

**Elevage conservatoire du Triton crêté (*Triturus cristatus*) (Laurenti, 1768). Une approche complémentaire à la gestion intégrée des populations de la région Provence-Alpes-Côte-d'Azur ? **Etude préliminaire****



Projet mené avec le soutien financier :

# Elevage conservatoire du Triton crêté (*Triturus cristatus*) (Laurenti, 1768). Une approche complémentaire à la gestion intégrée des populations de la région Provence-Alpes-Côte-d'Azur ? Etude préliminaire

Document réalisé par :

Transmis le 02/01/2026



NATURALIA Environnement  
Pôle Recherche – Développement - Innovation

Avec la participation :



Muséum Nation d'Histoire Naturelle  
UMR 7205 – Institut de systématique, évolution,  
Biodiversité

**Coordination :** Eric Durand / NATURALIA Environnement

**Auteurs :** E. Durand, T. Ferraille, F. Mignet ; J. Kamdoun-Ngeuko ; C. Dufresnes-MNHN (volet 2)

**Mots clés :** Modélisation ; génomique ; élevage conservatoire ; stratégie conservatoire

## Remerciements :

Nos sincères remerciements à l'ensemble des structures – personnes sollicités dans le cadre de ce programme :

**CEFE-CNRS & Société Herpétologique de France :** Claude MIAUD

**CEFE-CNRS :** Pierre-André CROCHET

**CEN PACA :** Marc-Antoine MARCHAND ; Florence MENETRIER ; Grégoire LANDRU ; Florian PLAULT, César RENAUDON

**CEN Occitanie :** Pauline BERNARD ; Martin PICART

**CEN AURA :** Mathilde VICENTE, Maeva LILLE, Delphine DANANCHER

**DREAL PACA :** Sylvain RIVET

**GHRA :** Jean-Luc GROSSI

**LPO Drôme :** Margaux SICRE

**MNHN – Parc Zoologique de Paris :** Olivier MARQUIS

**MNHN :** Christophe DUFRESNES

**NATURALIA :** Samuel GUIRAUDOU, Antoine COQUIS, Vincent VIGNON

**PNR Camargue :** Lucie SCHAEFFER ; Marc Cheylan (comité scientifique PNRC)

**Stati-pop :** Pauline PRIOL

**SMIGIBA :** Eric HUSTACHE ; Théophile ROUBALLAY

**Tour du Valat :** Anthony OLIVIER

**Mise à disposition - données d'observations :** Silène-Faune – SINP PACA ; Biodiv Oc – SINP Occitanie ; Biodiv AURA – SINP AURA ; BDD Malpolon – CEFE-CNRS ; OpenObs INPN ; LPO Drôme ; Naturalia Environnement.

**Mise à disposition - matériel génétique :** CEFE collection BEV ; Dufresnes et al., 2016

## Table des matières

<b>Préambule</b> .....	<b>5</b>
Eléments contextuels .....	5
Objectifs de l'étude.....	6
<b>Modèle d'étude</b> .....	<b>8</b>
<b>Description</b> .....	<b>8</b>
Distribution du genre <i>Triturus</i> .....	8
Distribution nationale du Triton crêté .....	9
Cartographie des stations contemporaines en zone méditerranéenne française .....	10
Distance entre les populations méditerranéennes .....	11
Distribution passée et présente en Occitanie et PACA .....	11
Eléments clés d'écologie de l'espèce.....	13
Principaux facteurs de pression des populations méditerranéennes .....	14
Bibliographie .....	21
<b>Volet 1 – Cartographies prédictives des habitats du Triton crêté.....</b>	<b>25</b>
Objectifs .....	25
Matériel et méthodes .....	26
Résultats .....	33
Eléments de discussion .....	42
Bibliographie .....	43
<b>Volet 2 - Génomique des populations méditerranéennes de Triton crêté .....</b>	<b>46</b>
Objectifs .....	46
Matériel et méthodes .....	47
Mobilisation d'autres sources de matériel génétique .....	51
Technique de séquençage .....	51
<b>Analyse génétique .....</b>	<b>52</b>
Résultats Bilan des prélèvements issus de la campagne 2024 .....	53
Eléments de discussion .....	63
Bibliographie .....	65
<b>Volet 3 – Translocation - élevage conservatoire des tritons « de grande taille » en Europe.</b>	
<b>Etat de l'art .....</b>	<b>67</b>
Etat de l'art des pratiques associés aux programmes de translocation et élevages conservatoires.....	68

Synthèse des informations récurrentes et/ou consensus scientifiques sur les programmes de conservation dédiés aux amphibiens et plus particulièrement au Triton crêté .....	79
Microbiote et comportements .....	82
Pathologies dans le cadre des programmes de translocation / élevage conservatoire .....	87
<b>Apports et perspectives .....</b>	<b>93</b>
Résumé des éléments clés collectés .....	93
Perspectives .....	95
Types d'actions locales envisageables en lien avec l'élevage conservatoire.....	98
<b>Annexes .....</b>	<b>100</b>
Annexe 1 – Inter-distance des populations au sein des 5 départements considérés .....	101
Annexe 2 – Courbes de réponses et évaluation des SDM.....	102
Annexe 3 – Comparaison des SDM.....	118
Annexe 4 – Pré-identification des secteurs à étudier pour la translocation du Triton crêté ...	120



# Préambule

## Eléments contextuels

La région PACA abrite plus de 60% des espèces d'amphibiens (n=21) présentes sur le territoire métropolitain. Près d'un tiers sont aujourd'hui menacées au niveau régional (Marchand et al., 2015), une situation identique à l'échelle de l'ensemble de la zone méditerranéenne (Cox et al., 2006). Ces constats s'expliquent grandement par deux grands types de pressions dont les effets se combinent et amplifient les atteintes sur la biodiversité au sens large et plus spécifiquement sur la batrachofaune :

- Pressions « territoriales » (non exhaustif) : forte croissance démographique régionale de ces 60 dernières années à l'origine d'une artificialisation du territoire, mutation des terres agricoles vers des systèmes d'exploitation intensifs, changements des pratiques pastorales et de la foresterie ; introduction d'espèces exogènes et envahissantes.
- Pressions « globales » : changement climatique qui sous nos latitudes se traduit principalement par une baisse notable du cumul annuel de précipitations (Aubé, 2016) et d'une variabilité inter-annuelle accrue (température ; intensité des pluies ; ...) (GREC-SUD, 2016). Ces puissants facteurs entraînent vraisemblablement une conversion profonde de la physionomie des formations méditerranéennes.

En zone méditerranéenne occidentale, des données de modélisation tendent à montrer que certaines espèces de batraciens disposent de capacités d'adaptation suffisantes pour espérer se maintenir (cas notamment de certains *Bufo sp.* et *Pelophylax sp.*) (Rodriguez-Rodriguez et al., 2022). Cette plasticité concerne essentiellement des espèces ubiquistes et à large distribution. A contrario, les espèces plus exigeantes en termes d'habitats, celles à distribution limitée et/ou isolée vont subir une évolution de leur aire de distribution (migration vers des zones refuges ; contraction d'aire) voire une disparition pour certaines d'entre elles.

Dans ce contexte, les potentiels d'adaptation spatiale des espèces d'amphibiens sous l'effet des changements globaux et territoriaux constituent des éléments préliminaires pertinents dans la mise en place d'une stratégie conservatoire. Si la désignation et gestion de zones protégées est aujourd'hui considérée comme le mécanisme conservatoire le plus pertinent (Gray et al., 2016), des approches complémentaires telles que la restauration de sites sont également identifiées comme des processus contributeurs en matière de gain écologique bien que leur efficacité soit plus incertaine (Atkinson et al., 2022). Les programmes d'élevage conservatoire répondent de manière exclusive à des objectifs de préservation d'espèces menacées d'extinction. A ce titre, ils font partie des 11 types de mesures préconisées par le Plan d'Action international de conservation des Amphibiens (ACAP) (Wren et al., in IUCN SSC 2024) bien qu'ils présentent une part d'incertitude sur la capacité à atteindre les objectifs initiaux. Ces verrous concernent notamment la viabilité des populations sources, l'écologie et éthologie de l'espèce visée, la qualité des habitats, les risques sanitaires, l'état génétique, l'identification précise des facteurs de menaces qui pèsent sur le ou les sites concernés, la capacité à maîtriser le foncier ou encore à engager des actions de gestion en faveur de l'espèce et durable dans le temps. L'intérêt potentiel de l'élevage conservatoire comme action complémentaire à la gestion durable des populations d'espèces menacées est ici abordée dans le cas du Triton crêté (*Triturus cristatus*), une espèce d'amphibiens urodèles en déclin et particulièrement menacée en région PACA.

## Objectifs de l'étude

Le présent programme d'étude s'intéresse au Triton crêté, espèce particulièrement rare et menacée en région PACA et à la complémentarité potentielle de l'élevage conservatoire aux actions de gestion menées au sein des deux derniers foyers populationnels régionaux indigènes. Ce travail préliminaire veut questionner la pertinence de l'élevage conservatoire appliquée à cette espèce dans les cas de :

- Sauvegarde de population en voie de disparition ;
- Renforcement de populations existantes ;
- Réintroduction de l'espèce dans des sites propices et bénéficiant d'actions de gestion efficaces et durables.

Pour cela, quatre thèmes sont ici abordés :

- i. Présentation du modèle biologique et de l'état synthétique des connaissances dans le contexte méditerranéen.
- ii. Modélisation de la distribution de l'espèce en l'état / en devenir.
  - Modélisation de l'aire de distribution de l'espèce par l'utilisation de modèles de distribution (SDM). Cette modélisation repose sur une corrélation des données d'observations avec des variables environnementales préalablement choisies et calibrées (sélection de prédicteurs discriminants).
  - La prise en compte de l'évolution climatique fait l'objet d'une approche spécifique dans la modélisation. Elle intègre également les données de probabilité de présence des milieux humides disponibles dans le RPDZH (PatriNat-OFB-CNRS-MNHN-Univ. Rennes -INRAE- Tour du Valat 2023).

- iii. Situation génétique des populations méditerranéennes.
  - Etablissement du profil génétique des populations méditerranéennes (dans le contexte européen et au sein des populations méditerranéennes ;
  - Evaluation de la diversité génétique, de l'équilibre génétique et des processus de diversification au sein des populations méditerranéennes ;
  - Vérification de l'absence de marqueurs d'hybridation avec *T. carnifex*, une espèce proche et pouvant s'hybrider avec *T. cristatus*.
  
- iv. Recueil bibliographique des pratiques de l'élevage conservatoire des espèces de « grands tritons » présents en Europe de l'Ouest.
  - Etat de l'art des pratiques de translocation et élevages conservatoires ;
  - Paramètres biologiques clés (microbiote, comportement, philopatrie) ;
  - Pathologies et protocoles de biosécurité dans le cas de l'élevage conservatoire.

# Modèle d'étude

## Description

Le Triton crêté *Triturus cristatus* (Laurenti, 1768) est un urodèle de grande taille (115 à 180 mm) dont les mâles sont généralement de taille inférieure aux femelles. Reconnaisable facilement par ses flancs dotés de verruques blanches, de son pattern ventral jaune orangé maculé de taches noires irrégulières en taille, en abondance comme dans leur agencement et ses pattes grêles aux doigts effilés et bigarrés de jaune et noir. En phase aquatique, le mâle se dote d'une crête dorsale haute et profondément dentelée (« dents de scie ») et traversée d'une plage blanche à grise au niveau de la queue. La maturité sexuelle serait acquise entre 2 et 3 ans et sa longévité irait jusqu'à 18 ans chez les populations du sud de la France (Miaud, 1992).



Figure 1 – Mâle adulte en phase aquatique. Photo : S. Guiraudou – Naturalia Environnement.

## Distribution du genre *Triturus*

En Europe, le genre *Triturus* inclut le groupe « crêté » doté de sept espèces et le groupe « marbré » composé de trois espèces. Le groupe « crêté » est vraisemblablement issu de la région des Carpathes, zone refuge lors de la dernière englaciation (Crnobrnja-Isailovic et al., 1997 ; Arntzen et al., 2007 ; Wielstra et al., 2015) et qui lors de la période post-glaciaire a pu coloniser une large partie de l'Europe de l'Ouest.

La France abrite deux espèces de ce genre : *Triturus marmoratus* d'influence ibérique et donc *Triturus cristatus*. Des populations hybrides entre ces deux espèces nommées « Triton de Blasius » existent dans certaines zones de contact d'aire (Arntzen et al., 1991). La présence du Triton crêté italien (*Triturus carnifex*) en France est liée à son introduction dans la région genevoise (Jaussi, 1979) puis sa colonisation vers les départements mitoyens (Ain, Haute-Savoie) (Lescure & De Massary, 2012).

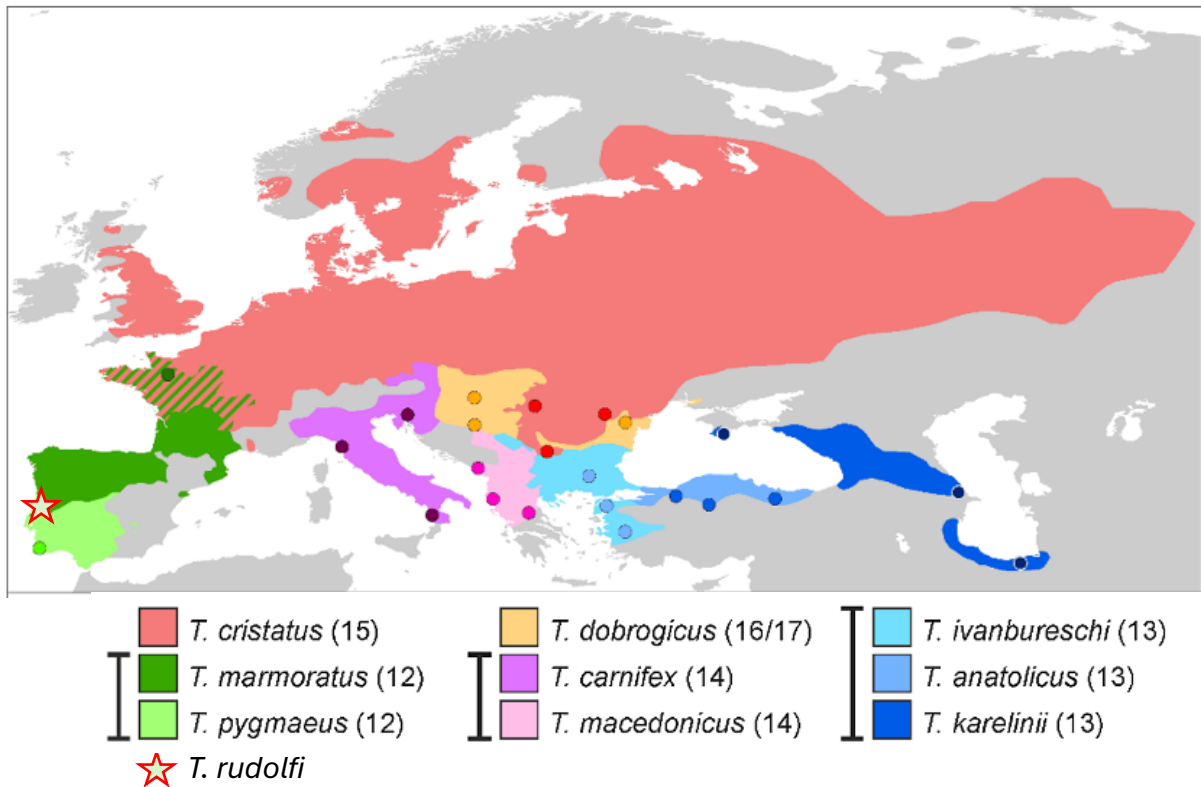


Figure 2 - Distribution des 10 espèces du genre *Triturus* en Europe (source : Wielstra et al 2019, modifié Naturalia).

## Distribution nationale du Triton crêté

Dans le territoire hexagonal, le Triton crêté a une distribution centrée sur la moitié nord avec cependant une quasi-exclusion de la région Bretagne (Zuiderwijk, 1989 ; Lescure et De Massary, 2012). Au sud, sa distribution est plus ou moins continue jusqu'en région Auvergne-Rhône-Alpes. Elle devient plus ponctuelle dans ses deux départements les plus méridionaux. En Ardèche puis en Drôme, sa découverte est relativement récente ; respectivement dans le Haut Vivarais dans les années 1970-1980 (Grossi, 2015) et en Chambaran en 1978 puis à partir de 2002 dans la plaine alluviale rhodanienne (Parrain, 2005, 2010 ; Grossi, 2015). Des données éparées existent également sur la commune de Grane, sur les contreforts de la rivière Drôme (Parrain, 2010).

Plus au sud, l'espèce est présente en régions Occitanie et PACA à la faveur du bassin versant du Rhône avec cependant une distribution sous forme de « patches populationnels » isolés les uns des autres.

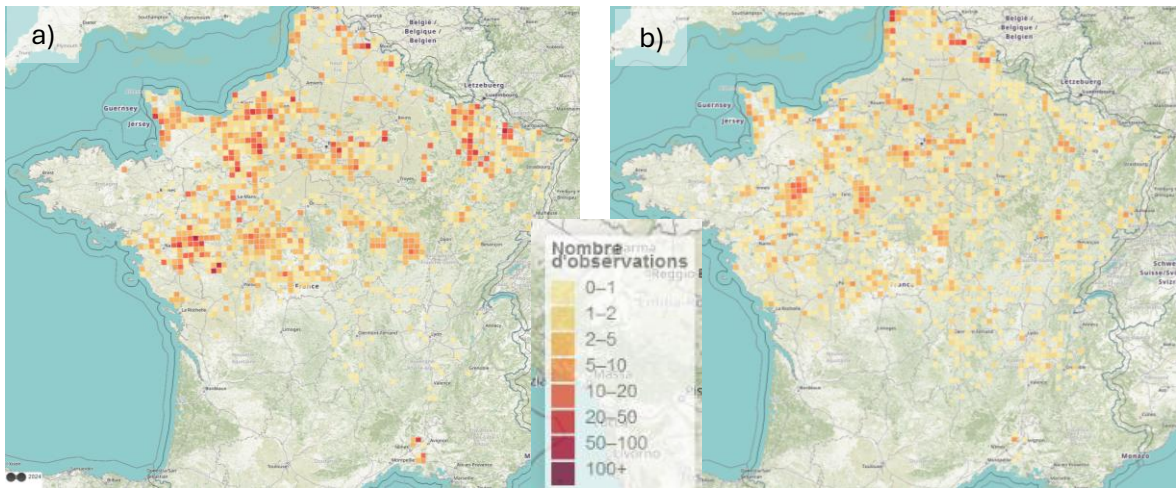


Figure 3 – Données d’observation compilées du Triton crêté a) période 1800-1999 ; b) période 1999-2024. Source : SHF – Aout-24.

