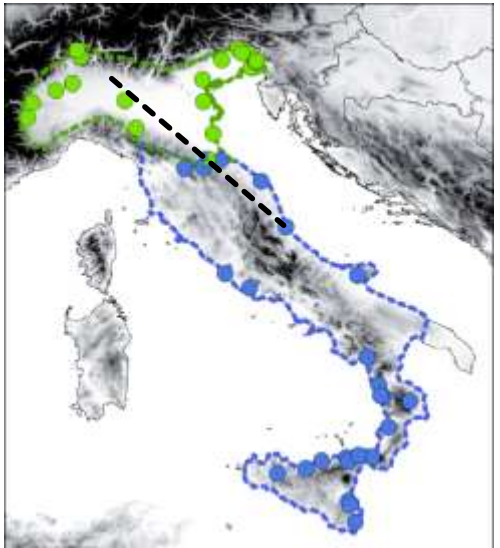


Lignées nucléaires indépendantes estimés à ~3.5 millions d'années

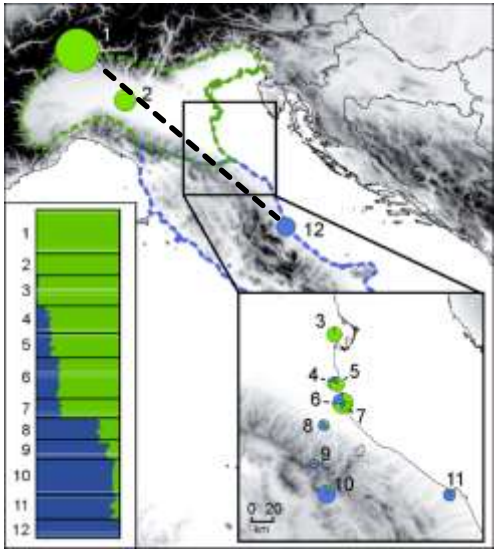


# Zone hybride

ADN mitochondrial

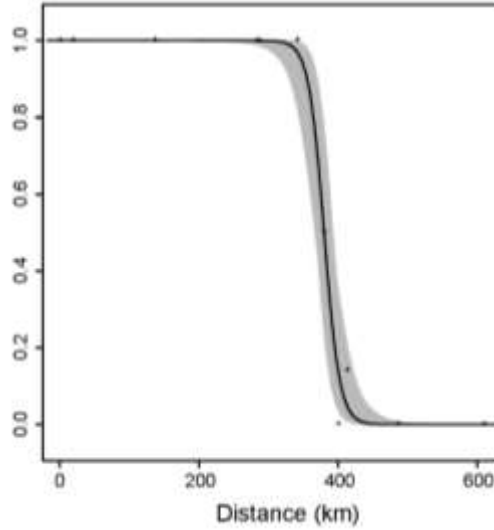
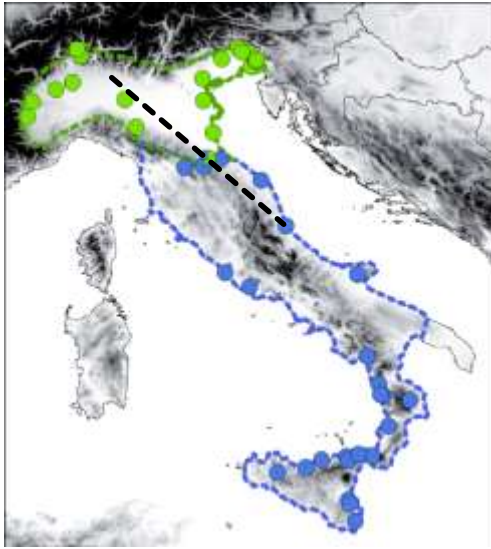