## Cartographie des stations contemporaines en zone méditerranéenne française

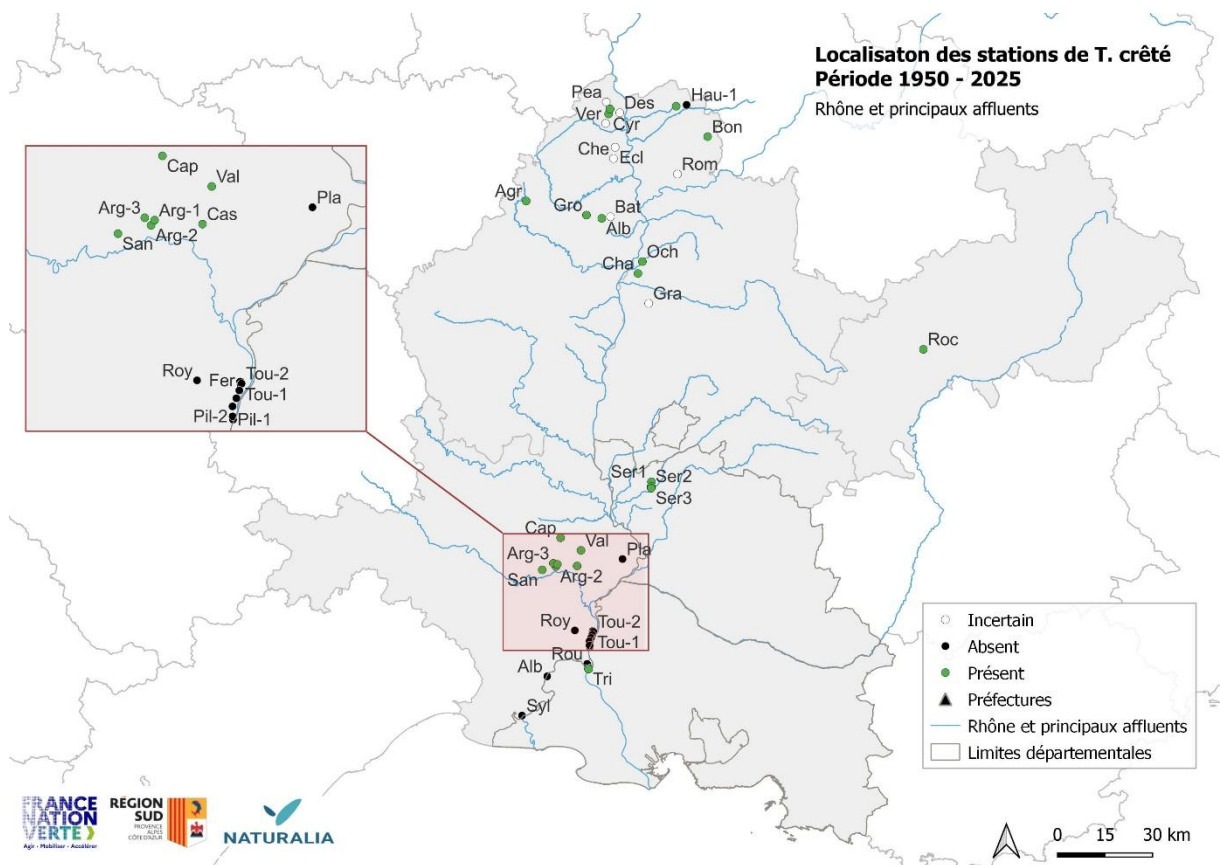


Figure 4 - Localisation des stations contemporaines (1950-2025) de T. crêté en zone méditerranéenne française (départements concernés : Ardèche, Drôme, Gard, Bouches-du-Rhône, Vaucluse, Hautes-Alpes) ; Incertain : présence non avérée depuis 2010. Absente : localités historiques sans mention depuis au moins 2010 malgré des recherches spécifiques.

## Distance entre les populations méditerranéennes

Cf : détail en annexe 1

## Distribution passée et présente en Occitanie et PACA

Crespon (1844) évoque rencontrer ce triton « *assez souvent dans le département du Gard* » alors que Reguis (1882) ne considère pas sa présence comme « démontrée » en Provence. Ce dernier cependant y donne le Triton marbré comme régulier « dans les fossés voisins des roubines à Pont de Crau » (13). Cette donnée pourrait plaider pour une possible erreur de détermination entre les deux tritons du genre *Triturus* au regard des localités de T. crêté découvertes dans ce même secteur à partir de la fin des années 1960 : une près des papeteries d'Arles (Brogard et al., 1996), retrouvée en 1998 (Gendre et al., *op. cit*) puis une dizaine dans la période 1994-2006 entre Beaucaire-Tarascon et Fourques et deux dans le delta de Camargue (CEN-LR, *op. cit* ; Olivier et al., 2008 ; Geniez & Cheylan, 2012 ; Renet & Olivier, 2012). La mention de Gaymard (1947), considérée douteuse, n'est ici pas retenue. A distance de la plaine alluviale rhodanienne, d'autres localités sont découvertes dans le Gard durant les années 1980-2000 : à Valliguières en 1985 (Brogard in Gendre & Rufroy, 2005) ; à la Capelle-et-Masmolène dès les années 1988-1990 puis dans les années 2000 à la faveur d'un vaste réseau de mares située à cheval sur plusieurs communes (Brogard et al., 1996 ; Gendre & Rufroy, 2005). Le programme « Newt'on corridors » mené par le CEN Occitanie a notamment permis de densifier le réseau de mares occupées et élargir la distribution gardoise de l'espèce avec une présence avérée sur les communes de Castillon-du-Gard et Argilliers (Bernard & Priol, 2021). A noter également un témoignage probant à Pujaut dans la période 1980-1990 (Brogard, 1996) mais sans suite depuis malgré des recherches ciblées.

Dans le Vaucluse, Mourgue (1908) dans son catalogue de l'herpétofaune des environs de Sainte-Cécile-les-Vignes, Sérignan et Orange le donne « *commun dans certaines mares, absent dans d'autres* ». Pendant plus d'un siècle, l'espèce n'a pas été resignalée dans le département (Knoepffler, 1961a, b ; Parent, 1981 ; Peyre et al., 2005). En 2018, une population est retrouvée à Sérignan-du-Comtat à la faveur d'une cuvette naturelle isolée au sein d'une vaste plaine viticole. En 2020, des prospections complémentaires permettent de trouver deux nouvelles localités à la faveur de drains agricoles (Blanc, *com. pers*).

Enfin, dans les Hautes-Alpes, une population est établie en 2023 sur la commune de la Roche-des-Arnauds au sein d'une mare située dans une propriété privée. L'exportation de végétaux aquatiques provenant d'Ardèche (Bas Vivarais) a entraîné l'introduction de l'espèce qui s'y reproduit depuis.

Dpt	Commune(s)	Id	Première mention	Statut actuel	Hydr. (T/P)	Commentaires
Bouches-du-Rhône	Arles	Tri	1960-1970	Présence confirmée	T	Mare
Vaucluse	Sérignan-du-Comtat	Ser1 Ser2 Ser3	2018	Présence confirmée	T	Réseau de fossés, prairies inondées, mare
Hautes-Alpes	Roche-des-Arnauds	Roc	2022	Présence confirmée	P	Etang
Gard	Beaucaire – Fourques	Tou1à4, Pil1à4, Fer, Rou, Roy	1990-2000	Prospecté et non retrouvé (Grillas et al., 2018)	T/P	Réseau de mares, lônes en plaine du Rhône
Gard	Arles-Albaron	Alb	2002	Prospecté et non retrouvé (Oliver et al., 2008 ; Grillas et al., 2018)	T	Fossé
Gard	Vauvert	Syl	2006	Prospecté et non retrouvé (Olivier et al., 2008 ; Grillas et al., 2018)	T	Ancienne pisciculture
Gard	Valliguières	Val	1985	Présence confirmée	T	Cuvette naturelle
Gard	La Capelle-et-Masmolène / Saint-Victor des Oules / Saint-Hippolyte de Montaigu	CMa	1996	Présence confirmée (>10 mares occupées)	T	Important réseau de mares
Gard	Castillon du Gard	Cas	Confirmé en 2021	Présence confirmée	T	Mare
Gard	Sanilhac-Sagriès	San	2008	Présence incertaine	T	Mare
Gard	Argilliers	Arg	Entre 2013 et 2018 puis confirmé en 2025	Présence confirmée fév-25. (Arg.1, 2 &3)	T	Trois mares (a priori non connectées). Comblement partiel
Gard	Pujaut	Pla	1956-1957	Non retrouvé (Brogard et al., 2016 ; CEN Occitanie, com. pers)	P	Etang (aujourd'hui largement comblé)

Tableau 1 - Synthèse des localités contemporaines (1950-2025) - régions Occitanie et PACA. T = temporaire ; P : permanent.

## Éléments clés d'écologie de l'espèce

Les données élémentaires compilées ci-après proviennent de populations étudiées au cœur de l'aire de distribution de l'espèce (Europe centrale et du Nord ; Grande Bretagne ; Belgique ; Nord France) (Thorn, 1968 ; Miaud, 1990 ; Wallace, 1991, Stoefer & Schneeweiß, 2001 ; Joly et al., 2001 ; Ferrantin 2007 ; Jacob et Denoël, 2007 ; Boissinot, 2009 ; Legros et al., 2015 ; Finkler, 2018 ; Cox et al., 2021 ; O'Brien et al., 2021, Siffert et al., 2022) mais également dans la zone méditerranéenne française (Grillas et al., 2018 ; Bernard & Priol, 2021).

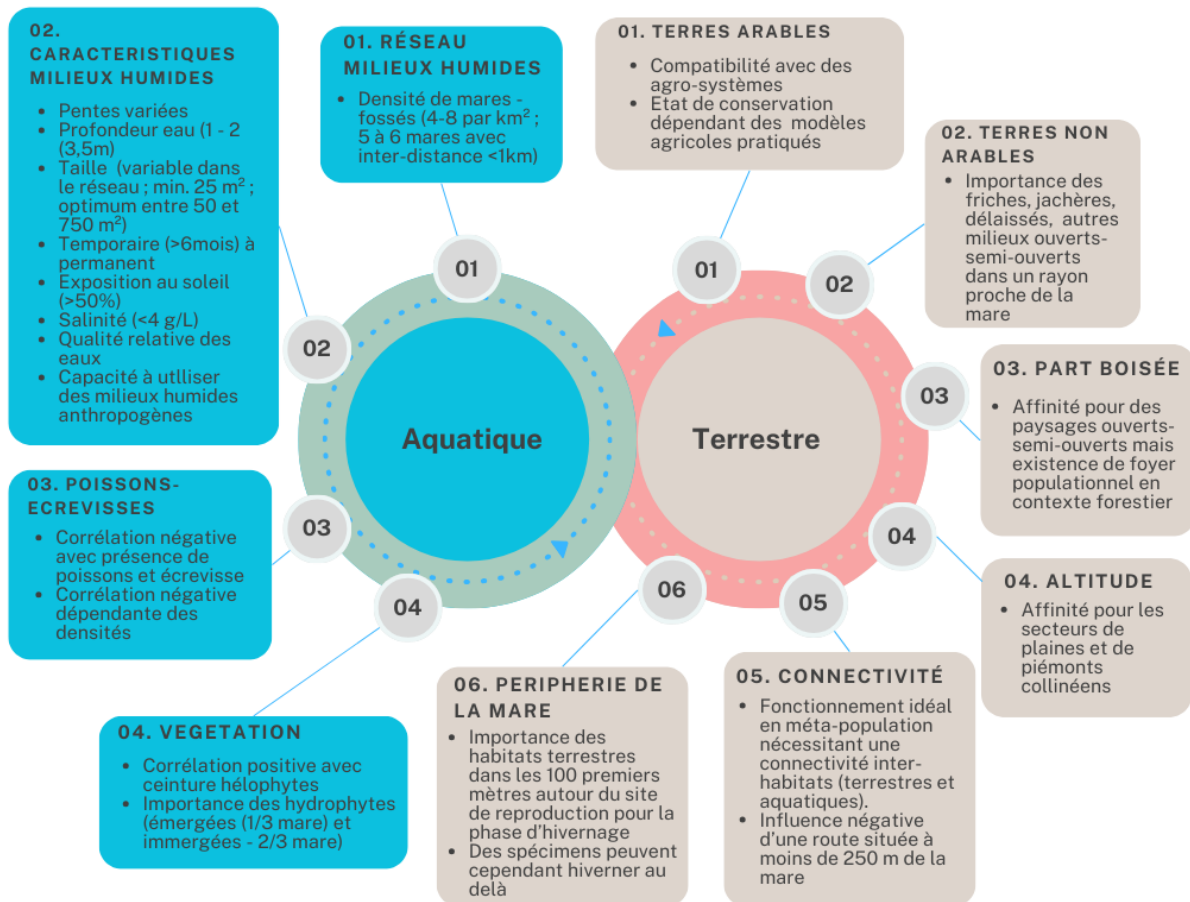


Figure 5 – Synthèse bibliographique des paramètres clés liés aux habitats aquatiques et terrestres du Triton crêté.

En contexte méditerranéen, certaines de ces composantes (surface en eau ; recouvrement en végétation aquatique ; structure du paysage périphérique ; ...) ne paraissent pas significativement déterminantes sur la présence de l'espèce comme démontré pour les populations gardoises (Bernard & Priol, 2021). Ce même travail confirme en revanche une probabilité d'occupation de mare dépendante de la distance à une autre mare occupée par l'espèce. Les corrélations potentielles de ces composantes sur les dynamiques des populations méditerranéennes restent pour l'heure non étudiées.

# Principaux facteurs de pression des populations méditerranéennes

## Considérations globales

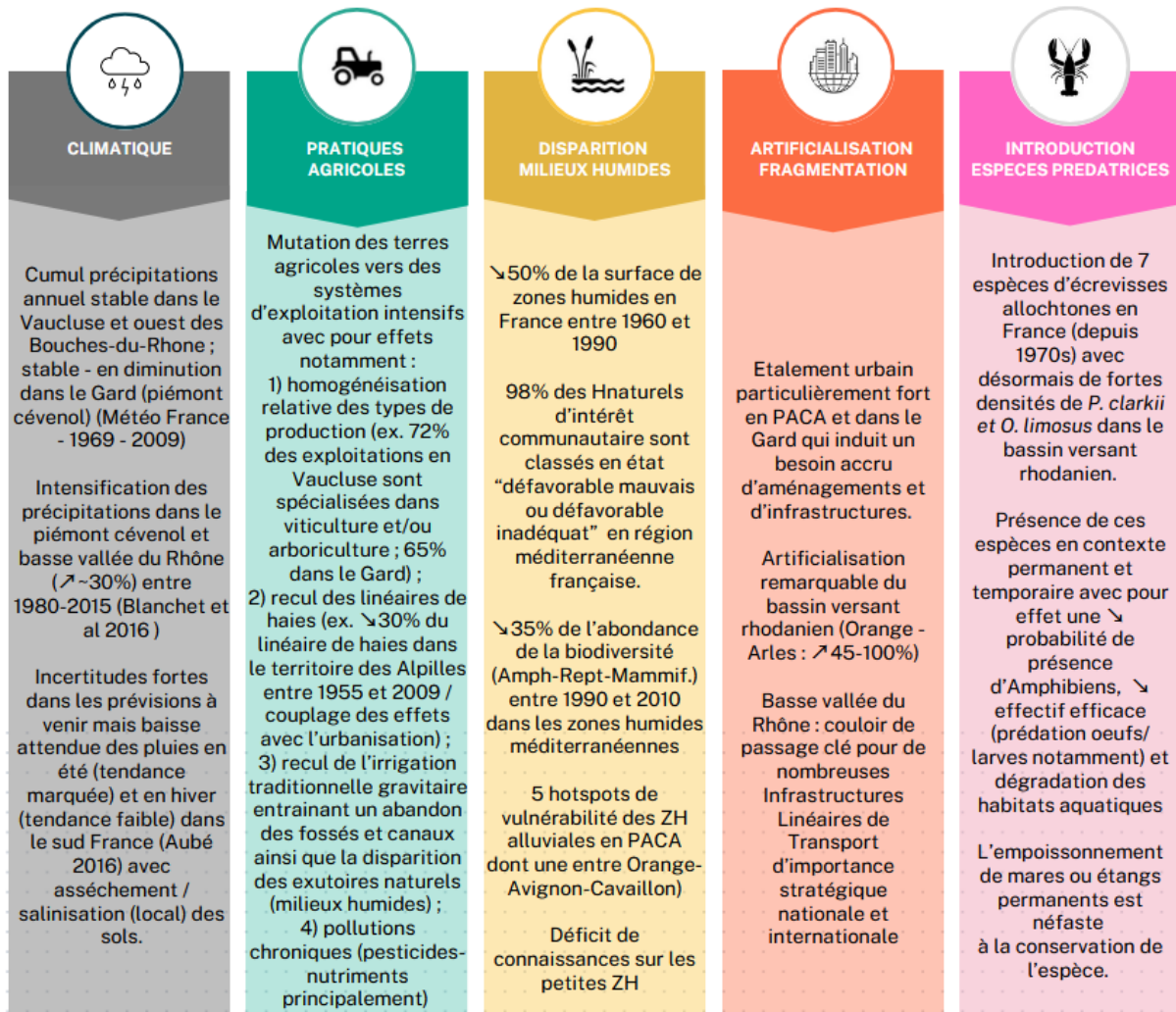


Figure 6 - Synthèse des principaux facteurs de pression sur les populations de *T. crété* en zone méditerranéenne.

## Zoom sur les populations en région PACA

### Arles – Trinquetteille (Tri)

<b>Habitats (aquatiques et terrestres)</b>	Mare temporaire située dans une friche industrielle ; développement ligneux et canniers à proximité de la mare. Important dépôt de gravas dans le passé autour de la mare. Surface habitat terrestre minimum : ~ 10 ha.
<b>Paramètres démographiques</b>	Population estimée à 361 +/- 82 ind. en 2000 (Renet & Olivier, 2012) ; estimé à 3000 (!) en 2014 (Renet et al., 2016) ; insuffisance des données réalisées issues CMR depuis mais constat partagé d'une réduction très importante de la population. Absence de reproduction depuis 2014.
<b>Connectivité</b>	Aucune connectivité avec les populations les plus proches. Lien fonctionnel avec des habitats (sub)naturels nul à quasi nul.
<b>Evolution du paysage : période 1941 – 2023</b>	



Figure 7 - Evolution du site de Trinquetaille, Arles. En haut à gauche : 1941 ; en haut à droite : 1950-65 ; en bas : 2023. Trois repères positionnés avec le trapèze bleu correspondant à la localisation de la mare. Source : Geoportail-IGN.

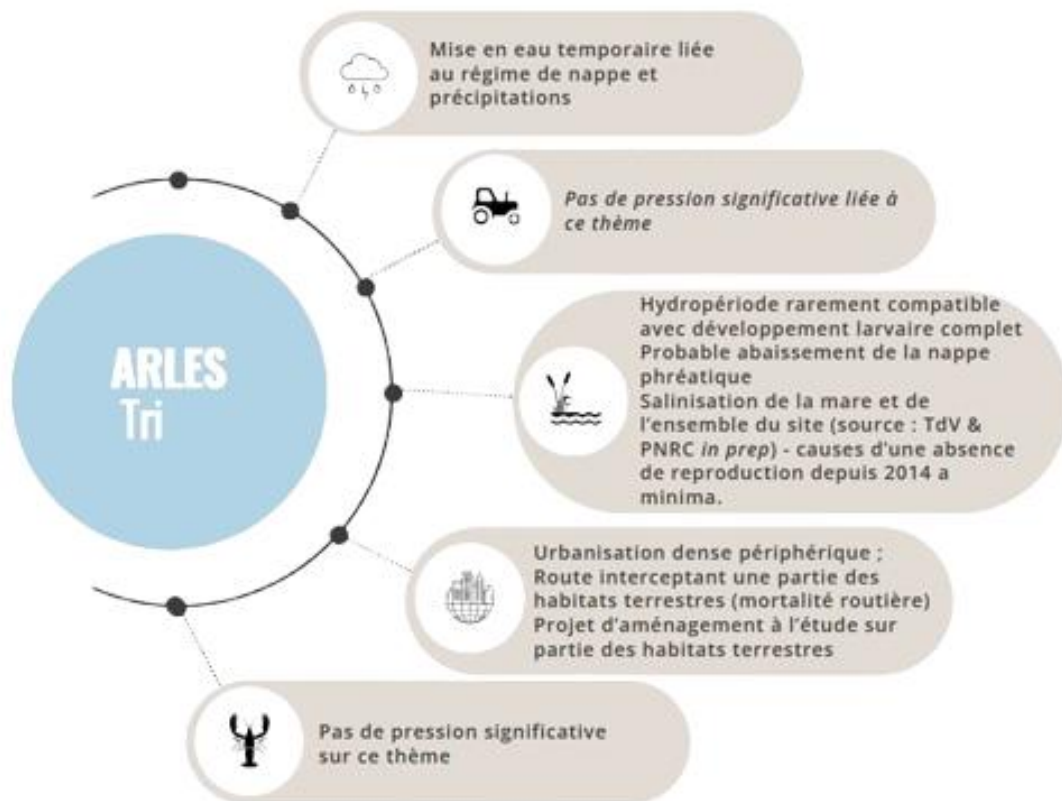


Figure 8 - Etat des principaux facteurs de menaces sur le site de Trinquetaille, Arles.