ADN nucléaire



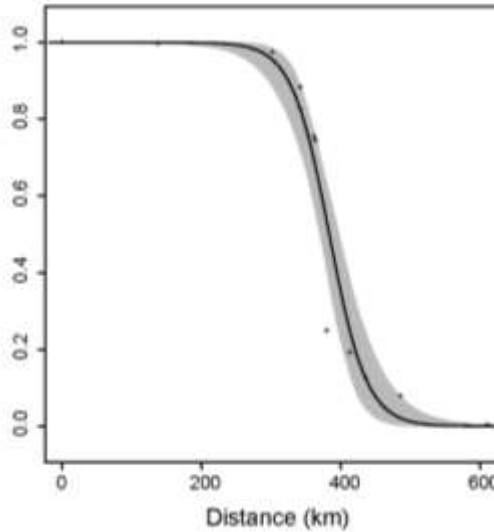
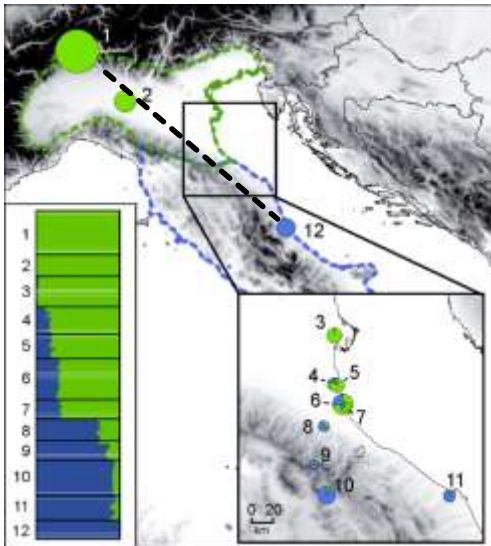
# Zone hybride

ADN mitochondrial



Transition de 41 km

ADN nucléaire

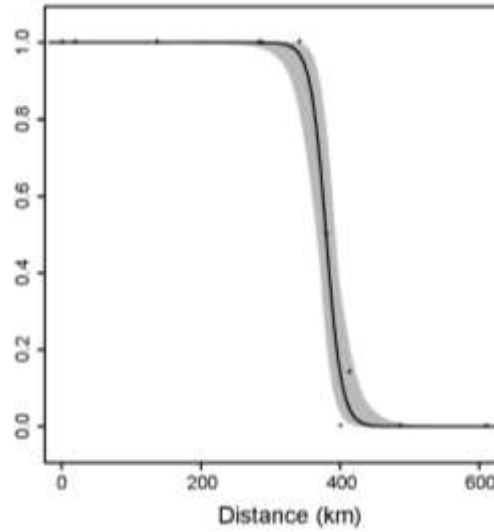
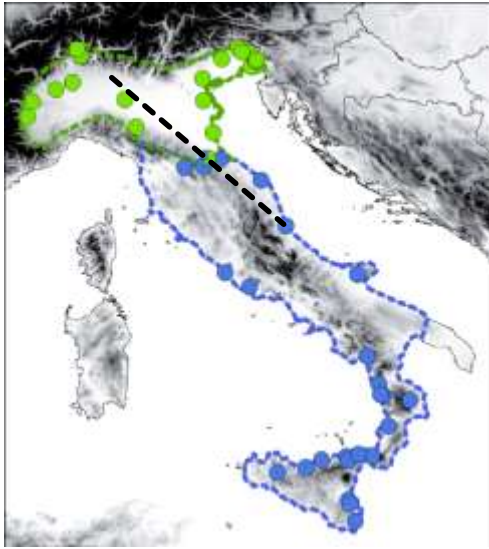


Transition de 96 km



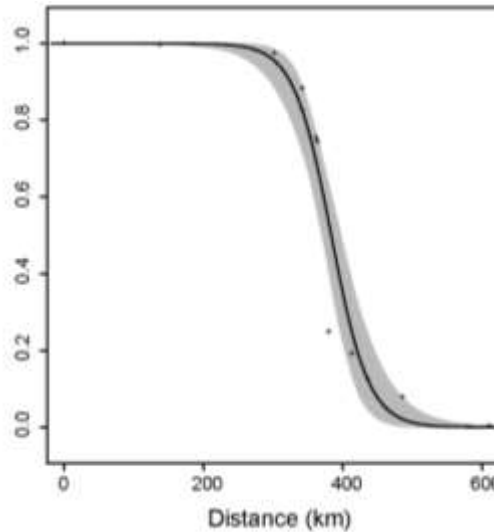
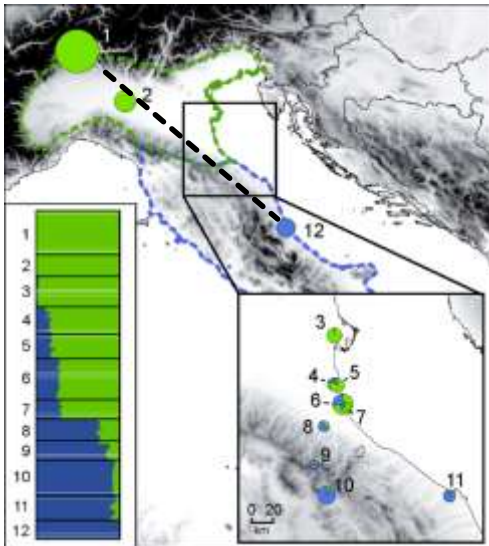
# Zone hybride