Figure 9 – Site de Trinquetaille, Arles (13) le 08 mars 2024. Photo : NATURALIA.

### Sérignan du Comtat – Etang de Ruth (Ser1), Cros de la Meunière (Se0r2, Ser3)

<p><b>Habitats (aquatiques et terrestres)</b></p>	<p>Ser1 : cuvette naturelle à dominante prairiale, jardins privés ; boisements hygrophiles épars. Viticulture intensive fortement représentée sur les parcelles les plus distantes de la cuvette. Réseau de fossés et de mares (vocation cynégétiques) à hydropériode temporaire à permanente.</p> <p>Ser 2 : drains agricoles à l’intersection de 5 parcelles de vignes. Berges essentiellement abruptes et végétalisées avec proportion importante de ligneux (<i>Populus</i> sp) et de ronces (<i>Rubus</i> sp). Fonctionnement hydraulique non déterminé (mise en eau au printemps 2023 mais assec en 2024).</p> <p>Ser 3 : drain agricole à l’intersection de parcelles de vigne et d’une friche. Berges essentiellement abruptes et végétalisées par des formations buissonnantes et arbres épars. Fonctionnement hydraulique non déterminé (mise en eau au printemps 2023 mais assec en 2024).</p>
<p><b>Paramètres démographiques</b></p>	<p>Pas de donnée démographique actuellement disponible mais :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Taux de recapture important dans le fossé principal (Ser1) en 2024 ;</li> <li>2) Peu d’individus immatures capturés en 2024 ;</li> <li>3) Faible nombre de contacts (effectif cumulé par sortie) depuis la découverte de Ser1, Ser2, Ser3.</li> </ol>
<p><b>Connectivité</b></p>	<p>Bonne connectivité entre les différents milieux aquatiques au sein de Ser1. Connectivité actuelle supposée nulle entre Ser1 et Ser 2 (distance, d=1.33 km) ; Ser1 et Ser3 : 1.95 km.</p> <p>Connectivité potentielle (limitée) entre Ser2 et Ser3 : 0.6 km. La matrice paysagère entre chacune des stations est dominée par une viticulture intensive.</p>
<p><b>Evolution du paysage : période 1943 – 2024</b></p>	





Figure 10 - Evolution du site de l'étang de Ruth (Ser1), Sérignan-du-Comtat. En haut à gauche : 1947 ; en haut à droite : 1961 ; en bas : 2024. Trois repères positionnés avec le trapèze bleu correspondant à la localisation du fossé principal. Source : Geoportail-IGN.

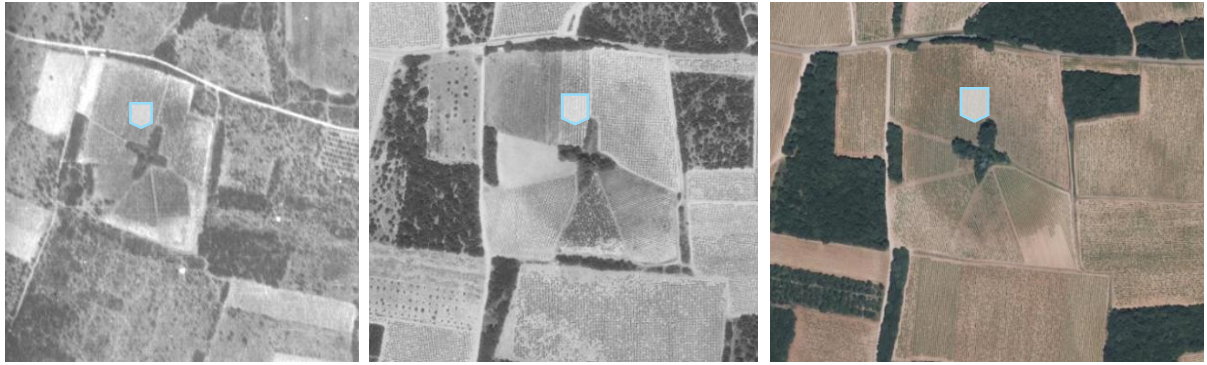


Figure 11 - Evolution de Ser2, Sérignan-du-Comtat. A gauche : 1943 ; au milieu : 1979 ; à droite : 2024. Un repère positionné, trapèze bleu correspondant à la localisation du drain agricole. Source : Geoportail – IGN.

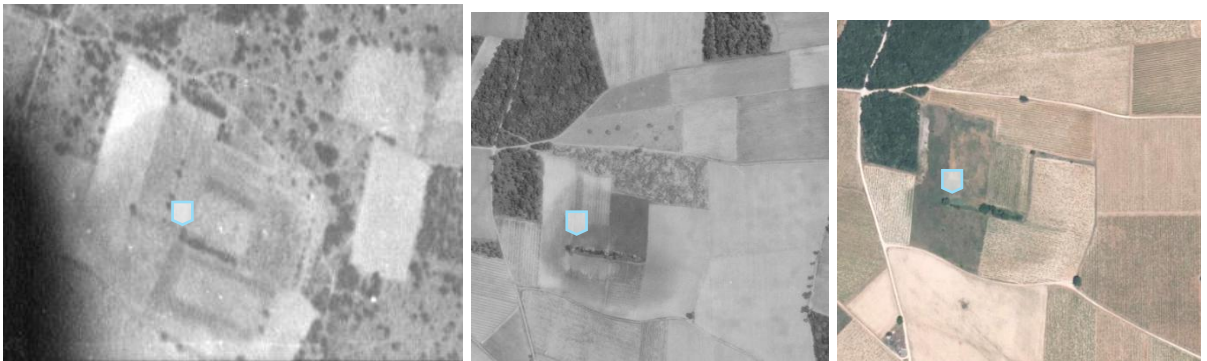


Figure 12 - Evolution de Ser3, Sérignan-du-Comtat. A gauche : 1943 ; au milieu : 1978 ; à droite : 2024. Un repère positionné, trapèze bleu correspondant à la localisation du drain agricole. Source : Geoportail – IGN.



Figure 13 - Site de l'étang du Ruth, Sérignan du Comtat (84) le 05 mars 2024. Photo : NATURALIA.



Figure 14 - Etat des principaux facteurs de menaces sur les trois sites de Sérignan-du-Comtat, Arles.

## Bibliographie

Atkinson J., Brudvig L.A., Mallen-Cooper M., Nakagawa S., Moles A.T., Bonser S.P. (2022) - Terrestrial ecosystem restoration increases biodiversity and reduces its variability, but not to reference levels: A global meta-analysis. *Ecol Lett.* 12;25(7):1725–1737.

Arntzen J. W., Wallis, G. P. 1991 - Restricted gene flow in a moving hybrid zone of newts (*Triturus cristatus* and *T. marmoratus*) in western France. *Evolution*, vol.45 (4): 805-826

Arntzen J.W., Espregueira Themudo G., Wielstra B. (2007) - Contributions to Zoology, 76 (4) 261-278 (2007) - The phylogeny of crested newts (*Triturus cristatus* superspecies): nuclear and mitochondrial genetic characters suggest a hard polytomy, in line with the paleogeography of the center of origin. *Contributions to Zoology*, 76 (4) 261-278

Aubé D. (2016) - Impacts du changement climatique dans le domaine de l'eau sur les bassins Rhône-Méditerranée et Corse - Bilan actualisé des connaissances –. Collection « eau & connaissance ». Agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse. 114 pages

Bernard P., Priol P., (2021) - NEWTON CORRIDORS « Le réseau de mares entre Cèze et Gardon à l'épreuve du changement climatique et des activités humaines : agir sur la trame turquoise pour préserver le Triton crêté en Occitanie » - Bilan de la phase 1. CEN Occitanie 2021. 61 pages

Boissinot A. (2009) - Influence de la structure du biotope de reproduction et de l'agencement du paysage, sur le peuplement d'amphibiens d'une région bocagère de l'ouest de la France. Diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, Laboratoire de Biogéographie et d'Ecologie des Vertébrés (EPHE/CEFE) 1: 192.

Brogard J. C., Cheylan M., Geniez, P. (1996) - Découverte du Triton crêté *Triturus cristatus* (Laurenti, 1768) (Amphibia, Caudata) dans la région méditerranéenne française. *Bulletin de la Société Herpétologique de France*, 80 : 9–13

Crespon J. (1844) - Faune méridionale, ou description de tous les animaux vertébrés vivans et fossiles, sauvages ou domestiques ... qui ne sont que de passage dans la plus grande partie du Midi de la France. J. Crespon, Nimes. v. 2.

Cox N., Chanson J. et Stuart S. (eds) (2006) - Statut de conservation et répartition géographique des reptiles et amphibiens du bassin méditerranéen. UICN. 55 p

Crnobrnja-Isailović J., Džukić G., Krstić N., Kalezić ML. (1997) - Evolutionary and paleogeographical effects on the distribution of the *Triturus cristatus* superspecies in the central Balkans. *Amphibia-Reptilia* 18: 321-332

Dufresnes C, Pellet J, Bettinelli-Riccardi S, Thiébaud J, Perrin N, Fumagalli L. 2016. Massive genetic introgression in threatened northern crested newts (*Triturus cristatus*) by an invasive congener (*T. carnifex*) in Western Switzerland. *Conserv Genet.* 17(4):839–846.

Ferrantin T. 2007. Facteurs influençant l'occupation des étangs par des tritons crêtés : l'espèce autochtone *Triturus cristatus*, l'espèce invasive *Triturus carnifex* et l'hybride *cristatus-carnifex* et leurs distributions dans les cantons de Genève et Vaud (Suisse). Laboratoire d'éco-éthologie évolutive, Université de Neuchâtel

Finkler M. (2018) - Modélisation des habitats favorables au Triton crêté (*Triturus cristatus*) et au Triton marbré (*Triturus marmoratus*) en pays de la Loire. Mémoire de stage M2. 67p.

Gaymard F., (1947) - Le calendrier de la Camargue. Portal et Cie, Paris, 290 p.

Gendre T., Rufay X. (2005) - Confirmation de la présence d'une population de Tritons crêtés *Triturus cristatus* à la Capelle et Masmolène (Gard). *Bulletin Meridionalis* 7, 64-71.

Gendre T., Cheylan M., Lombardini K., Olivier A., (2006). Le Triton crêté dans la basse vallée du Rhône (Gard, Vaucluse et Bouches du Rhône). Distribution, problématique de conservation et étude de cas. In : CRDP / CORA Isère, Actes de la Journée technique Triton crêté, Grenoble, 21 novembre 2006.

Geniez P. & Cheylan M. 2012. Les Amphibiens et les Reptiles du Languedoc-Roussillon et régions limitrophes. Atlas biogéographique. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris ; Biotope, Mèze, 448 p.

Gray, C.L., Hill, S.L., Newbold, T., Hudson, L.N., Börger, L., Contu, S. and Scharlemann, J.P. (2016) - Local Biodiversity Is Higher Inside than Outside Terrestrial Protected Areas Worldwide. *Nature Communications*, 7, Article No. 12306.

GREC-PACA (aujourd'hui GREC-SUD). *Climat et changement climatique en région Provence-Alpes-Côte d'Azur*. Les cahiers du GREC-PACA, mai 2016. ISBN 978-2-9560060-1-5. — Synthèse régionale : tendances observées (ex. réchauffement estival marqué sur 1959–2009) et projections. Cahier thématique : <https://www.grec-sud.fr/publications/le-cahier-climat/#art-1308>.

Grillas C., Ugnon-Coussioz E., Priol P., Renet J. (2018) - Low occurrence of the great crested newt *Triturus cristatus* at the limits of its range: an alarming preliminary study. *The herpetological notes* 145 :14-18.

Grossi J.L. (2015) - Le Triton crêté *Triturus cristatus* (Laurenti, 1768), in: Les Amphibiens et Reptiles de Rhône-Alpes, pp. 150-157: édité par : GHRA – LPO Rhône-Alpes. LPO coordination Rhône-Alpes, Lyon

IUCN SSC Amphibian Specialist Group (2024). Amphibian conservation action plan: A status review and roadmap for global amphibian conservation. Wren, S., Borzée. A., Marcec-Greaves R. & Angulo A. (Eds.). IUCN SSC Occasional paper, No 57. Gland, Switzerland: IUCN.

Jacob J.-P., Denoël M. (2007). Le Triton crêté, *Triturus cristatus* (Laurenti, 1768). In: Amphibiens et Reptiles de Wallonie (Jacob et al., eds). Aves-Raîenne et Centre de Recherche de la Nature, des Forêts et du Bois (MRW – DGRNE), Série « Faune – Flore – Habitats » 2, Namur: pp. 72-85

Jaussy M. (1979). Contribution à l'étude des batraciens du bassin Genevois. Travail de Diplôme, Université de Genève, Geneva, Switzerland.

Joly P., Miaud C., Lehmann A., Grolet O. (2001) - Habitat matrix effects on pond occupancy in newts. *Conservation Biology* 15 : 239-248

Knoepfler L.P. (1961a). Contribution à l'étude des amphibiens de Provence. 1 Généralités. *Vie et Milieu* 12 (1), 67-76.

Knoepfler L.P. (1961b). Contribution à l'étude des amphibiens de Provence. 1 Généralités (2e note). *Vie et Milieu* 12 (3), 517-528.

Lescure J. & De Massary J.-C. (coord.) (2012) - *Atlas des Amphibiens et Reptiles de France*. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris ; Biotope, Mèze, 272 p. (Inventaires & biodiversité ; 4).

Marchand M.A., Roy C., Renet J., Delauge J., Meyer D., Hayot C. (2016) - Liste rouge régionale des amphibiens et reptiles de Provence-Alpes-Côte d'Azur. CEN PACA, Région PACA, DREAL PACA

Miaud C., (1990) - La dynamique des populations subdivisées : étude comparative chez trois Amphibiens Urodèles (*Triturus alpestris*, *T. helveticus* et *T. cristatus*). Thèse Science, Lyon : 205 p

Miaud C., (1992) - La squelettochronologie chez les *Triturus* (Amphibiens, Urodèles) à partir d'une étude de *T. alpestris*, *T. helveticus* et *T. cristatus* du sud-est de la France. In J.-L. Baglinière, J. Castanet, F. Conand and F. J. Meunier (eds.), Tissus Durs et Age Individuel des Vertébrés, pp. 363-384. OR-STROM and INRA, Paris, France

Mourgue M., (1908) - Catalogue raisonné de la faune herpétologique des environs de Sainte-Cécile Sérignan, Orange (Vaucluse). *La Feuille des Jeunes Naturalistes* 38 (4), 178-182.

O'Brien D, Hall JE, Miró A, O'Brien K, Falaschi M, Jehle R. (2021) - Reversing a downward trend in threatened peripheral amphibian (*Triturus cristatus*) populations through interventions combining species, habitat and genetic information. *J. Nat Conserv* 64:12607

- Olivier A., Pichard A., Filleux M., Arnaud A., Contournet A., Willm L., Ortola N., Gauthier- Clerc M. (2008) - Triton crêté In Inventaires écologiques concernant des espèces de vertébrés de l'annexe 2 de la Directive « Habitats » liés à l'élaboration du DOCOB NATURA 2000 de la SIC FR 9301592 « Camargue » - Amphibiens, reptiles et mammifères. Rapport d'expertise, Tour du Valat, 53-59
- Parent G.H. (1981) – Matériaux pour une herpétofaune de l'Europe occidentale. Contribution à la révision chorologique de l'herpétofaune de la France et du Bénélux. *Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon*, 50(3): 86-111
- Parrain N., Noirjean D., Faure D., Gallix T. (2005) - Point sur l'état des connaissances du Triton crêté en Drôme Ardèche. *Le Bièvre* 20 : 3-8.
- Parrain N. (2010) - Atlas préliminaire des reptiles et des amphibiens de la Drôme. Société Herpétologique de France-GRD-LPO Drôme, Saint-Marcel-lès-Valence. 106pp.
- Peyre O., Olios G., Joubert V. (2005) – Atlas préliminaire de répartition des reptiles et amphibiens du Vaucluse, *Vaucluse Faune (revue du CROP)*, 1. 95p
- Legros B., Puissauve R., de Massary J-C., (2015) - Fiches d'information sur les espèces aquatiques protégées. Service du patrimoine naturel du MNHN & Onema.
- Réguis J.M.F. (1882) – Essai sur l'histoire naturelle des vertébrés de la Provence et des départements circonvoisins. Vertébrés anallantoïdiens (poissons et batraciens). Ed. Marius Lepon, Marseille. 425 p
- Renet J., Olivier, A. (2012) - Le Triton crêté *Triturus cristatus* Laurenti, 1768 (Caudata: Salamandridae) en région Provence-Alpes-Côte d'Azur : enjeux et problèmes de conservation de l'unique population connue. *Nature de Provence* 1: 15–20.
- Rodríguez-Rodríguez, E.J., Beltrán, J.F., El Mouden, E.H., Slimani, T., Márquez, R., Donaire-Barroso, D. (2020) - Climate change challenges IUCN conservation priorities: A test with western Mediterranean amphibians. *SN Appl. Sci.*, 2, 1–11.
- Siffert O., Pellet J., Ramseier P., Tobler U., Bergamini A., Schmidt B.R. (2022) - Where Land and Water Meet: Making Amphibian Breeding Sites Attractive for Amphibians. *Diversity* 14, 834.
- Stoefler, M., Schneeweiss, N. (2001) - Zeitliche und räumliche verteilung der wanderaktivitäten von kammolchen (*Triturus cristatus*) in einer Agrarlandschaft nordost-Deutschlands. *Rana Sonderheft* 4, 249–268.
- Thorn R. (1968) - Les salamandres d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord. Ed. Lechevalier, Paris. 376 pp.
- Wallace, H. (1991) - The development of *Triturus cristatus* under osmotic stress. *Roux's Arch. Dev. Biol.* 200: 58-60
- Wielstra B., Babik W., Arntzen J.W. (2015) - The crested newt *Triturus cristatus* recolonized temperate Eurasia from an extra-Mediterranean glacial refugium. *Biol. J. Linn. Soc.* 114, 574–587.
- Wielstra B., McCartney-Melstada E., Arntzen J.W., Butlin R.K., Shaffer H.B. (2019) - Phylogenomics of the adaptive radiation of *Triturus* newts supports gradual ecological niche expansion towards an incrementally aquatic lifestyle. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 133 : 120-127
- Zuiderwijk A. (1989) – Le Triton crêté *Triturus cristatus*. In CASTANET J. & GUYÉTANT R. Atlas de répartition des Amphibiens et Reptiles de France. Société Herpétologique de France, Paris, p. 47.



# Volet 1 – Cartographies prédictives des habitats du Triton crêté

## Objectifs

La réalisation d'une étude de pré-identification des secteurs favorables à la translocation de populations méditerranéennes de Triton crêté est une composante fondamentale pour questionner la pertinence et la faisabilité d'un tel programme. Dans ce cadre, les modèles de distribution d'espèce (SDM, en anglais *Species Distribution Models*) s'avèrent incontournables en biologie de la conservation pour évaluer les niches écologiques des espèces puis prédire leur répartition actuelle et future en fonction de changements de conditions environnementales (Guisan et al., 2017). Le croisement de ces répartitions avec des données spatiales environnementales et socio-économiques offre la possibilité d'affiner la pré-identification des secteurs favorables prioritaires pour un programme de translocation. Les sous-objectifs de cette section sont de répondre aux questions suivantes :

- Quels sont les secteurs en zone méditerranéenne favorables au Triton crêté :
  - au vu des conditions environnementales actuelles ?
  - au vu des perspectives de changements climatiques ?
- Quels sont les secteurs pré-identifiés en région Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA) pour conduire un programme de translocation du Triton crêté ?

Pour répondre à ces questions, deux modèles d'étude ont été considérés le Triton crêté et un groupe fonctionnel d'espèces présentant des caractéristiques écologiques similaires. Les modélisations ont

utilisé deux échelles de collecte de données : une ciblée sur la zone méditerranéenne et une à l'échelle nationale.

Les scénarios de modélisation de distribution des habitats favorables ont considéré les conditions environnementales actuelles ainsi que les conditions climatiques futures. Enfin, ces modélisations ont été croisées avec des données spatiales biotiques (écrevisses exotiques) et abiotiques (zones humides).

## Matériel et méthodes

### *Zones d'étude*

Plusieurs zones d'étude ont été considérées dépendamment des sous-objectifs. Pour la modélisation de la distribution des habitats favorables au Triton crêté, deux zones ont été considérées : la distribution française des populations de Triton crêté (INPN, 2024) et la distribution des populations méditerranéennes de l'espèce (ci-après dénommée zone méditerranéenne). La zone méditerranéenne recouvre ici les départements de l'Ardèche, des Bouches-du-Rhône, de la Drôme, du Gard et du Vaucluse. Pour la pré-identification des secteurs potentiellement favorables à la translocation, la zone d'étude a été restreinte à deux départements de la région PACA, les Bouches-du-Rhône et le Vaucluse.

### *Modèle d'étude*

Deux modèles d'étude ont été considérés. Le premier modèle d'étude est le Triton crêté (*Triturus cristatus*) comme espèce ciblée. Le second modèle d'étude est un groupe fonctionnel d'espèce comportant le Triton crêté. Les besoins écologiques d'une espèce peuvent être partagés par d'autres qui répondent alors à des filtres écologiques similaires et qui influencent leurs distributions (McGill et al., 2006 ; Violle et al., 2007). Nous définissons le postulat suivant : un site présentant une espèce du groupe fonctionnel est favorable à l'ensemble des espèces du groupe fonctionnel (Opdam et al., 2008 ; Vos et al., 2001). Plusieurs études ont utilisé ce concept pour notamment évaluer les connectivités écologiques en définissant les groupes « à dire d'expert » (Albert et al., 2017 ; Meurant et al., 2018 ; Sahraoui et al., 2021). La définition de ce groupe fonctionnel, basée sur les besoins écologiques (Tableau 2) des espèces, a permis de regrouper les espèces suivantes : le Triton crêté, le Pélobate cultripède (*Pelobates cultripedes*) et le Triton palmé (*Lissotriton helveticus*).

Tableau 2 – Besoins écologiques des espèces justifiant l'assemblage du groupe fonctionnel.

	<b>Triton crêté</b>	<b>Pélobate cultripède</b>	<b>Triton palmé</b>	<b>Sources</b>
<b>Altitude</b>	Basse et moyenne	Basse	Basse et moyenne	
<b>Stratégie</b>	Ubiquiste	Relative inféodation	Ubiquiste	
<b>Milieux</b>	Ouvert dominant, (rarement en milieux fermés)	Ouvert dominant (occasionnel en milieux fermés)	Variés (bocage, plaine marécageuse, garrigues,...)	
<b>Mare</b>	Permanente à temporaire. Profonde, eau claire, riche en végétation, Hydropériode assez longue (>4 mois)	Temporaire Hydropériode assez longue (4-6 mois).	Variable	Cheyland and Geniez, 2012 GHRA - LPO Rhône-Alpes, 2015
<b>Période reproduction</b>	Novembre-Juin (zone Méd.) Février à Juillet-Aout (reste France)	Septembre à Juillet (zone Méd.) Février à Juillet (reste France)	Novembre-Juin (zone Méd.)	
<b>Cycle larvaire</b>	3-5 mois	3-4 mois	2-3 mois	

### Données d'occurrence

Les données d'occurrence d'Amphibiens proviennent de 9 bases de données récoltées à l'automne 2024 : données de Naturalia Environnement, données du SINP PACA, données du SINP Occitanie, données du SINP AURA, données Malpolon du CEFE-CNRS, données LPO-Ardèche, données INPN, données GBIF et données personnelles d'Eric Durand (observation.org). Les données ont été collectées entre le 01/01/2010 et le 19/08/2024, représentant 311 960 observations d'Amphibiens.

Tableau 3 – Bases de données d'Amphibiens collectées.

<b>Base de données</b>	<b>Espèces</b>	<b>Période</b>	<b>Zone</b>	<b>Nombre</b>	<b>Accès</b>
Silène-faune – SINP PACA	Amphibiens	02/01/2010 – 31/05/2024	Région PACA	94 642	<a href="https://expert.silene.eu">https://expert.silene.eu</a>
Biodiv Oc – SINP Occitanie	Amphibiens	03/02/2010 – 29/02/2024	Gard	32 285	<a href="https://sinp-occitanie.fr/biodiv_oc">https://sinp-occitanie.fr/biodiv_oc</a>
Biodiv AURA – SINP AURA	Amphibiens	01/03/2015 – 25/03/2024	Région AURA	59 311	<a href="https://donnees.biodiversite-auvergne-rhone-alpes.fr">https://donnees.biodiversite-auvergne-rhone-alpes.fr</a>
Malpolon – CEFE-CNRS	Triton crêté	02/02/2010 – 23/05/2019	Méditerranéen, Massif central	79	<a href="https://www.cefe.cnrs.fr">https://www.cefe.cnrs.fr</a>
LPO Drôme	Triton crêté	23/03/2010 – 10/02/2024	Ardèche	36	Requête à la structure
OpenObs - INPN	Amphibiens	01/01/2010 – 09/10/2023	France	47 284	<a href="https://openobs.mnhn.fr/">https://openobs.mnhn.fr/</a>
GBIF	Amphibiens	01/01/2010 – 13/08/2024	France	59 541	<a href="https://www.gbif.org/">https://www.gbif.org/</a>
Naturalia Environnement	Amphibiens	10/05/2012 – 19/08/2024	Moitié sud de la France	18 673	Requête interne à Naturalia

### *Données environnementales*

Les données environnementales ont été collectées pour leurs influences sur la distribution des Amphibiens selon trois catégories : les variables bioclimatiques, les données d'occupation du sol et les données d'interaction biologiques (Mancini et al., 2025).

Les variables bioclimatiques affectant les stades de vie de développement des Amphibiens sont principalement les données climatiques de température et de précipitations et d'élévation. Les données climatiques collectées sont issues de CHELSA V2 (<https://chelsa-climate.org/>) (bio8, bio9, bio13, bio14, bio15, bio18, bio17) pour la période actuelle (c.-à-d., 1981-2010) et pour deux périodes futures (2041-2070 et 2071-2100) avec trois scénarios (GFDL-ESM4, SSP1-2.6, SSP3-7.0 et SSP5-8.5) avec une résolution de 30-arsec (~ 1km) (Karger et al., 2017, 2021). L'élévation est issue de la BD ALTI de l'IGN avec une résolution de 5m (IGN, 2022). L'indice d'humidité topographique (*Topographic Wetness Index*, TWI) avec une résolution de 5 mètres, dérivé de l'élévation représentant le potentiel d'accumulation d'eau dans le sol, est issue des travaux de Rapinel et al. (2023) sur la pré-localisation des zones humides en France.

Les variables d'occupation du sol ont été collectées et évaluées pour décrire les facteurs de distribution et les habitats d'espèce. Nous avons utilisé les cartes d'occupation des sols de France issue des couches CES OSO de Theia avec une résolution de 10 mètres pour les années 2017 à 2022 (Inglada et al., 2019). Les 17 à 23 classes originelles ont été regroupées en 5 classes cohérentes écologiquement pour le Triton crêté proposées dans l'étude NEWTON'CORRIDORS : zones artificialisées, cultures défavorables, milieux ouverts, cultures perméables et milieux fermés (Bernard et al., 2021). Nous avons utilisé les travaux de Rapinel et al. (2023) de pré-localisation des zones humides en France fournissant des probabilités de présence avec une résolution de 10 mètres. Le BD TOPAGE a également été mobilisé pour identifier le réseau hydrographique et les surfaces en eau (Sandre Eau France, 2024). Nous avons mobilisé la BD TOPO de l'IGN pour l'identification des haies, des réseaux routiers et ferrés (IGN, 2022). Enfin, nous avons calculé une variable de fragmentation des habitats pour le Triton crêté en considérant le réseau ferré, le réseau routier comportant une chaussée ou plus et le réseau hydrographique dont la largeur est supérieure à 1250 mètres.

### *Modélisation et évaluation de la distribution des habitats favorables*

Les habitats favorables au Triton crêté et au groupe fonctionnel ont été modélisés à l'aide de modèle de distribution d'espèce (SDM, en anglais *Species Distribution Model*). Une résolution de 50 mètres a été utilisée pour les modélisations, puis préditent au niveau de la zone méditerranéenne.

Les données utilisées pour la calibration des modèles sont les données de présence et des données de pseudo-absence générées qui sont issues des bases de données d'occurrence collectées. Ces données d'occurrence ont été combinées et filtrées spatialement à 50 mètres pour réduire les biais d'échantillonnage et supprimer les doublons à l'aide du package spThin (Aiello-Lammens et al., 2015). Les pseudo-absences ont été générées à l'aide de l'approche « target-group » (TG) qui déduit le biais d'échantillonnage des occurrences agrégées des espèces, ici les amphibiens (Anderson, 2003; Phillips et al., 2009; Ponder et al., 2001). Ainsi, pour une espèce donnée, les données d'observation des espèces

du groupe cible peuvent être utilisées comme points de référence pour estimer le biais d'échantillonnage inconnu de l'espèce donnée (Phillips et al., 2009).

Ces données ont été utilisées pour calibrer quatre cas de figures issues de la combinaison de deux modèles d'étude (c.-à-d., Triton crêté et groupe fonctionnel) et de deux étendues pour les données utilisées (c.-à-d., la zone méditerranéenne et la France métropolitaine) (Tableau 4). La calibration des modèles à l'aide des données issues de la zone méditerranéenne vise à représenter la valence écologique méridionale des modèles d'étude. Pour la calibration à partir des données plus largement distribuées et dont la zone méditerranéenne étudiée représente l'extrême limite méridionale du Triton crêté, la collecte étendue à la France métropolitaine vise à représenter une valence écologique plus étendue qui intègre leur préférendum écologique.

Tableau 4 – Données de présence et de pseudo-absence utilisées pour la calibration des modèles de Triton crêté et du groupe fonctionnel (Triton crêté, Pélobate cultripède et Triton palmé) dépendamment de l'étendue de collecte.

Modèle d'étude	Etendues	Présence	Pseudo-absence
<b>Triton crêté</b>	Zone med.	73	23 585
	National	870	60 655
<b>Groupe fonctionnel</b>	Zone med.	1 296	22 343
	National	5 797	55 484

Les variables environnementales sélectionnées pour la calibration des modèles sont détaillées dans le Tableau 5.

La calibration des SDM a utilisé des modèles de Random Forest down-sample (Valavi Elith, et al., 2021) qui selon (Valavi, Guillera-Aroita, et al., 2021) fait partie des modèles les plus performants lors de l'utilisation de données en présence seule. Bien que le Random Forest soit peu sensible à la non-indépendance des variables et à la sur-paramétrisation (Matsuki et al., 2016 ; Srisa-An, 2021), dans un principe de parcimonie les variables colinéaires ont été supprimées en analysant le VIF avec le package « usdm » Naimi et al., (2014) (variables retenues avec VIF < 10, Guisan et al. (2017)) et la corrélation de Pearson des variables à l'aide du package « virtualspecies » de Leroy et al. (2015) (cor. Pearson < 0.7, Brun et al. 2020). Trente bootstraps ont été réalisés pour chaque SDM (Guisan et al., 2017) en utilisant une calibration de 70% des données. Pour chaque espèce, les trente bootstraps de Random Forest ont été combinés avec la moyenne pour fournir une prédiction d'ensemble de la favorabilité de l'habitat.

L'évaluation de la performance des modèles actuels a été réalisée à l'aide de l'indice de Boyce (CBI) et des données d'observation des modèles d'étude en zone méditerranéenne, l'une des mesures les plus appropriées pour les modèles en présence seule (Boyce et al., 2002 ; Leroy et al., 2018). Par ailleurs, le CBI peut s'avérer dans certains cas erroné (Dubos et al., 2022). Ainsi, la confrontation des modèles aux experts de terrain s'avère une garantie essentielle auquel nous avons confronté les modèles.

Tableau 5 – Variables environnementales utilisées pour la modélisation de distribution d'espèce.

Type de variable	Variables	Traitements	Type / Années	Source BDD	Sélection pour SDM
<b>Climatique</b>	Bio 8 (T°C moy. trimestre le plus humide)	Désagrégation 1km en 50m	Raster ~ 1km / 1981- 2010 Pred. GFDL- ESM4 (SSP1- 2.6, SSP3-7.0 et SSP5- 8.5) 2041- 2070 et 2071- 2100	Chelsa (Karger et al., 2017, 2021)	Bio 8
	Bio 9 (T°C moy. trimestre le plus sec)				Bio 9
	Bio13 (prec. mois le plus humide)				Bio 13
	Bio14 (prec. mois le plus sec)				Bio 14
	Bio15 (saisonnalité des prec.)				Bio 15
	Bio 16 (prec. moy. semestre le plus humide)				
	Bio 17 (prec. moy. semestre le plus sec)				
<b>Élévation</b>	Altitude	Agrégation de 5m à 50m	Raster / 2024 / 5m	BD ALTI (IGN, 2022)	Non (surajustée)
<b>Occupation du sol</b>	Densité de : Zones artificialisées (za) Cultures défavorables (cd) Milieux ouverts (mo) Cultures perméables (cp) Milieu fermés (mf)	Agrégation de 10m à 50m Combinaison pour : - Année 2016-2017 – za (41, 42, 43, 44), cd (11, 12), mo (211,45,34), cp (221, 222), mf (31, 32, 36) - Année 2018-2022 – za (1, 2, 3, 4), cd (5, 6, 7, 9, 10, 11, 12), mo (13, 18, 20), mf (16,17,19) Surface dans zone tampon de 50, 200 et 1000m	Raster 10m / 2016 à 2022	OSO Land Cover (Inglada et al., 2019)	Densité 50m et 1000m
<b>Zones humides</b>	Probabilité de zones humides	Agrégation de 5m à 50m			Oui
	Densité zones humide seuillées	Surface dans zone tampon de 200 et 1000m Agrégation de 5m à 50m	Raster 5m / 2023	(Rapinel et al., 2023)	Non
	Distance zones humides seuillées	Agrégation de 5m à 50m Distance			Oui
<b>Mares</b>	Traitements préalables	Fusion de : - BD TOPAGE sélection plans d'eau : mares, réservoirs < 1500m <sup>2</sup> et retenues < 1500m <sup>2</sup> - Occurrences relatives à la phase	Vecteur polygone / 2024 Vecteur point	BD TOPAGE (Sandre Eau France, 2024)	/

Type de variable	Variables	Traitements	Type / Années	Source BDD	Sélection pour SDM
	Densité de mares	aquatique (phénologie à dire d'expert) : <i>Alytes obstetricans</i> & avril-juin, <i>Lissotriton helveticus</i> & mars-mai, <i>Lissotriton vulgaris</i> & avril-mai, <i>Ichthyosaura alpestris</i> & avril-mai, <i>Pelobates fuscus</i> & mai-juillet, <i>Pelophylax sp.</i> & avril-juin <i>Pelodytes punctatus</i> & janvier-mai + octobre-décembre, puis zone tampon de 10m Surface dans zone tampon de 50, 200 et 1000m			Toutes
	Distances aux mares	Distance			Oui
<b>Haies</b>	Densité de haies	Linéaire dans zone tampon de 50, 200 et 1000m	Vecteur ligne	BD TOPO (IGN, 2022)	Densité 50 et 200m
	Distance aux haies	Distance			Oui
<b>Fragmentation</b>	Densité d'éléments de fragmentation	Fusion de : - BD TOPO tronçons ferrés - BD TOPO tronçons routier : Bretelle, Type autoroutier, Route à 2 chaussées, Route à 1 chaussée - BD TOPAGE : Réseau hydrographique < 1250m de largeur Linéaire dans zone tampon de 50, 200 et 1000m	Vecteurs lignes	BD TOPO (IGN, 2022) BD TOPAGE (Sandre Eau France, 2024)	Non

## Pré-identification des secteurs à étudier pour la translocation en région PACA

La pré-identification de secteurs favorables à l'accueil d'une translocation de Triton crêté s'est concentrée sur la distribution méditerranéenne naturelle de l'espèce en région PACA soit dans les départements des Bouches-du-Rhône et du Vaucluse. Pour ce faire, nous avons analysés les résultats des modèles de distribution de l'espèce au regard d'informations écologiques, abiotiques et prédictives. Dans un principe de faciliter la compréhension, le modèle défini comme consensuel statistiquement et au regard d'expert a été sélectionné pour les analyses. Nous l'avons ensuite catégorisé afin de représenter les zones les plus favorables au Triton crêté.

La carte des habitats favorables modélisés a tout d'abord été confronté à la pression qu'exerce les écrevisses invasives sur le Triton crêté à travers notamment la réduction de la biomasse et la prédation des larves (Grillas et al., 2018). Nous avons alors collecté les données en libre accès sur la présence de trois espèces d'écrevisses exotiques et invasives (*Faxonius limosus*, *Pacifastacus leniusculus*, *Procambarus clarkii*)

Tableau 6). Or, ces données de présence avérées souffrent de biais spatiaux et temporels (biais de prospections, temporalité de la donnée, non représentation du potentiel de colonisation...), qui n'ont permis de les intégrer à la modélisation des SDM. En complément de ces données et par principe de prévention<sup>1</sup>, nous avons considéré un gradient de potentialité de présence d'écrevisses invasives à travers un tampon de 400 mètres autour des cours d'eau permanents (distance minimale de dispersion hors d'eau, établie « à dire d'expert »). Ainsi, la présence et la potentialité de présence d'écrevisses exotiques invasives apparaissent comme un facteur défavorable pour l'installation de foyer populationnel de T. crêté.

Tableau 6 – Bases de données écrevisses invasives (*Faxonius limosus*, *Pacifastacus leniusculus*, *Procambarus clarkii*) collectées pour la zone méditerranéenne de la région PACA.

Type	Base de données	Période	Nombre / Traitements	Accès / références
Observations	GBIF	2000 – 2024	2 221	<a href="https://www.gbif.org">https://www.gbif.org</a>
	INPN	2000 – 2024	757	<a href="https://openobs.mnhn.fr">https://openobs.mnhn.fr</a>
	Silène-faune – SINP PACA	2000 – 2024	239	<a href="https://expert.silene.eu">https://expert.silene.eu</a>
	Enquête nationale Ecrevisses - OFB	2014	553	(Collas et al., 2015 ; Magnier & Petit, 2016)
Présence potentielle	BD TOPAGE	2024	400 m de tampon autour des cours d'eau permanents	(Sandre Eau France, 2024)

<sup>1</sup> Le principe de prévention vise à prévenir les risques connus et prévus, à distinguer du principe de précaution souvent utilisé à tort, qui est réservé aux situations particulièrement exceptionnelles dans le cadre de politiques publiques lorsque l'incertitude sur la réalité de dommages graves et irréversibles causés à l'environnement ne justifie pas l'inaction. (Article 5 de la Charte de l'environnement, article L.110.1 du code de l'environnement ; lire aussi : <https://www.conseil-constitutionnel.fr/les-membres/le-principe-de-precaution-devant-le-conseil-constitutionnel>)

La présence d'un réseau de mares est un facteur essentiel à présence et au maintien du Triton crêté (Grillas et al., 2018 ; Hartel et al., 2010 ; Priol et al., 2023). Nous avons alors tenté de représenter le potentiel de création de mares fonctionnelles, c'est-à-dire avec une hydropériode compatible avec la reproduction de l'espèce. Pour cela, deux données environnementales abiotiques ont été utilisées. La première donnée est le potentiel d'accumulation d'eau (en anglais *Topographic Wetness Index*, TWI) basé sur la topographie. Il représente les écoulements d'eau pouvant être captés. La deuxième donnée est la probabilité de présence seuillée de zones humides de Rapinel et al. (2023) (modélisé à partir de données pédologiques et d'élévation dont le TWI) pouvant délimiter des secteurs à potentiel de restauration – création d'habitats. Pour révéler le gain potentiel de favorabilité lié à la création de réseaux de mares, nous avons confronté avec une catégorisation en 4 classes (de 0 à 3) la modélisation de Triton crêté sélectionnée et :

- le potentiel de présence seuillé de zones humides ;
- le TWI.