ADN mitochondrial



Transition de 41 km

ADN nucléaire



Transition de 96 km

Si hybridation libre:  
>41 km en ~200 ans  
>96 km en ~1000 ans

# Deux espèces distinctes

- ▶ Preuve 1: Fortes divergences mitochondriales ET nucléaires

Isolation depuis au moins 2-3 million d'années (formation des Apennins)

Divergence comparables à d'autres couples d'espèces distinctes d'amphibiens

- ▶ Preuve 2: Zone hybride étroite (<100km)

Isolement reproducteur partiel

Transitions comparables à d'autres couples d'espèces distinctes d'amphibiens

⇒ *Hyla intermedia* (sud) et nouvelle espèce (nord)



Originellement  
décrite en Sicile

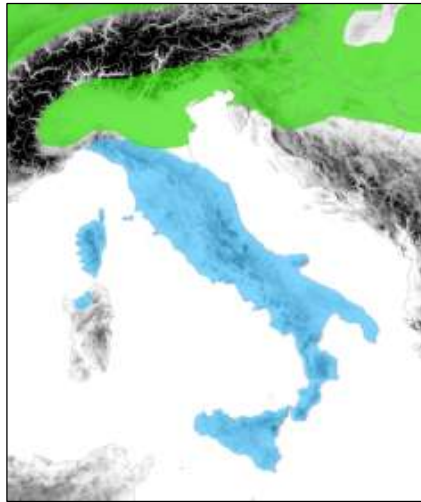


Aucun nom  
disponible

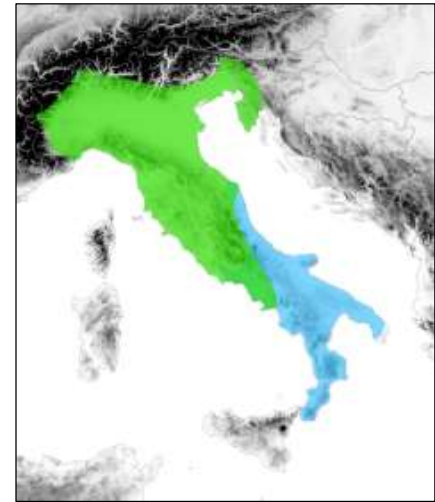
# à l'Italienne...



*Bombina  
variegata /  
pachypus*



*Pelophylax  
lessonae /  
bergeri*



*Lissotriton  
vulgaris  
meridionalis /  
italicus*



# *Hyla perrini* sp. nov.

► Carte d'identité

Localité type: Piazzogna, TI



# *Hyla perrini* sp. nov.

► Carte d'identité

Localité type: Piazzogna, TI

Série type: déposé au MCZL (Lausanne)



# *Hyla perrini* sp. nov.

► Carte d'identité

Localité type: Piazzogna, TI

Série type: déposé au MCZL (Lausanne)

Étymologie: nommé après Nicolas Perrin



# *Hyla perrini* sp. nov.

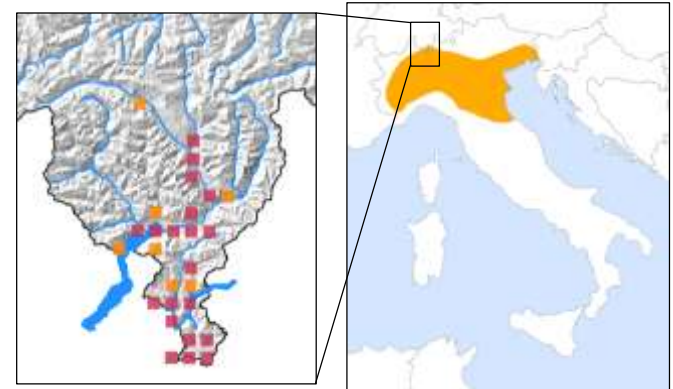
► Carte d'identité

Localité type: Piazzogna, TI

Série type: déposé au MCZL (Lausanne)

Étymologie: nommé après Nicolas Perrin

Distribution: Plaine du Po et Tessin Suisse.





# *Hyla perrini* sp. nov.

► Carte d'identité

Localité type: Piazzogna, TI

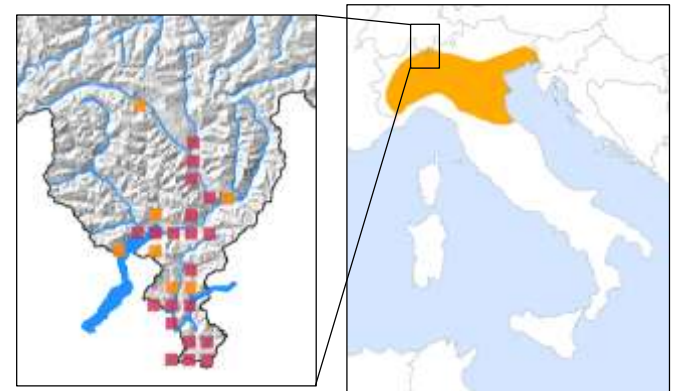
Série type: déposé au MCZL (Lausanne)

Etymologie: nommé après Nicolas Perrin

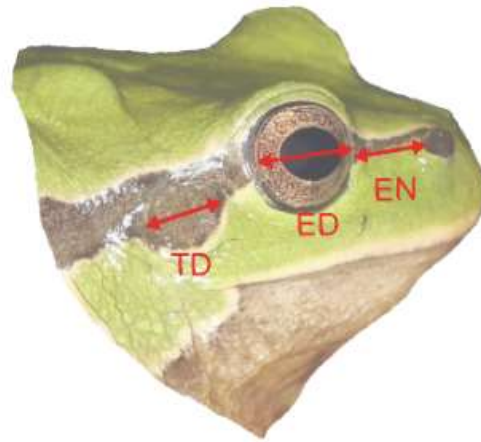
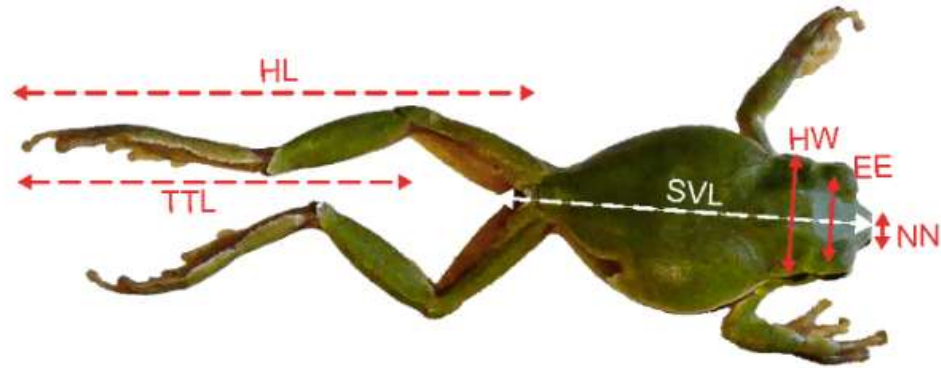
Distribution: Plaine du Po et Tessin Suisse.

Critères: génétiques + distribution

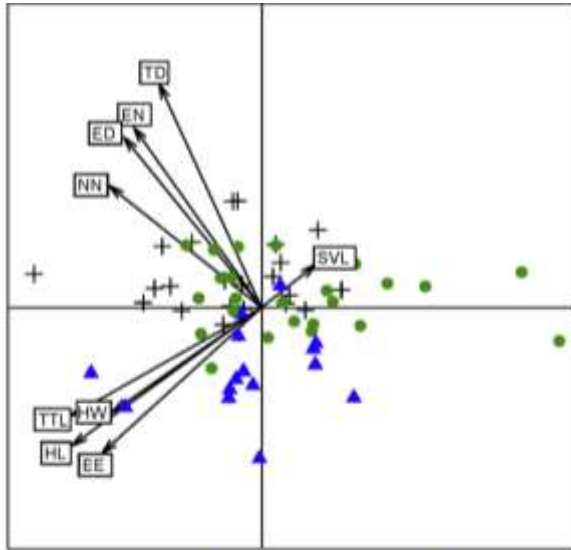
Critères morphologiques?