Enfin, nous avons prédit l'évolution de la favorabilité en habitat du Triton crêté face aux changements climatiques prédits en zone méditerranéenne. Les données d'observation à l'échelle nationale et les variables environnementales climatiques seules (Bio 8, Bio 9, Bio 13, Bio 14 et Bio 15 ; Tableau 5) ont été utilisées pour calibrer le modèle. La calibration et l'évaluation des modèles ont été réalisées avec une résolution de 1km en suivant la méthodologie de la section précédente. Ensuite, les modèles ont été prédit sur la zone méditerranéenne pour 6 scénarios de changements climatiques (modèles futurs) pour deux périodes (2041-2070 et 2071-2100) et trois scénarios (GFDL-ESM4, SSP1-2.6, SSP3-7.0 et SSP5-8.5) ; où SSP1-2.6 est un scénario de développement durable avec des émissions de gaz à effet de serre limitées, SSP5-8.5 est un scénario de haute émission avec un fort développement axé sur les énergies fossiles et SSP3-7.0 est un scénario intermédiaire.

## Résultats

### *Modèles de distribution des habitats favorables*

Quatre modèles de distribution des habitats favorables ont été produits (Figure 15, Figure 16). Les modèles se sont avérés bien évalués sur le plan statistique (évaluation par l'indice de Boyce, Annexe 2) malgré une favorabilité des habitats maximum atteignant au mieux 0.83 pour le modèle Triton crêté calibré sur les données de zone méditerranéenne. Par ailleurs, des divergences marquées apparaissent entre les prédictions des deux modèles d'étude utilisés, c'est-à-dire entre le Triton crêté et le groupe fonctionnel (Annexe 3.a et 3.b). En effet, les modèles du Triton crêté révèlent des habitats plus favorables au niveau des plaines alluviales (notamment Rhône et Durance) et plus défavorables au niveau de la Camargue, des zones collinéennes et les reliefs pré-alpins tandis que les modèles du groupe fonctionnel s'avèrent moins contrastés avec des habitats globalement plus favorables. Plus généralement, les modèles calibrés sur les données de la zone méditerranéenne s'avèrent plus optimistes sur la favorabilité des habitats par rapport aux modèles calibrés sur les données nationales. Enfin, l'évaluation à dire d'expert des courbes de réponse a permis de valider la cohérence écologique des modèles (Annexe 2).

## Modélisation de la favorabilité des habitats du Triton crêté

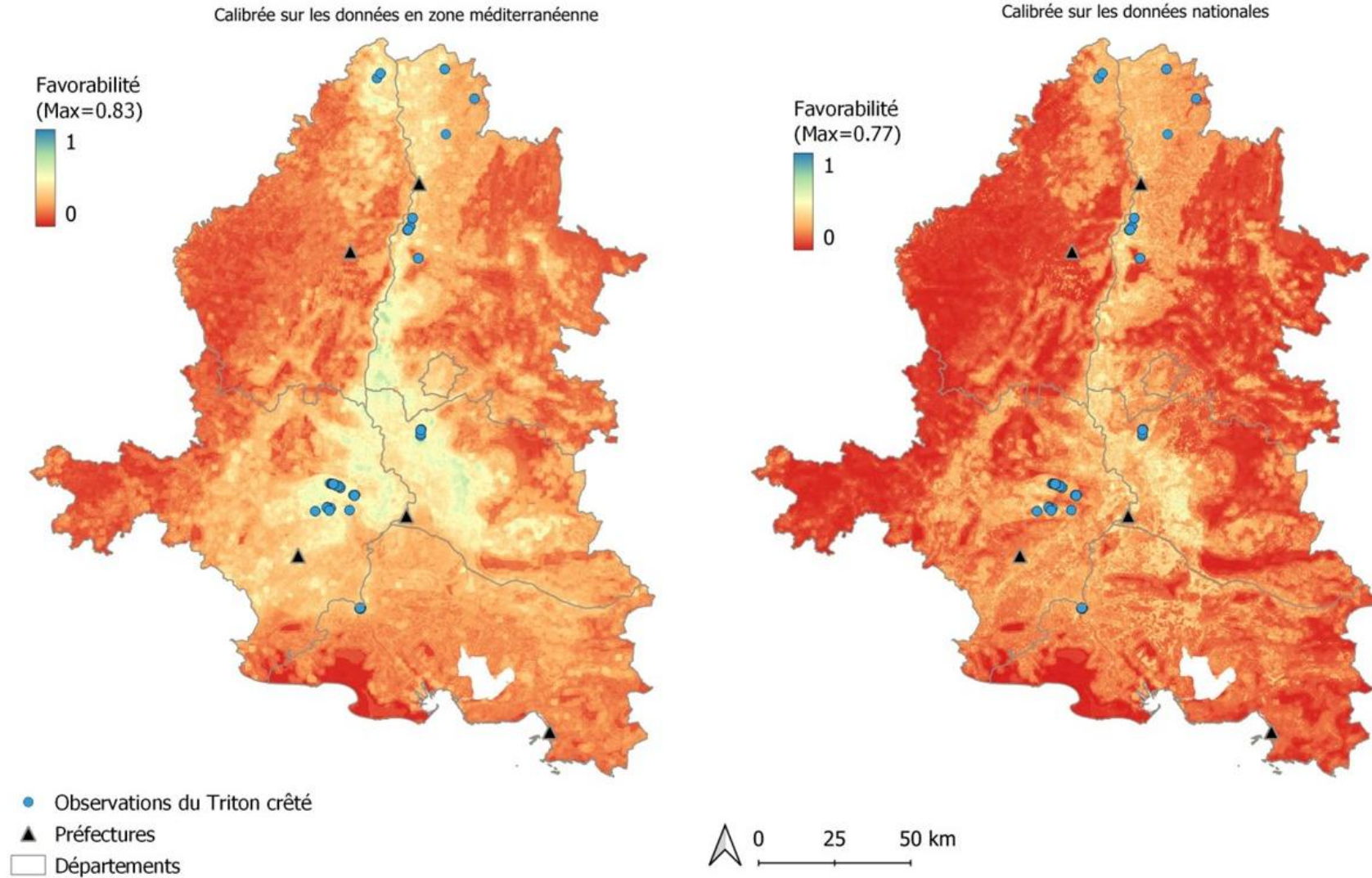


Figure 15 – Modélisation des habitats favorables au Triton crêté– Calibration des modèles à partir des données d’observation de Triton crêté collectées à l’échelle de la zone méditerranéenne (à gauche) et à l’échelle nationale (à droite). Annexe 2.a - Courbes de réponses et évaluation des modèles.

## Modélisation de la favorabilité des habitats du groupe fonctionnel du Triton crêté

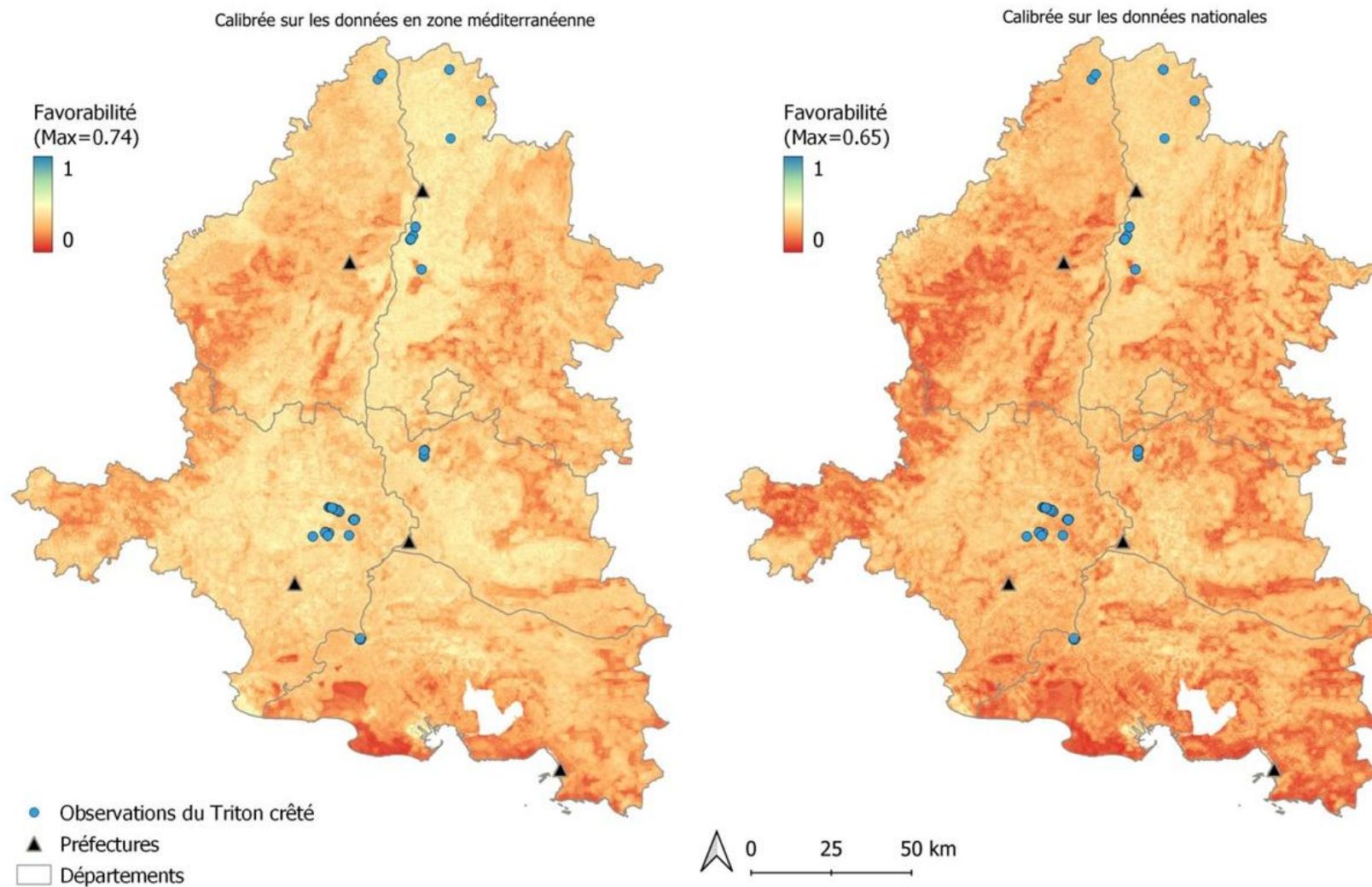


Figure 16 – Modalisation des habitats favorables au groupe fonctionnel du Triton crêté – Calibration des modèles à partir des données d'observation du groupe fonctionnel (Triton crêté, Pélobate cultripède et Triton palmé) collectées à l'échelle de la zone méditerranéenne (à gauche) et à l'échelle nationale (à droite). Annexe 2.b - Courbes de réponses et évaluation des modèles.

### *Pré-identification des secteurs à étudier pour la translocation du Triton crêté*

Pour rappel, cette analyse s'est concentrée sur les départements des Bouches-du-Rhône et du Vaucluse.

Un premier travail de pré-identification des secteurs à étudier pour la translocation du Triton crêté a été mené en se basant sur le modèle calibré sur les données de Triton crêté de la zone méditerranéenne. Ce modèle a été sélectionné par principe de parcimonie du modèle d'étude utilisé (c.-à-d, l'utilisation stricte des observations de l'espèce limite l'incertitude liée au groupe fonctionnel) et en raison de son meilleur ajustement aux observations de la zone d'étude (c.-à-d, une meilleure évaluation statistique et prédiction maximale plus élevées). Par ailleurs, ce modèle s'avère préféré à dire d'expert puisqu'il paraît notamment plus optimiste sur les foyers de populations existants (consultation expert interne). Ainsi, ce modèle catégorisé en quatre classes révèle les habitats plus favorables au Triton crêté au niveau de la plaine alluviale du Rhône remontant jusqu'au piémont sud du Mont Ventoux et le long de la vallée du Calavon. Dans une moindre mesure, les habitats à proximité d'Arles, le long de la Durance et au niveau des Alpilles s'avèrent relativement favorables (Figure 17).

La confrontation des habitats favorables au Triton crêté à des facteurs d'ordre écologique (présence d'écrevisses exotiques), abiotiques (zone humide et potentielle d'accumulation d'eau) et prédictif (changement climatique) affectent significativement la distribution des secteurs à considérer pour la réintroduction de l'espèce.

Les observations complétées par la dispersion potentielle d'écrevisses exotiques envahissantes viennent très fortement réduire la potentialité des secteurs initialement définis. En effet, l'ensemble des plaines alluviales s'avèrent alors défavorables, c'est-à-dire une grande majorité de la plaine du Rhône, de la Durance et des cours d'eau à régime permanent (Figure 18).

La création de réseaux de mares pourrait améliorer la favorabilité d'habitat actuellement peu favorables, comme le révèle la relation positive entre la favorabilité des habitats et la densité de mares (voir courbes de réponses des modèles, Annexe 2). La potentialité de création de mares fonctionnelles (c.-à-d., avec une hydropériode compatible avec une reproduction efficace) basées sur la potentialité de zone humides augmente significativement la favorabilité des plaines alluviales. Or la présence potentielle d'écrevisses exotiques vient très fortement défavorabiliser ces secteurs. Par ailleurs, la potentielle d'accumulation d'eau (TWI) révèlent une amélioration de la favorabilité des habitats pour des secteurs plus en amont des bassins versant, échappant alors à la pression des écrevisses exotiques (Figure 19, Figure 20 ; Annexe 4.a et 4.b).

Enfin, la mise en perspective de la favorabilité des habitats du Triton crêté vis-à-vis du changement climatique révèle une dégradation prédictive des conditions climatiques favorables à l'espèce sur l'ensemble des deux départements des Bouches-du-Rhône et du Vaucluse. Ce constat reste cependant à mettre en perspective avec le caractère non optimal des favorabilités climatiques prédites actuellement dans la méditerranéenne. Ainsi, ponctuellement certaines zones semblent néanmoins rester relativement favorables (Figure 21, Annexe 2.c).

## Favorabilité des habitats du Triton crêté - Catégorisée

- Modèle calibrée sur les données en zone méditerranéenne -

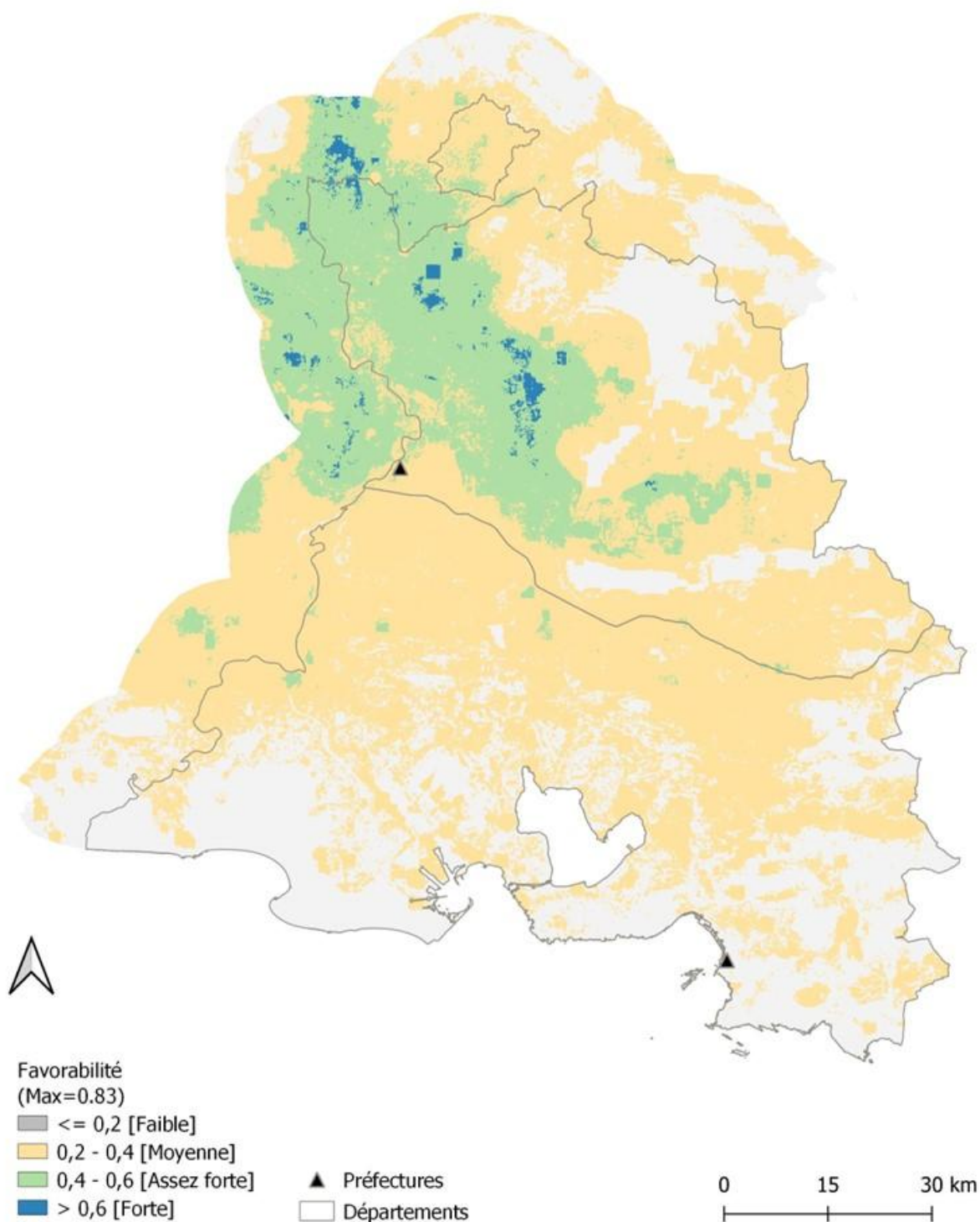


Figure 17 – Catégorisation du modèle de favorabilité des habitats du Triton crêté. Modèle calibré à partir des données du Triton crêté à l'échelle de la zone méditerranéenne. Catégories de favorabilité établies à dire d'expert et qualifiées à titre indicatif.