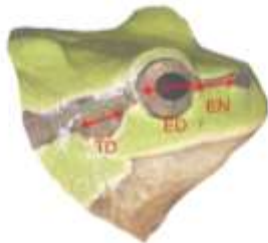
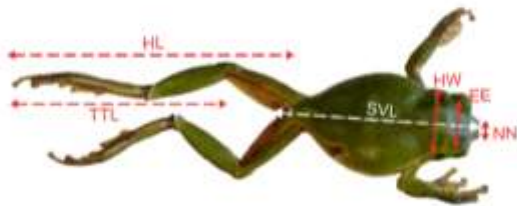
# Morphométrie



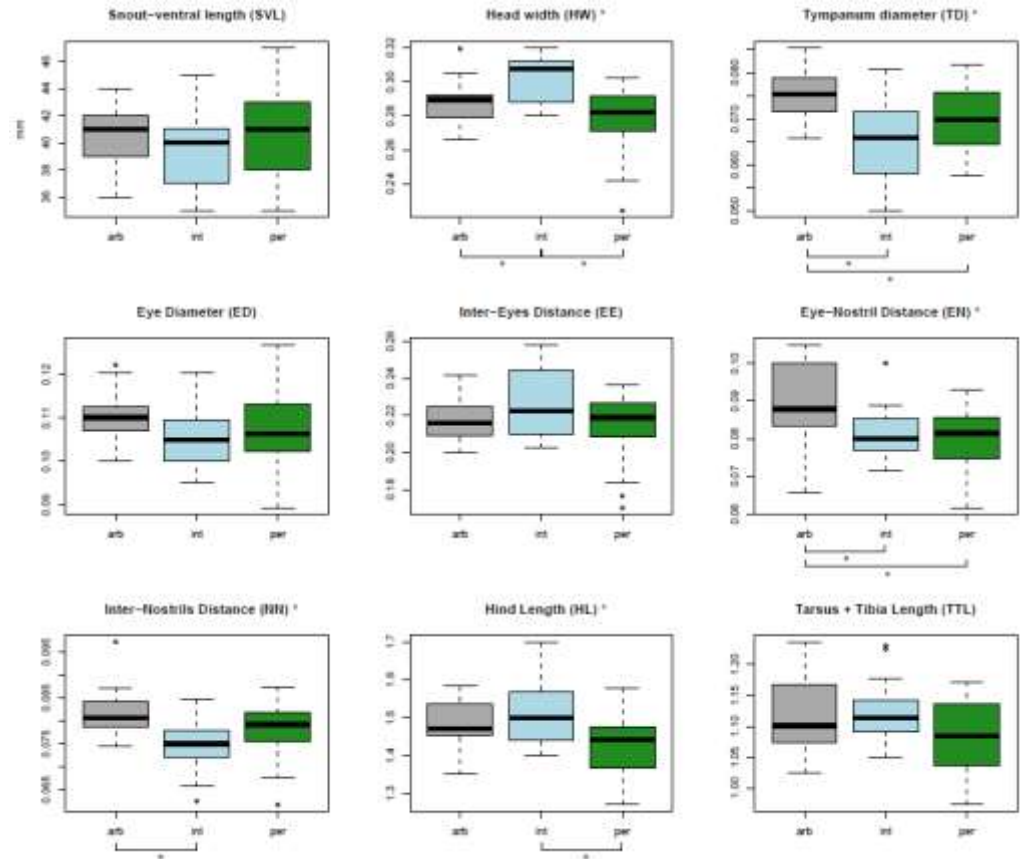
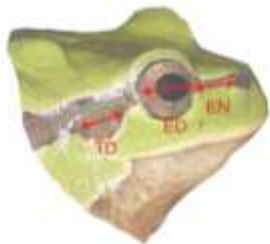
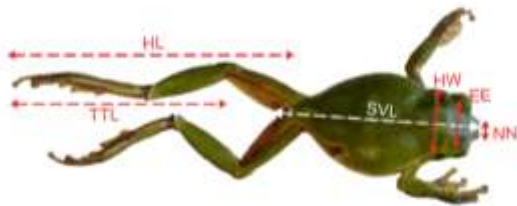
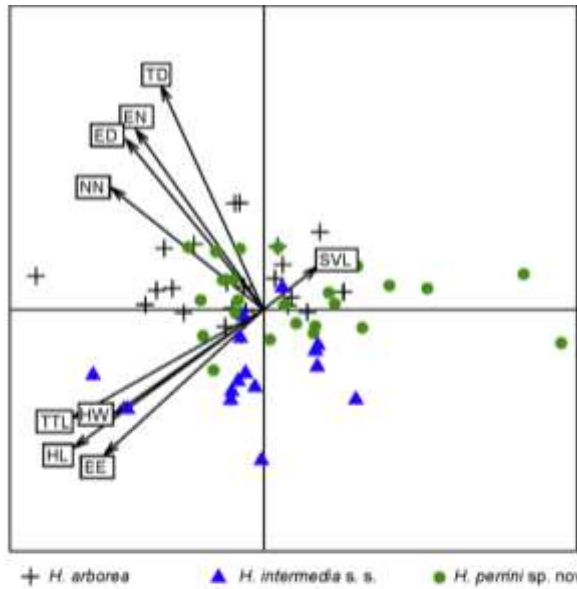
# Morphométrie



+ *H. arborea*    ▲ *H. intermedia* s. s.    ● *H. perini* sp. nov.

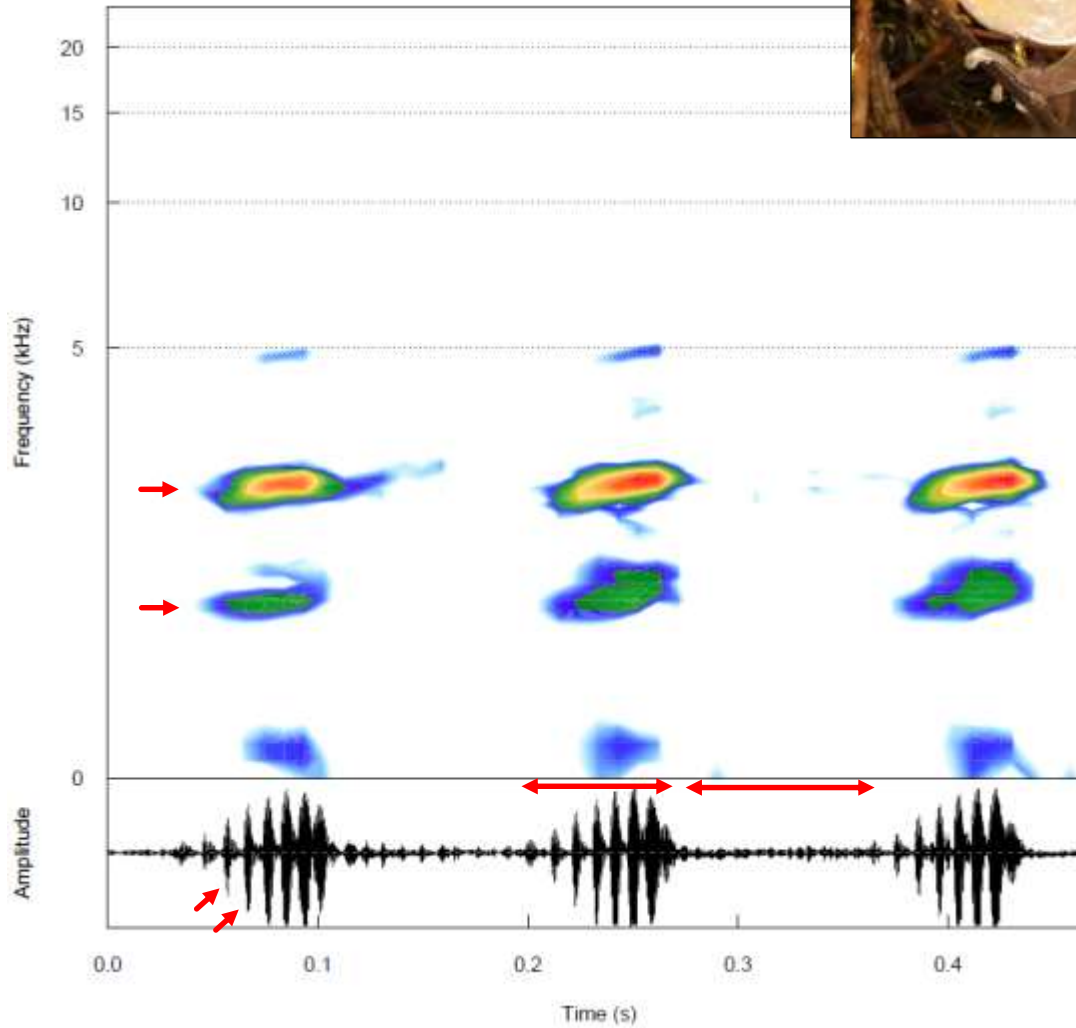