### Habitats favorables au Triton crêté dégradés par la présence potentielle d'écrevisses exotiques

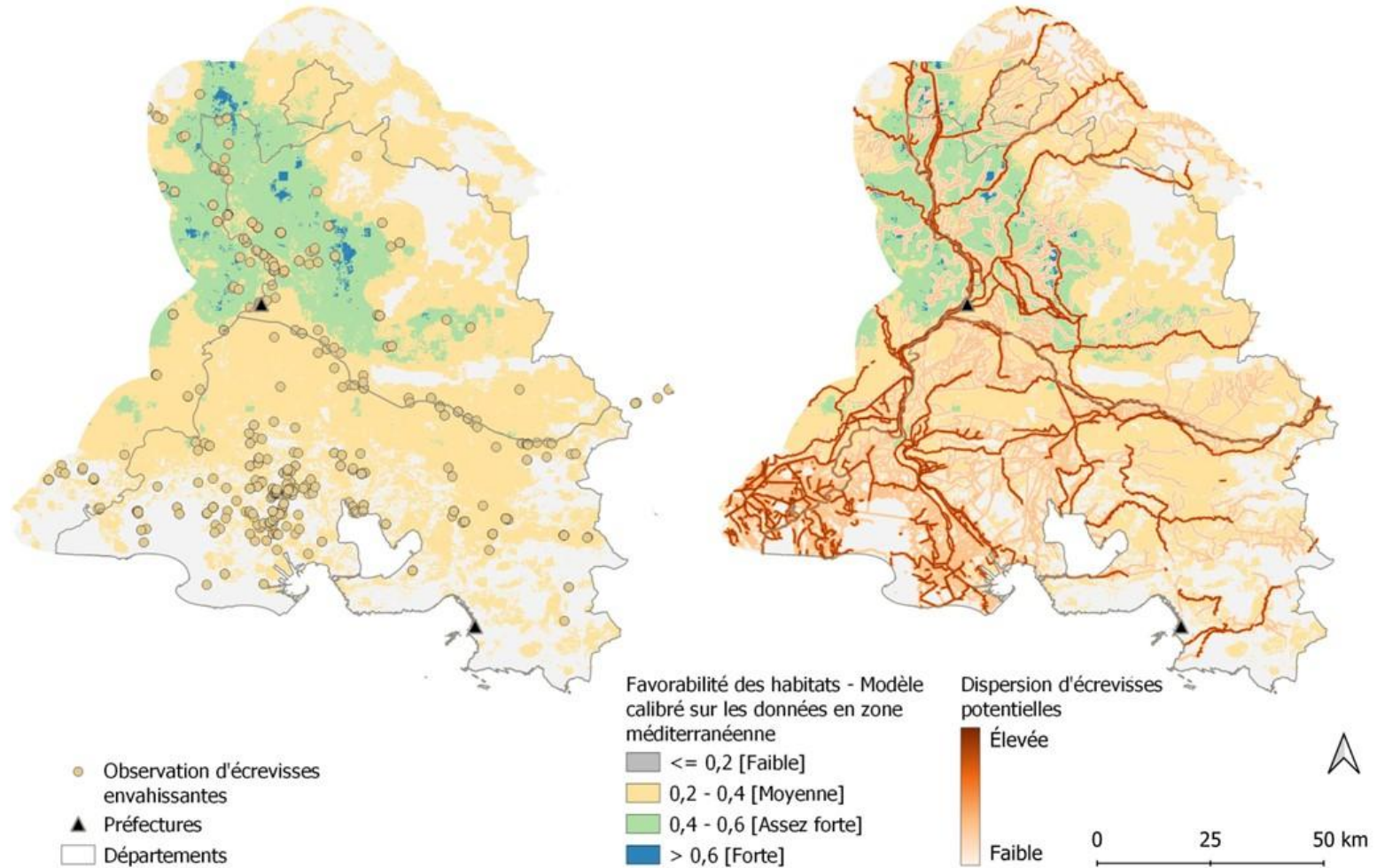
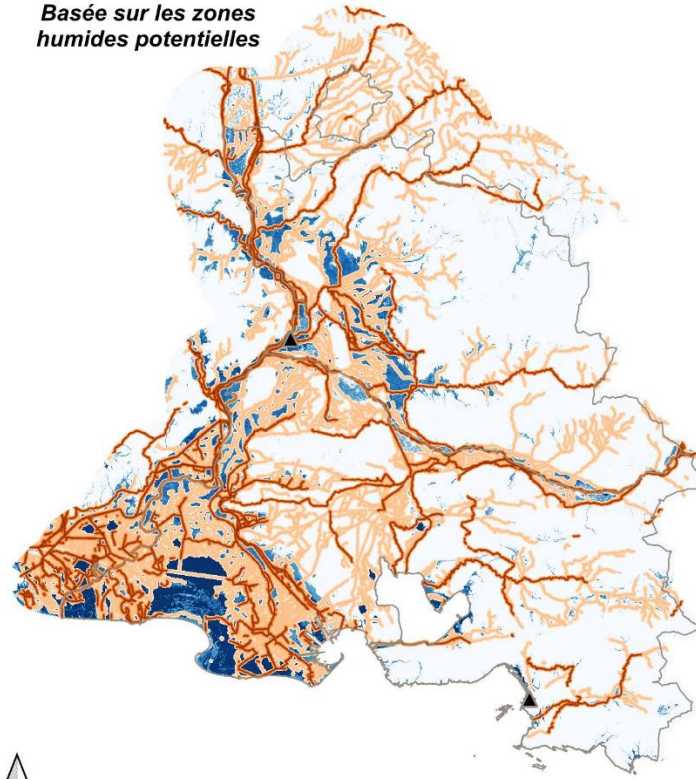


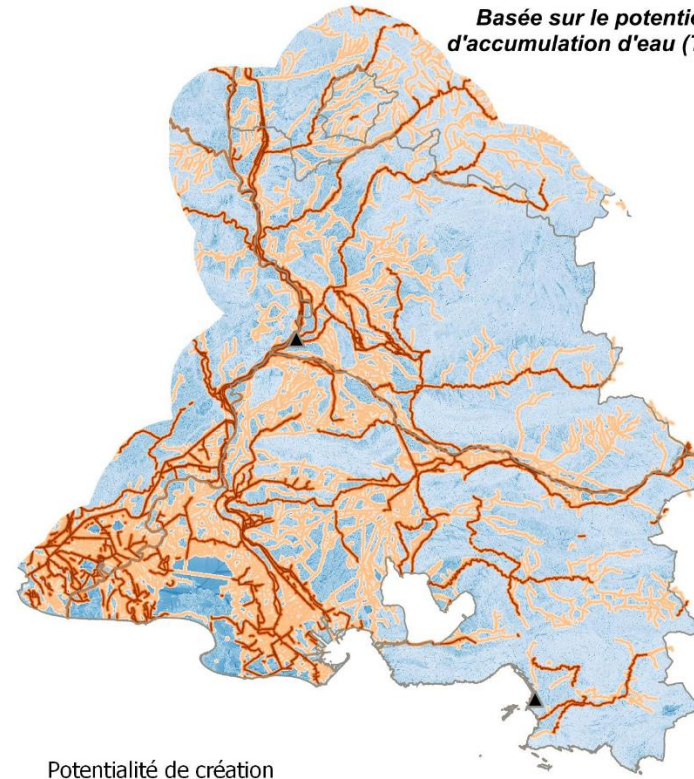
Figure 18 – Juxtaposition de la modélisation des habitats favorables au Triton crêté avec la présence d'écrevisses exotiques envahissantes défavorable au Triton crêté.

## Potentialité de création de réseaux de mares fonctionnels au vu de la présence d'écrevisses exotiques

Basée sur les zones  
humides potentielles

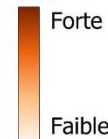


Basée sur le potentiel  
d'accumulation d'eau (TWI)

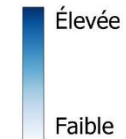


0 25 50 km

Dispersion d'écrevisses



Potentialité de création  
de mares fonctionnelles\*

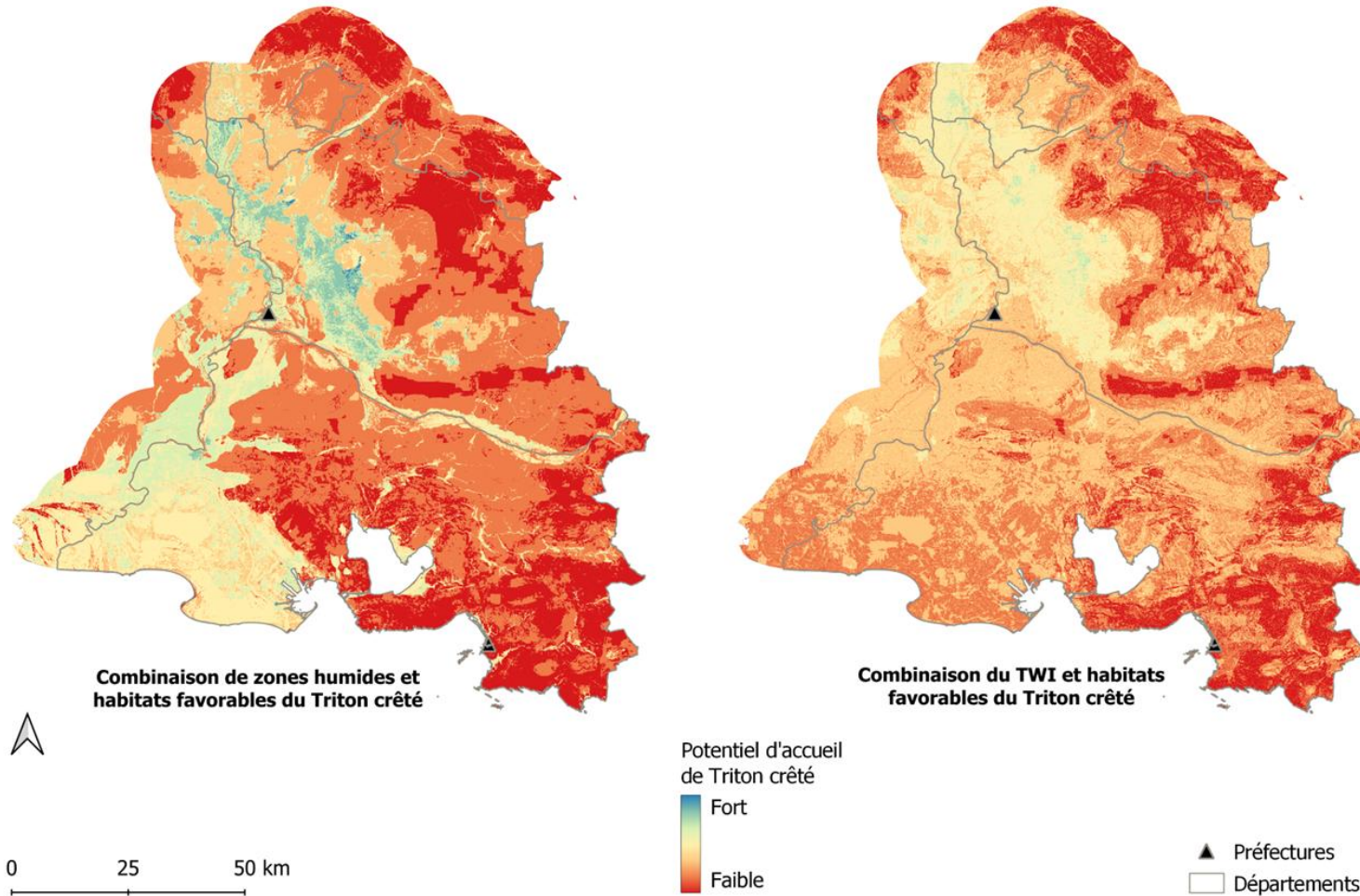


▲ Préfectures  
□ Départements

\*Mare fonctionnelle d'un point de vue d'accumulation d'eau compatible avec la reproduction d'amphibiens.

Figure 19 – Potentialité de création de réseaux de mares fonctionnels (hydro période compatible à la reproduction) basée sur la présence de zone humide potentielle ou d'un potentielle d'accumulation d'eau, confronté à la potentialité de présence d'écrevisses exotiques. Annexe 4.a sans la dispersion d'écrevisses.

**Favorabilité des habitats de Triton crêté additionnés  
à la potentialité de création de réseaux de mares fonctionnelles\***



\*Mares fonctionnelles d'un point de vue d'accumulation d'eau compatible avec la reproduction d'amphibiens.

Figure 20 – Favorabilité des habitats de Triton crêté (catégorisés en 4 classes de 0 à 3) additionnés à la potentialité de création de mares fonctionnelles (zone humide potentielle ou TWI catégorisés en 4 classes égales de 0 à 3). Annexe 4.b avec la dispersion d'écrevisses.

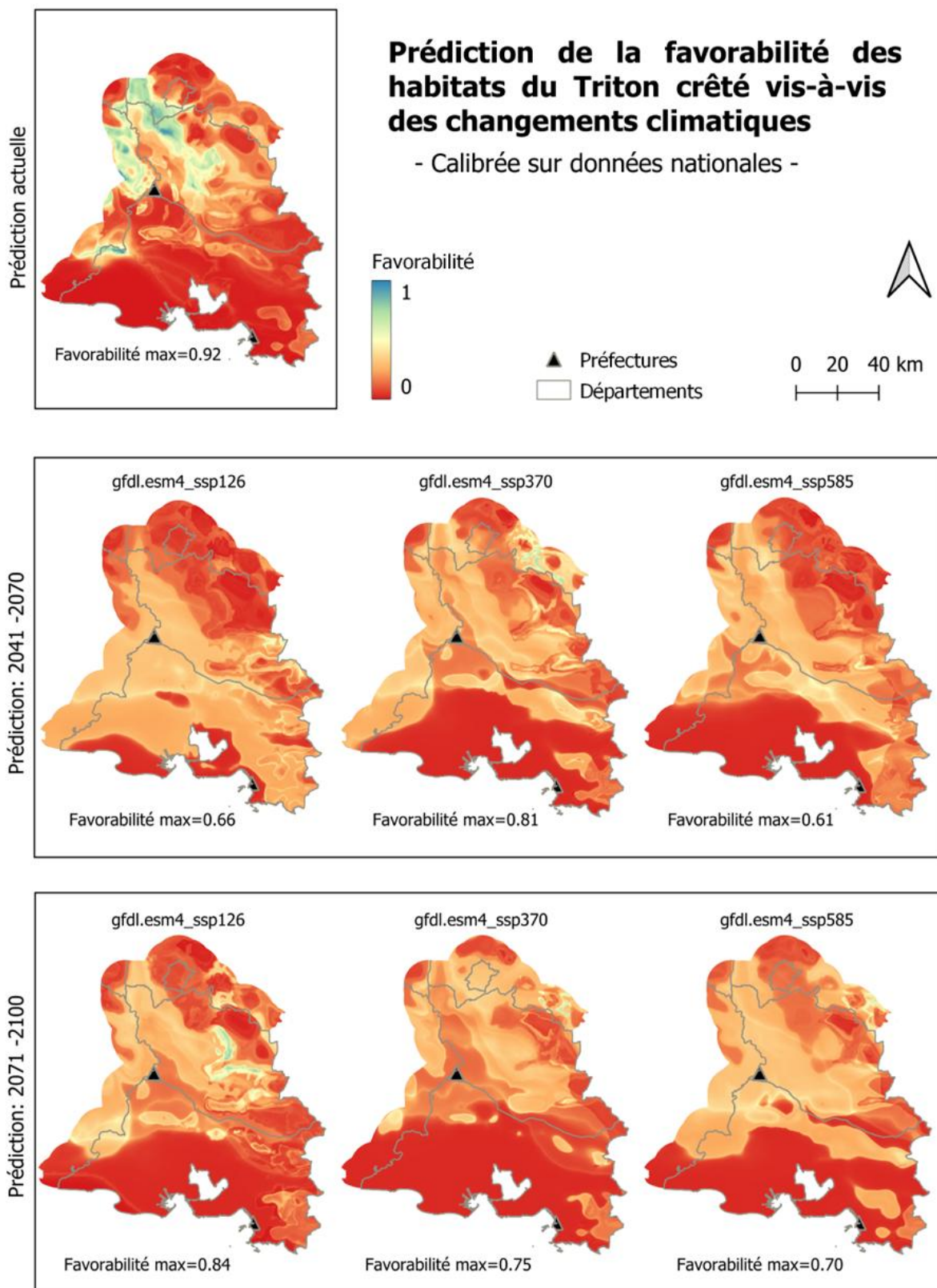


Figure 21 – Prédiction de la favorabilité des habitats de Triton crêté vis-à-vis des changements climatiques pour deux période 2041-2070 et 2071-2100 et 3 scénarios gfdl.esm4 ssp126 (optimiste), ssp370 (intermédiaire), ssp585 (pessimiste). Annexe 2.c - Prédications sur la zone méditerranéenne, courbes de réponses et évaluation des modèles.

## Eléments de discussion

Les modèles ici produits proposent une distribution des habitats favorables du Triton crêté, au-delà des foyers de populations actuellement connus en zone méditerranéenne française. La bonne évaluation statistique des modèles et la cohérence écologique validée à dire d'expert renforce la crédibilité des modèles (Geniez & Cheylan, 2012). Néanmoins, les divergences entre les modèles de l'espèce soulignent l'importance de l'échelle de calibration. Le modèle national, moins optimiste en zone méditerranéenne révèle un optimum écologique plus septentrional ; tandis que le modèle restreint aux données méditerranéenne traduit davantage les conditions locales en tronquant la niche écologique de l'espèce ce qui tend à surajuster les prédictions (Guisan et al., 2025). L'approche par groupe fonctionnel s'est révélée peu concluante, produisant des prédictions trop homogènes pour pré-identifier des secteurs favorables spécifiquement à l'espèce. Par conséquent malgré ses limites, la carte ajustée aux particularités des populations méditerranéennes du Triton crêté répond le mieux aux objectifs de l'étude. Nos modèles ont été construits sans intégrer explicitement les menaces locales, les perturbations anthropiques ou des scénarios de gestion, ces derniers étant difficilement évaluables sans une approche de terrain. Cependant, nous avons réalisé une analyse macroscopique de deux facteurs de pression :

- présence d'écrevisses exotiques envahissantes ;
- scénarios climatiques.

La présence d'écrevisses exotiques envahissantes constitue un facteur important de restriction des secteurs historiquement et potentiellement favorables au Triton crêté en excluant de facto une grande partie des plaines alluviales. Les prospections menées par Grillas et al. (2018) sur plusieurs sites de présence historique ou favorable de la basse vallée du Rhône confirment et étendent ce constat, puisqu'aucune population n'a été retrouvée sur des sites historiquement occupés et un fort niveau d'altération des milieux aquatiques (~80%) (forte pression anthropique, espèces allochtones, faible diversité d'invertébrés aquatiques). Néanmoins, nos résultats suggèrent que certains secteurs actuellement prédits comme peu favorables pourraient être valorisés par des actions de gestion ciblées. La création de réseaux de mares fonctionnelles, bénéficiant d'une hydropériode compatible avec la reproduction du Triton crêté, pourrait améliorer significativement la favorabilité des habitats. À ce titre, les zones en amont des bassins versants, identifiées comme présentant un potentiel d'accumulation en eau, offrent des opportunités intéressantes et pourraient échapper à la pression des écrevisses exotiques.


Les populations méditerranéennes de Triton crêté apparaissent particulièrement vulnérables face aux changements climatiques. La diminution attendue de la fréquence et de la régularité des pluies avec l'augmentation des températures compromettrait le maintien d'hydropériodes suffisantes, indispensables au succès de reproduction de l'espèce. Nos résultats s'inscrivent ainsi dans la tendance déjà décrite pour de nombreux amphibiens, caractérisée par une persistance des populations méditerranéennes compromises et un déplacement progressif des aires de répartition vers le nord (Gerick et al., 2014 ; Préau et al., 2019 ; Proios et al., 2024 ; Tarjuelo et al., 2025). À terme, l'ensemble de la zone méditerranéenne pourrait devenir défavorable au maintien de populations viables de Triton crêté en l'absence d'actions de gestion.