# Morphométrie

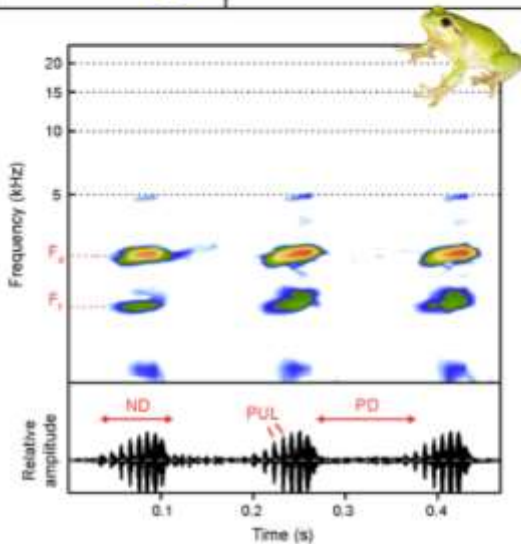
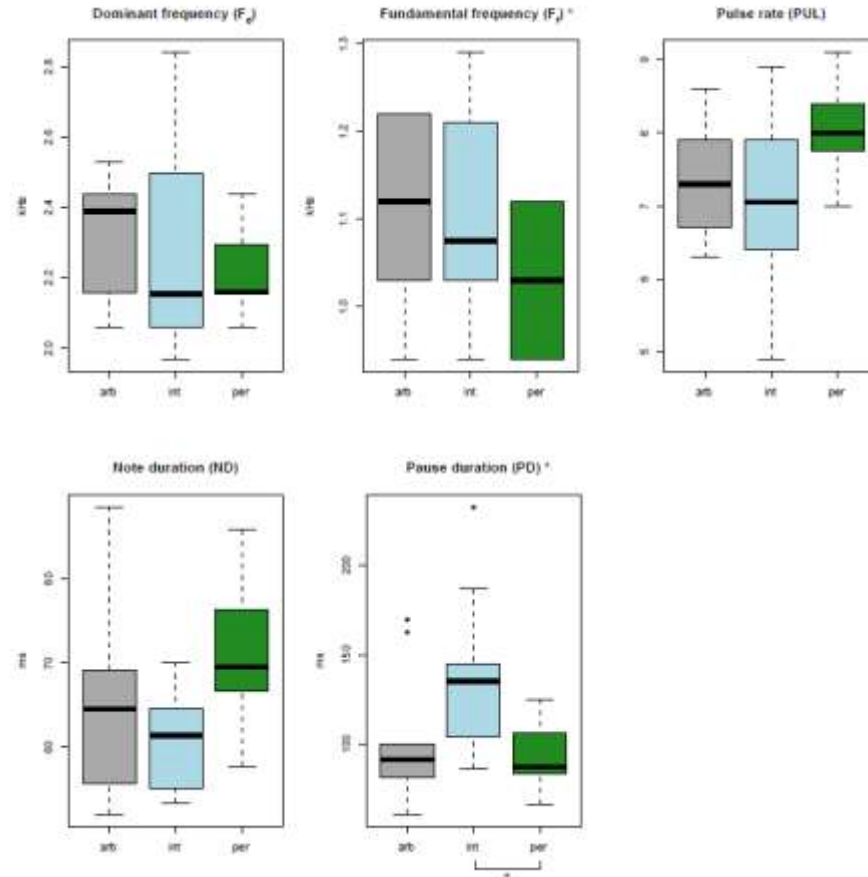
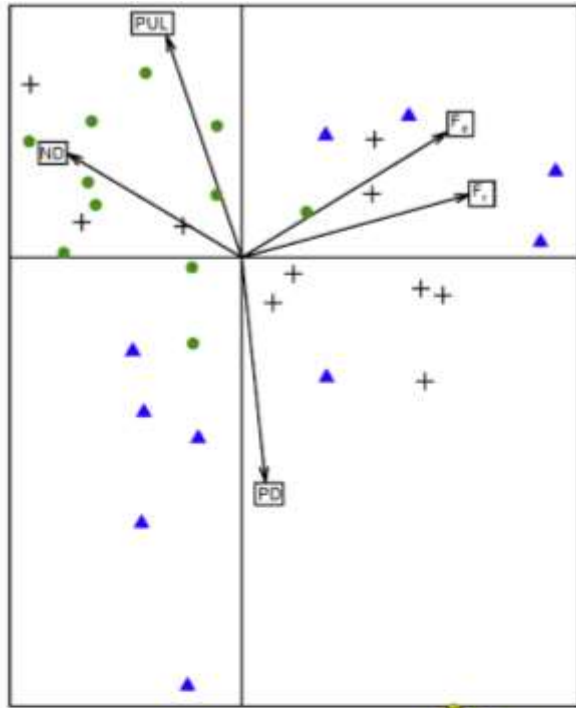


Quelques différences anecdotiques mais aucun critère diagnostique

# Bioacoustique



# Bioacoustique



Chant similaire à *Hyla intermedia* et *H. arborea*

# Conclusion

- ▶ *Hyla perrini*, nouvelle espèce cryptique d'amphibien en Europe et en Suisse.

 **frontiers**  
in Ecology and Evolution

ORIGINAL RESEARCH  
published: 02 October 2018  
doi: 10.3389/fevo.2018.00017



## Genomic Evidence for Cryptic Speciation in Tree Frogs From the Apennine Peninsula, With Description of *Hyla perrini* sp. nov

Christophe Dufresnes<sup>1,2,3\*</sup>, Glib Mazepa<sup>1,4</sup>, Nicolas Rodrigues<sup>1</sup>, Alan Brelsford<sup>1,5</sup>, Spartak N. Litvinchuk<sup>6</sup>, Roberto Sermier<sup>1</sup>, Guillaume Lavanchy<sup>1</sup>, Caroline Betto-Colliard<sup>1</sup>, Olivier Blaser<sup>1</sup>, Amaël Borzée<sup>7</sup>, Elisa Cavoto<sup>1</sup>, Guillaume Fabre<sup>1</sup>, Karim Ghali<sup>1</sup>, Christine Gossen<sup>1</sup>, Agnes Horn<sup>1</sup>, Julien Leuenberger<sup>1</sup>, Barret C. Phillips<sup>1</sup>, Paul A. Saunders<sup>1</sup>, Romain Savary<sup>1</sup>, Tiziano Maddalena<sup>8</sup>, Matthias Stöck<sup>9</sup>, Sylvain Dubey<sup>1,3</sup>, Daniele Canestrelli<sup>10</sup> and Daniel L. Jeffries<sup>1</sup>



# Pour s'y habituer ☺



## AMPHIBIANS

OF EUROPE, NORTH AFRICA  
& THE MIDDLE EAST  
A PHOTOGRAPHIC GUIDE

Christophe Dufresnes



**Left** The lateral stripe is highly variable between individuals.

**Right** This individual is the specimen (holotype), chosen for the description of this new species.

### Perrin's Tree Frog – *Hyla perrini*

One of the most recent tree frog species to be discovered and described, Perrin's Tree Frog (or the Po Tree Frog) inhabits the Po Plain and adjacent north Italian valleys, as well as the Swiss canton of Ticino. My colleagues and I named it after my PhD adviser and friend, Professor Nicolas Perrin, as a tribute to his numerous scientific contributions in various fields of zoology, particularly regarding the evolution and diversity of Palearctic tree frogs. This species diverged several million years ago from its relatives the European Tree Frog (page 61) and Italian Tree Frog (page 62), with which it marginally admixes in north-eastern and central Italy respectively.

#### Identification Criteria

Morphologically identical to European Tree Frog and distinguishable only by distribution (see map).

**Size:** 3–5cm

**Habitat:** As for European Tree Frog

**Reproductive Period:** April–June

**Sexual Dimorphism:** As for European Tree Frog

**Call:** As for European Tree Frog

**Spawn/Tadpoles:** As for European Tree Frog

**IUCN Red List:** —