## Bibliographie

- Aiello-Lammens, M. E., Boria, R. A., Radosavljevic, A., Vilela, B., & Anderson, R. P. (2015). spThin : An R package for spatial thinning of species occurrence records for use in ecological niche models. *Ecography*, 38(5), 541-545.
- Albert, C. H., Rayfield, B., Dumitru, M., & Gonzalez, A. (2017). Applying network theory to prioritize multispecies habitat networks that are robust to climate and land-use change. *Conservation Biology*, 31(6), 1383-1396.
- Anderson, R. P. (2003). Real vs. artefactual absences in species distributions : Tests for *Oryzomys albigularis* (Rodentia: Muridae) in Venezuela. *Journal of Biogeography*, 30(4), 591-605.
- Bernard, P., Priol, P., & Scher, O. (2021). *NEWT'ON CORRIDORS « Le réseau de mares entre Cèze et Gardon à l'épreuve du changement climatique et des activités humaines : Agir sur la trame turquoise pour préserver le Triton crêté en Occitanie » - Bilan de la phase 1* (p. 61). CEN Occitanie.
- Boyce, M. S., Vernier, P. R., Nielsen, S. E., & Schmiegelow, F. K. A. (2002). Evaluating resource selection functions. *Ecological Modelling*, 157(2), 281-300.
- Brun, P., Thuiller, W., Chauvier, Y., Pellissier, L., Wüest, R. O., Wang, Z., & Zimmermann, N. E. (2020). Model complexity affects species distribution projections under climate change. *Journal of Biogeography*, 47(1), 130-142.
- Collas, M., Burgun, V., Poulet, N., Penil, C., & Grandjean, F. (2015). *La situation des écrevisses en France—Résultats de l'enquête nationale 2014* (p. 32). Onema.
- Dubos, N., Préau, C., Lenormand, M., Papuga, G., Monsarrat, S., Denelle, P., Louarn, M. L., Heremans, S., May, R., Roche, P., & Luque, S. (2022). Assessing the effect of sample bias correction in species distribution models. *Ecological Indicators*, 145, 109487.
- Geniez P. & Cheylan M. 2012. Les Amphibiens et les Reptiles du Languedoc-Roussillon et régions limitrophes. Atlas biogéographique. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris ; Biotope, Mèze, 448 p
- Gerick, A. A., Munshaw, R. G., Palen, W. J., Combes, S. A., & O'Regan, S. M. (2014). Thermal physiology and species distribution models reveal climate vulnerability of temperate amphibians. *Journal of Biogeography*, 41(4), 713-723.
- GHRA - LPO Rhône-Alpes. (2015). *Les Amphibiens et Reptiles de Rhône-Alpes*.
- Grillas, C., Ugnon-Coussioz, E., Priol, P., & Renet, J. (2018). *Low occurrence of the great crested newt Triturus cristatus at the limits of its range : An alarming preliminary study*. 145, 14-18.
- Guisan, A., Chevalier, M., Adde, A., Zarzo-Arias, A., Goicolea, T., Broennimann, O., Petitpierre, B., Scherrer, D., Rey, P.-L., Collart, F., Riva, F., Steen, B., & Mateo, R. G. (2025). Spatially nested species distribution models (N-SDM) : An effective tool to overcome niche truncation for more robust inference and projections. *Journal of Ecology*, 113(7), 1588-1605.
- Guisan, A., Thuiller, W., & Zimmermann, N. E. (2017). *Habitat Suitability and Distribution Models : With Applications in R*. Cambridge University Press.

- Hartel, T., Nemes, S., Öllerer, K., Cogălniceanu, D., Moga, C., & Arntzen, J. W. (2010). Using connectivity metrics and niche modelling to explore the occurrence of the northern crested newt *Triturus cristatus* (Amphibia, Caudata) in a traditionally managed landscape. *Environmental Conservation*, 37(2), 195-200.
- IGN. (2022). *Géoservices—Téléchargement de données*. <https://geoservices.ign.fr/telechargement>
- Inglada, J., Vincent, A., & Thierion, V. (2019). Theia OSO Land Cover Map 2019 [Data set] [Jeu de données]. In *Zenodo*.
- Karger, D. N., Conrad, O., Böhrer, J., Kawohl, T., Kreft, H., Soria-Auza, R. W., Zimmermann, N. E., Linder, H. P., & Kessler, M. (2017). Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas. *Scientific Data*, 4(1), Article 1.
- Karger, D. N., Conrad, O., Böhrer, J., Kawohl, T., Kreft, H., Soria-Auza, R. W., Zimmermann, N. E., Linder, H. P., & Kessler, M. (2021). Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas. *EnviDat*, 4, 170122.
- Leroy, B., Delsol, R., Hugueny, B., Meynard, C. N., Barhoumi, C., Barbet-Massin, M., & Bellard, C. (2018). Without quality presence–absence data, discrimination metrics such as TSS can be misleading measures of model performance. *Journal of Biogeography*, 45(9), 1994-2002.
- Leroy, B., Meynard, C., & Courchamp, F. (2015). Virtualspecies, an R package to generate virtual species distributions. *Ecography*.
- Magnier, J., & Petit, K. (2016). *L'enquête nationale sur les écrevisses (Édition 2016)* (Synthèse, p. 21). Office national de l'eau et des milieux aquatiques (Onema). <https://www.eaufrance.fr/publications/lenquete-nationale-sur-les-ecrevisses-edition-2016>
- Mancini, G., Di Marco, M., Carboni, M., Cerretti, P., Maiorano, L., & Santini, L. (2025). On the Importance of Expert-Informed Variable Selection in Species Distribution Modelling. *Journal of Biogeography*, e70037.
- Matsuki, K., Kuperman, V., & Van Dyke, J. A. (2016). The Random Forests statistical technique : An examination of its value for the study of reading. *Scientific Studies of Reading*, 20(1), 20-33.
- McGill, B. J., Enquist, B. J., Weiher, E., & Westoby, M. (2006). Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(4), 178-185.
- Meurant, M., Gonzalez, A., Doxa, A., & Albert, C. H. (2018). Selecting surrogate species for connectivity conservation. *Biological Conservation*, 227, 326-334.
- Naimi, B., Hamm, N. A. S., Groen, T. A., Skidmore, A. K., & Toxopeus, A. G. (2014). Where is positional uncertainty a problem for species distribution modelling? *Ecography*, 37(2), 191-203.
- Opdam, P., Pouwels, R., van Rooij, S., Steingröver, E., & Vos, C. C. (2008). Setting Biodiversity Targets in Participatory Regional Planning : Introducing Ecoprofiles. *Ecology and Society*, 13(1).
- Phillips, S. J., Dudík, M., Elith, J., Graham, C. H., Lehmann, A., Leathwick, J., & Ferrier, S. (2009). Sample selection bias and presence-only distribution models : Implications for background and pseudo-absence data. *Ecological Applications*, 19(1), 181-197.
- Ponder, W. F., Carter, G. A., Flemons, P., & Chapman, R. R. (2001). Evaluation of Museum Collection Data for Use in Biodiversity Assessment. *Conservation Biology*, 15(3), 648-657.

- Préau, C., Isselin-Nondedeu, F., Sellier, Y., Bertrand, R., & Grandjean, F. (2019). Predicting suitable habitats of four range margin amphibians under climate and land-use changes in southwestern France. *Regional Environmental Change*, 19(1), 27-38.
- Priol, P., Renet, J., Besnard, A., Scher, O., & Bernard, P. (2023). Habitat Suitability Index is not relevant for great crested newt occupancy at its range margins : A Mediterranean case study. *Hydrobiologia*, 850(3), 591-605.
- Proios, K., Michailidou, D.-E., Lazarina, M., Tsianou, M. A., & Kallimanis, A. S. (2024). Climate and Land Use Changes Impact the Future of European Amphibian Functional Diversity. *Land*, 13(8), 1206.
- Rapinel, S., Panhelleux, L., Gayet, G., Vanacker, R., Lemercier, B., Laroche, B., Chambaud, F., Guelmami, A., & Hubert-Moy, L. (2023). National wetland mapping using remote-sensing-derived environmental variables, archive field data, and artificial intelligence. *Heliyon*, 9(2).
- Sahraoui, Y., De Godoy Leski, C., Benot, M.-L., Revers, F., Salles, D., van Halder, I., Barneix, M., & Carassou, L. (2021). Integrating ecological networks modelling in a participatory approach for assessing impacts of planning scenarios on landscape connectivity. *Landscape and Urban Planning*, 209, 104039.
- Sandre Eau France. (2024). *L'Atlas-Catalogue du Sandre*. <https://www.sandre.eaufrance.fr/atlas/srv/fre/catalog.search#/home>
- Srisa-An, C. (2021). Guideline of Collinearity—Avoidable Regression Models on Time-series Analysis. *2021 2nd International Conference on Big Data Analytics and Practices (IBDAP)*, 28-32.
- Tarjuelo, R., Ascensão, F., & Aragón, P. (2025). Assessing Vulnerability of Relevant Sites for Amphibian Conservation Through Spatiotemporal Analyses of Global Change Factors in Europe. *Earth's Future*, 13(9), e2025EF006211.
- Valavi, R., Elith, J., Lahoz-Monfort, J. J., & Guillera-Arroita, G. (2021). Modelling species presence-only data with random forests. *Ecography*, 44(12), 1731-1742.
- Valavi, R., Guillera-Arroita, G., Lahoz-Monfort, J. J., & Elith, J. (2021). Predictive performance of presence-only species distribution models : A benchmark study with reproducible code. *Ecological Monographs*.
- Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., & Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional! *Oikos*, 116(5), 882-892.
- Vos, C. C., Verboom, J., Opdam, P. F. M., & Ter Braak, C. J. F. (2001). Toward Ecologically Scaled Landscape Indices. *The American Naturalist*, 157(1), 24-41.



# Volet 2 - **Génomique des populations méditerranéennes de Triton crêté**

## Objectifs

La réalisation d'une étude génétique des populations sources constitue un des maillons importants de l'évaluation préliminaire de la faisabilité de programmes de renforcement de populations et/ou de réintroduction basés sur l'élevage conservatoire. En effet, une faible diversité génétique implique majoritairement un faible potentiel adaptatif et la connaissance de l'état génétique des populations méditerranéennes permet non seulement de définir leur origine mais également leur potentielles spécificités.

Ce chapitre apporte des informations préliminaires sur le profil génétique des populations visées en les comparant à d'autres populations de France, d'Europe de l'Ouest et de l'Est. L'analyse de l'état génétique au sein des populations méditerranéennes étudiées permet également une évaluation de la diversité génétique, de l'équilibre génétique des populations et des éventuels processus de diversification. Enfin, la présence potentielle d'allèles de *T. carnifex* (espèce proche et pouvant s'hybrider avec *T. cristatus*) a été recherchée au sein des populations étudiées.

## Matériel et méthodes

### Intervenants

#### Echantillonnage terrain


NATURALIA Environnement : Eric DURAND ; Samuel GUIRAUDOU ; Antoine COQUIS

#### Analyse génétique

Museum National d'Histoire Naturelle – UMR7205 – ISYEB : Christophe DUFRESNES

## Campagne de prélèvement 2024

### Sites échantillonnés

<b>Id</b>	<b>Dpt</b>	<b>Communes</b>	<b>Typo ZH</b>	<b>Hydropériode</b>
<b>Tri</b>	Bouches-du-Rhône	Arles	Mare	Temporaire ; mise en eau non annuelle
<b>Val</b>	Gard	Valliguières	Etang	Temporaire ; mise en eau annuelle
<b>CMa</b>	Gard	Capelle et Masmolène (La)	Mares (réseau)	Temporaire à permanent (rare) ; mise en eau annuelle
<b>Ser1</b>	Vaucluse	Sérignan-du-Comtat	Prairies humide, fossés, mares	Temporaire (mare) ; mise en eau annuelle
<b>Roc</b>	Hautes-Alpes	Roche des Arnauds	Etang	Permanent ; alimentation par source captée
	Ardèche	Alboussière	Etang	Permanent
<b>Cha</b>	Drôme	Livron-sur-Drôme	Etang	Temporaire ; mise en eau annuelle

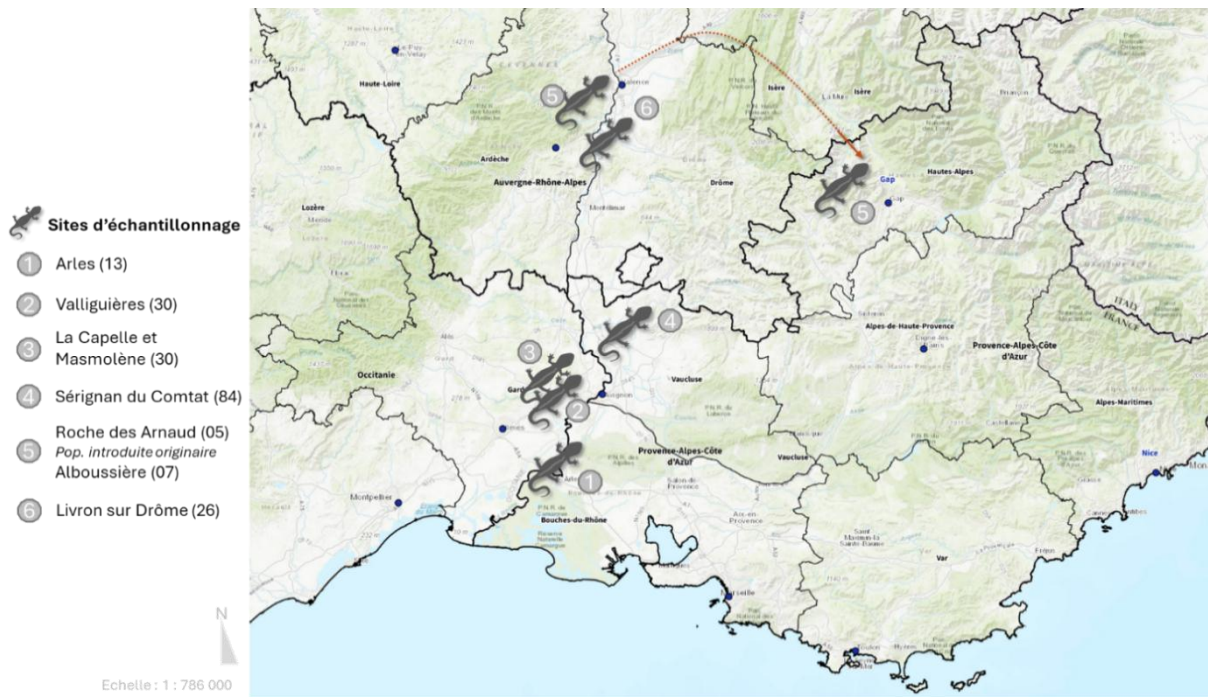


Figure 22 - Localisation des sites échantillonnés en 2024.

### Calendrier d'intervention 2024

Les sessions de terrain se sont déroulées entre les mois de février et juin 2024 ; réparties suivant les modalités ci-après :

Tableau 7 - Calendrier d'intervention pour la collecte du matériel générique.

<b>Id</b>	<b>Mois</b>	<b>Fév.</b>	<b>Mar.</b>	<b>Avr.</b>	<b>Mai.</b>	<b>Jui.</b>
<b>Tri</b>		13	29			
<b>Val</b>		21				04 et 05
<b>CMA</b>		29	12, 29		15	
<b>Ser1</b>		11, 14, 16, 19, 28	05, 07, 12, 27	25		
<b>Roc</b>						20
<b>Cha</b>				05, 27, 28	05	

### *Autorisations préfectorales de capture et autorisations d'accès aux sites*

L'ensemble des campagnes d'échantillonnage ici menées ont bénéficié des autorisations préfectorales préalables au sein des 5 départements concernés.

Pour le site d'Arles, l'autorisation d'accès a été obtenue auprès de la Communauté de d'agglomération Arles-Crau-Camargue-Montagnette.

Pour les sites de Valliguières et de la Capelle-et-Masmolène, l'autorisation d'accès a été obtenues auprès du CEN Occitanie.

Pour le site de Sérignan-du-Comtat, l'autorisation d'accès a été obtenue auprès du CEN PACA.

Pour le site de la Roche-des-Arnauds, l'autorisation d'accès a été obtenue auprès des propriétaires privés.

Pour le site de Livron-sur-Drôme, l'accès au site a fait l'objet d'une information auprès de la LPO Drôme.

### *Prélèvement salivaire et protocole sanitaire*

Le matériel génétique a été collecté par **prélèvement salivaire** des spécimens adultes ou subadultes.

Chaque prélèvement est réalisé par écouvillon stérile à l'intérieur de la cavité buccale. La durée moyenne du prélèvement est de 20 secondes pour une durée de manipulation générale inférieure à 2 min. par spécimen. Le prélèvement est ensuite déposé dans un eppendorf numéroté contenant un volume d'alcool puis stocké au frais.

Le pattern ventral de chaque spécimen échantillonné a été photographié pour éviter les doublons de prélèvement. Ces reportages photographiques seront remis aux structures gestionnaires et/ou en charge de suivis spécifiques.

Le respect du protocole d'hygiène pour le contrôle des maladies des amphibiens sur le terrain (Miaud 2022) a conduit à mettre en œuvre les règles sanitaires suivantes :

- Manipulation des spécimens avec des gants humidifiés à usage unique.
- Désinfection par pulvérisation au Virkon® de l'ensemble du matériel utilisé entre chaque campagne terrain (bacs plastiques, amphicaps, épuisettes, bottes,...).
- Vérification post-prélèvement de l'absence de saignement et de l'intégrité physique du spécimen (dans bac de stockage rempli de l'eau de la station) avant le relâché.



Amphicaptés installés, Etoile-sur-Rhône-26.



Mâles adultes capturés temporairement pour prélèvement salivaire, Sérignan-du-Comtat-84



Prélèvement salivaire par écouvillon, Sérignan du Comtat-84



Prélèvement salivaire par écouvillon, Arles-13



Spécimens en main et dans son milieu aquatique. Sérignan-du-Comtat-84 et Capelle-Masmolène-30

Trinquetaille, Arles-13

## Mobilisation d'autres sources de matériel génétique

En complément des données génétiques issues des populations méditerranéennes, 34 échantillons de *T. cristatus* d'Europe occidentale et centrale – y compris du refuge glaciaire présumé de l'espèce – pour comparaison ont été intégrés dans la présente analyse. Ils concernent 14 populations situées ailleurs en France, au Luxembourg, en Suisse, Angleterre, Slovaquie, République tchèque et Ukraine ; la plupart sont issus de la collection CEFE/BEV et des travaux menés par Dufresnes et al. (2016). Trois échantillons de *T. carnifex* ont été utilisés pour enraciner les analyses phylogénétiques et vérifier l'absence de cette espèce (issus de Dufresnes et al., 2016).

## Technique de séquençage

Les progrès du séquençage permettent désormais d'obtenir des données moléculaires couvrant l'ensemble du génome nucléaire à des coûts abordables, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour les études de phylogéographie et de génétique de la conservation, qui nécessitent bien souvent l'analyse de dizaines, voire de centaines d'individus. Chez les amphibiens, et notamment les urodèles, la grande taille du génome nucléaire (5 à 20 fois celui de l'humain) a favorisé l'émergence de protocoles dits de « réduction de génome », dans lesquels un large panel de marqueurs génétiques – plutôt que l'intégralité du génome – est génotypé (Peterson et al., 2012 ; Hutter et al., 2022 ; de Visser et al., 2024). Le nombre élevé de marqueurs (plusieurs centaines/milliers) permet une résolution particulièrement fine pour évaluer la structure et la diversité génétique, même lorsque celles-ci sont subtiles, par exemple dans le cas où la différenciation entre populations est récente, ou lorsque la variation génétique est faible (Sunde et al., 2020). Par ailleurs, la distribution aléatoire de ces marqueurs à travers l'ensemble du génome offre une représentation plus globale et plus fidèle des patrons de diversité et des flux géniques entre populations que ne le permet l'ADN mitochondrial, dont la transmission est clonale et strictement maternelle, ou encore les marqueurs microsatellites, dont le polymorphisme élevé induit un « bruit de fond » qui diminue la fiabilité des analyses (Miralles et al., 2024 ; Ambu et al., 2025).

Ces enjeux sont particulièrement importants pour *T. cristatus* dans la basse vallée du Rhône, en raison de la taille importante du génome de l'espèce et de la faible diversité génétique attendue au sein de ces populations, compte tenu de leur origine post-glaciaire présumée (Wielstra et al., 2013). Pour y répondre, les échantillons d'ADN ont été analysés à l'aide d'une méthode de réduction génomique : le ddRAD-seq (double digest Restriction Associated DNA sequencing). Cette approche cible des fragments d'ADN en fonction de motifs nucléotidiques reconnus par des enzymes de restriction, ainsi que selon la taille des fragments digérés obtenus. Cela permet de ne conserver qu'une portion du génome (mais la même chez tous les échantillons), ce qui est essentiel pour une analyse comparative. Le protocole utilisé est la dernière version de celui optimisé par l'auteur (version détaillée dans Dufresnes et al., 2025).

En résumé, après extraction de l'ADN, la préparation des banques comprend :

- (1) la digestion enzymatique (enzymes *SbfI* et *MseI*)
- (2) la ligation d'adaptateurs portant des codes-barres individuels (permettant d'identifier les échantillons)
- (3) l'amplification des fragments obtenus par PCR
- (4) la sélection d'une partie de ces fragments selon leur taille (400–500 paires de bases, pb).

Le pool ainsi obtenu est ensuite séquencé par la technologie Illumina.

Pour des raisons techniques et pratiques, chaque banque contient une série de 96 échantillons. Les données brutes sont traitées par bio-informatique à l'aide du pipeline *Stacks* (Catchen et al., 2013), qui comprend les étapes suivantes :

- (1) l'assignation des séquences aux échantillons à partir de leurs codes-barres (démultiplexage)
- (2) l'alignement, le catalogage et la correspondance des séquences entre échantillons (assemblage)
- (3) l'identification des variants génétiques et l'exportation dans un format adapté aux analyses envisagées, selon des paramètres de filtrage (détection des sites variables – polymorphisme nucléotidique simple, SNP).

Les données obtenues correspondent à des séquences de 100 à 200 pb, sur lesquelles se trouvent un ou plusieurs SNPs.

## Analyse génétique

Plusieurs types d'analyses ont été effectuées sur différents jeux de données :

- (1) une analyse phylogénétique basée sur le maximum-de-vraisemblance, pour reconstruire les liens de parentés entre les échantillons (logiciel *IQ-TREE2* ; Minh et al., 2020) ;
- (2) des analyses en composantes principales (ACP ; package R *adegenet* ; Jombart, 2008) et de diversité (hétérozygotie observée  $H_o$  ; estimations natives *stacks*) pour visualiser et quantifier la variation génétique à différentes échelles phylogéographiques ;
- (3) des analyses plus poussées comparant l'ensemble des populations du sud de la France, au niveau individuel (ACP,  $H_o$ , clustering ; packages R *adegenet*, *LEA* et estimations natives *stacks* ; Jombart, 2008, Frichot & François, 2015) et au niveau populationnel (hétérozygoties observées  $H_o$  et attendue  $H_e$ , indice de fixation  $F_{is}$ , indice de différenciation  $F_{st}$ , tests de scénarii démographiques par ABC – Approximate Bayesian Computation ; package R *hierfstat* et logiciel *DIYABC-RF* ; Goudet 2005, Collin et al. 2021) ;
- (4) des analyses propres à chaque population méditerranéenne (ainsi qu'une population du nord de la France pour comparaison) pour tester leur équilibre génétique (indice  $F_{is}$  et tests de Hardy-Weinberg ; packages R *hierfstat*, *pegas* et *HardyWeinberg* ; Paradis, 2010, Graffelman, 2015).

- (5) une analyse évaluant la présence de gènes de *T. carnifex* (un invasive notoire s'hybridant avec *T. cristatus*) au sein des populations méditerranéennes (clustering en deux groupes ; LEA).

Le nombre de marqueurs génétiques informatifs et utilisables diffèrent selon les séries d'échantillons inclus, la profondeur de séquençage des échantillons, leur niveau de diversité intrinsèque et de divergence entre eux, le tout en fonction des paramètres bioinformatiques adaptés aux besoins de chaque analyse. Ainsi, les échantillons les moins bien séquencés n'auront que peu de données comparables avec le reste. De plus, au plus les échantillons d'une série sont divergents phylogénétiquement, au moins ils partageront de marqueurs RAD en commun, car une partie des motifs enzymatiques cibles ont muté depuis leur divergence initiale ; ainsi, les fragments obtenus ne sont pas homologues. A l'inverse, ces échantillons divergents présentent plus de variants informatifs (= mutations qui les différencient) sur le peu de marqueurs qu'ils partagent. Afin de prendre en compte ces phénomènes, il convient de travailler sur différents jeux de données optimisés en fonction de l'échelle et du type d'analyse envisagé.

Pour ce faire, un paramètre clé est le nombre d'échantillons pour lequel on autorise un marqueur à ne pas avoir été séquencé. Ici, ce nombre a été ajusté de façon à ne travailler qu'avec les marqueurs présents dans au moins 95 % des échantillons de chaque série. Ce choix conservateur permet de maintenir un faible taux global de données manquantes au détriment du nombre de marqueurs analysés, mais sachant que celui-ci est plus que suffisant pour des résultats robustes. Certaines analyses, qui sont particulièrement sensibles aux données manquantes, mais aussi au déséquilibre de liaison (= l'héritabilité conjointe de variants physiquement adjacents, et qui porte donc le même signal génétique), ont été réalisées sur des jeux de données complets (sans données manquantes), et n'incluant qu'un seul SNP par séquence RAD.

## Résultats

### Bilan des prélèvements issus de la campagne 2024

ID	Adulte	Subadulte	Total
Tri	23	0	23
Val	9	0	9
CMa	15	5	20
Ser1	10	3	13
Roc	5	0	5
Cha	0	0	0
<b>Total</b>	<b>62</b>	<b>8</b>	<b>70</b>

## Caractéristiques de l'assemblée

La librairie génomique obtenue contient 563,171,106 séquences, dont 88.5 % ont pu être correctement démultiplexées et répondaient aux critères qualité. Le nombre de séquences par échantillon est de 5.2 millions (M) en moyenne (0.007–8.1 M). L'assemblage de ces séquences a produit un catalogue de 1,384,866 marqueurs, avec une profondeur de séquençage moyenne par échantillon et par marqueur de 9× (4.9–12.7×).

Des analyses préliminaires révèlent que neufs échantillons partagent anormalement peu de marqueurs avec le reste (< 50 %, là où le reste partage en moyenne > 94 %). Huit de ces échantillons sont ceux ayant été le moins bien séquencés (< 0.2 M de séquences), ce qui suggère une faible qualité et quantité d'ADN de départ. Il s'agit de cinq écouvillons de la population Valliguières (V04–V07 et V10) et de trois échantillons français de la collection BEV (BEV.14919, BEV.15264, BEV.15266). Le neuvième échantillon (S4, Sérignan-du-Comtat) est plus surprenant, car le nombre de séquences obtenu est conséquent (3.4 M). La quasi-absence de marqueurs partagés (1 %) malgré un nombre important de marqueurs génotypés pour cet échantillon pourrait alors s'expliquer par le fait qu'il consiste (ou a été contaminé) par une autre espèce, très divergente (hors genre *Triturus*).

Ces échantillons ont été exclus des analyses sous-jacentes. En effet, les maintenir aurait eu pour conséquence de perdre des marqueurs informatifs au sein des séries d'échantillons analysées (effet « pommes pourries », Cerca et al., 2021), et sachant que les résultats auraient été difficilement interprétables pour ces échantillons vu leur taux élevé de données manquantes.

## Analyse phylogénétique

L'analyse phylogénétique inclut les 87 échantillons valides (84 *T. cristatus* et 3 *T. carnifex* pour enracinement) et se base sur un alignement de 860,801 pb contenant 12,620 SNPs, chacun génotypé chez au moins 83 échantillons. L'arbre obtenu est présenté en Fig. 23. Plusieurs enseignements peuvent être tirés :

(1) les positions basales des échantillons d'Europe centrale (en violet) suggèrent que ces populations sont les plus ancestrales de l'espèce pour notre échantillonnage, et les longues branches indiquent une forte diversification phylogénétique ;

(2) la divergence de l'échantillon anglais, et son affinité avec certaines populations de l'est, suggère une origine différente des populations continentales d'Europe occidentale ;

(3) les populations continentales d'Europe occidentale groupent ensemble et présentent bien moins de diversité phylogénétique, avec néanmoins un patron de structuration visible, notamment entre le Luxembourg, la Suisse, le nord, et le sud de la France ;

(4) les échantillons du sud de la France sont globalement réunis et ségrégent par localités, suggérant une origine commune mais une structuration génétique entre elles.

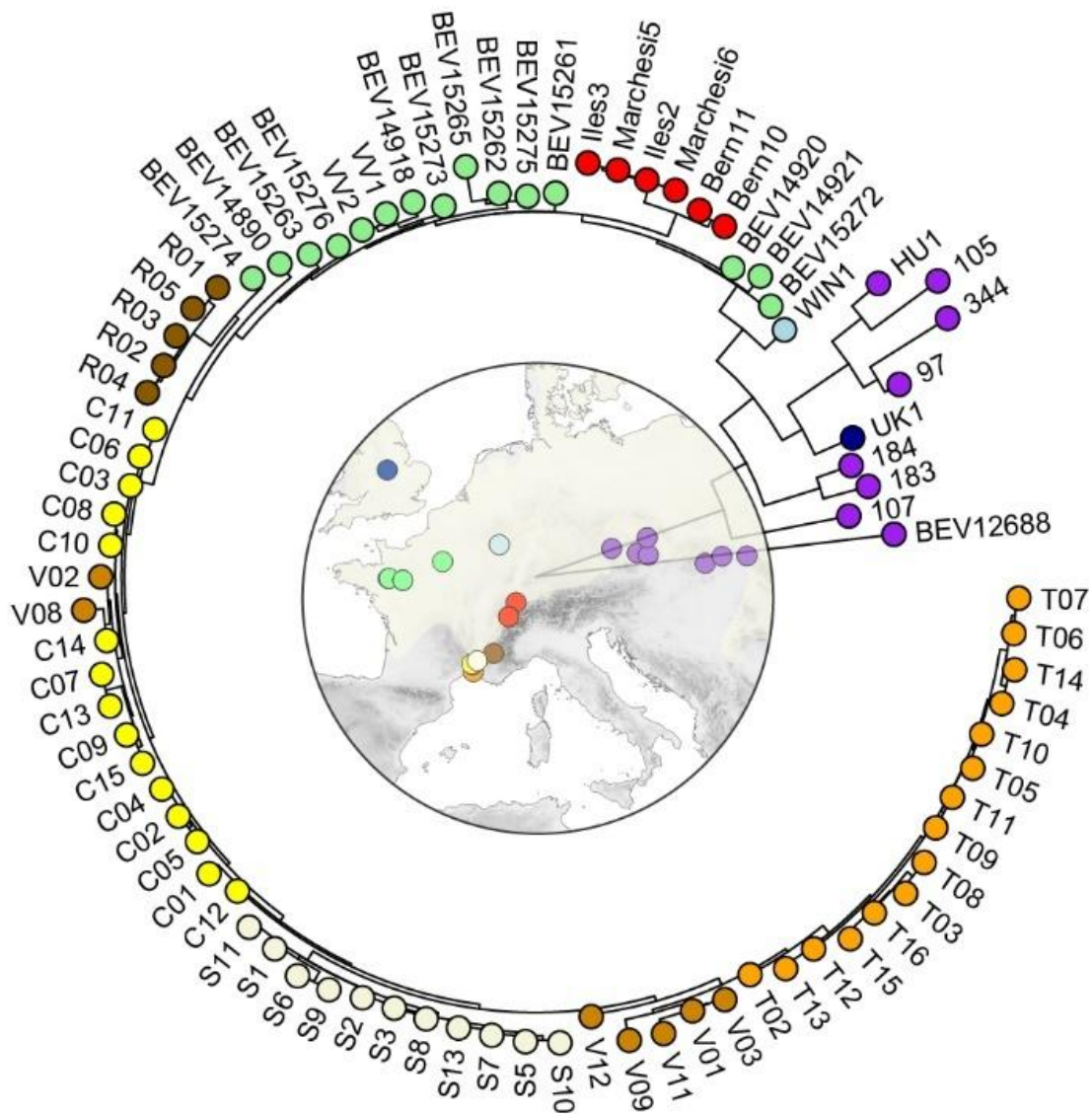


Figure 23 - Représentation circulaire de l'arbre phylogénétique obtenu par maximum-de-vraisemblance (IQ-TREE2) de 84 échantillons de *T. cristatus* enraciné par 3 échantillons de *T. carnifex* (non affichés). La diversification se lit de l'intérieur à l'extérieur du du graphe. Les branches terminales sont colorées par régions géographiques (violet : Europe de l'est ; bleu foncé : Angleterre ; cyan : Luxembourg ; rouge : Suisse ; vert : nord de la France) et pour le sud de la France, par localités (orange : Arles ; marron clair : Valliguières ; jaune : Capelle-et-Masmolène ; marron foncé : Roche-des-Arnauds ; beige : Sérignan-du-Comtat). La carte centrale indique l'origine géographique des échantillons (fond jaune clair : distribution de *T. cristatus* selon l'IUCN Red List)

## Variation génétique à plusieurs échelles phylogéographiques

Quatre échantillons supplémentaires présentant > 30 % de données manquantes dans l'analyse phylogénétique ont été omis des analyses suivantes afin de maximiser le nombre de marqueurs informatifs. Il s'agit de trois échantillons de Valliguières (V08, V09, V11) et d'un échantillon français de la collection BEV (BEV.14921).

**Echelle globale** – La première série d'analyse inclut les 80 échantillons restants de *T. cristatus*, sur la base de 2067 SNPs, chacun génotypé chez au moins 76 échantillons. L'ACP (Fig. 24, gauche) confirme la différenciation entre les populations d'Europe de l'Est (+ Angleterre) et de l'Ouest, et affiche quatre clusters au sein de ces dernières, correspondant au sud de la France, au nord de la France (+ Berne en Suisse), au Luxembourg, et aux échantillons suisses restant (Chablais vaudois). L'hétérozygotie individuelle moyenne des populations (Fig. 25) présente des valeurs comparables entre les populations méditerranéennes ( $H_o \sim 0.14$ ), celles du nord de la France ( $H_o \sim 0.14$ ), celle de Berne ( $H_o \sim 0.13$ ), et dans une moindre mesure, l'échantillon luxembourgeois ( $H_o = 0.18$ ). En comparaison, la population du Chablais vaudois est bien plus appauvrie ( $H_o \sim 0.04$ ). L'échantillon anglais ( $H_o = 0.28$ ), ainsi que les populations d'Europe de l'Est ( $H_o \sim 0.23$ ), présentent des taux pratiquement deux fois plus élevés que les populations françaises. Les erreurs standard faibles indiquent que les valeurs d'hétérozygotie individuelle sont relativement homogènes au sein de chaque population, et peuvent donc être interprétées pour tirer des conclusions à l'échelle de la population même lorsqu'elles sont calculées à partir de très peu d'échantillons.

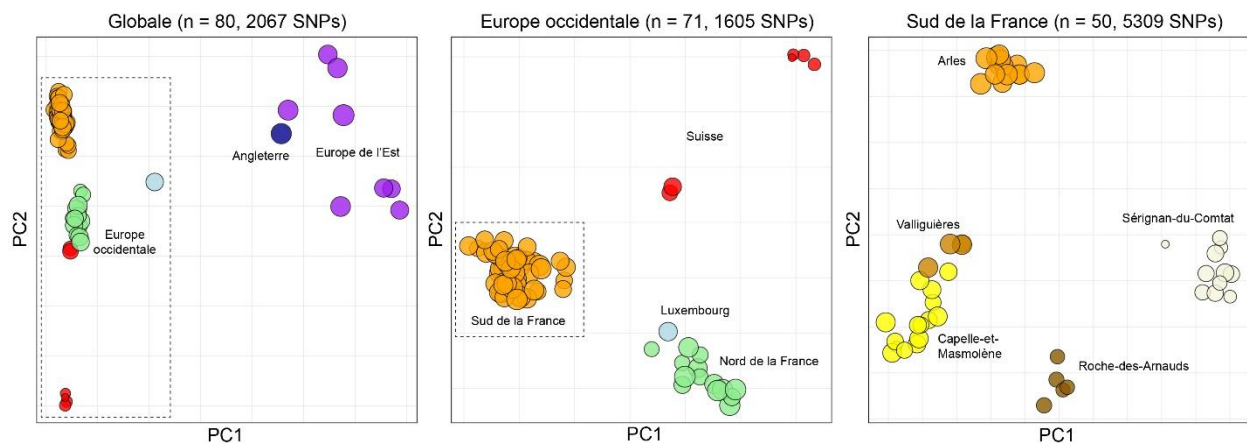


Figure 24 - ACP sur différentes séries d'échantillons représentant différentes échelles phylogéographiques. Chaque point correspond à un échantillon, coloré par son origine géographique, et dont la taille représente le niveau d'hétérozygotie observée relatif au sein de chaque jeu de données.

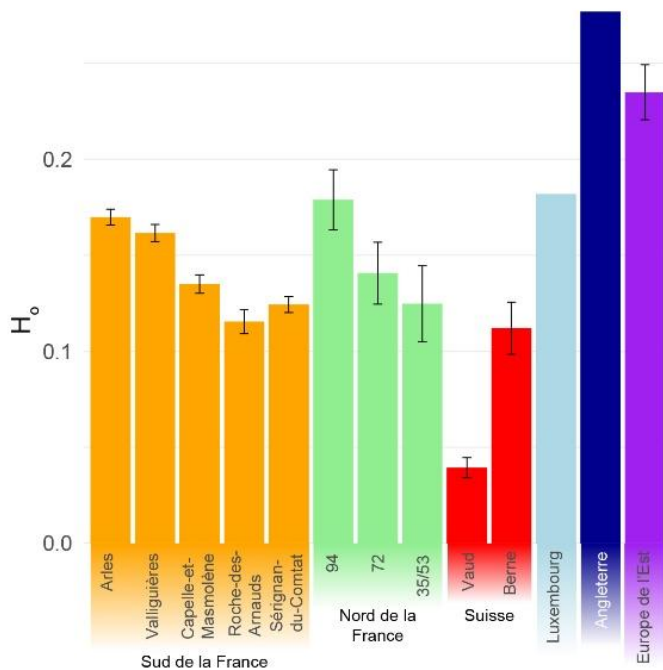


Figure 25 - Hétérozygotie observée moyenne (et erreur standard) au sein de toutes les populations étudiées sur la base des 2067 SNPs génotypés sur les échantillons correspondants ( $n = 80$ ). Les populations françaises non-méditerranéennes sont annotées par numéro de département.

**Echelle Europe occidentale** – La seconde série d’analyse inclut 71 échantillons de *T. cristatus* des populations françaises, suisses et luxembourgeoise, sur la base de 1605 SNPs, chacun génotypé chez au moins 67 échantillons. L’ACP (Fig. 24, centre) confirme deux groupes en Suisse, place l’échantillon luxembourgeois avec les échantillons du nord de la France, et regroupe tous les échantillons méditerranéens ensemble dans un cluster séparé.

**Echelle méditerranéenne** – La troisième série d’analyse inclut 50 échantillons de *T. cristatus* des populations du sud de la France, sur la base de 5309 SNPs, chacun génotypé chez au moins 47 échantillons. L’ACP (Fig. 24, droite) distingue quatre groupes génétiques, correspondant aux populations de (1) Arles ; (2) Valliguières/Capelle-et-Masmolène ; (3) Roche-des-Arnauds ; (4) Sérignan-du-Comtat. Les échantillons des deux dernières populations présentent des niveaux d’hétérozygotie comparativement plus faibles, comme déjà suggéré par le jeu de données globale (Fig. 25).

## Structure, diversité et démographie des populations méditerranéennes

Les analyses supplémentaires des populations méditerranéennes se basent sur 422 SNPs génotypés chez tous les 50 échantillons en question, et présumés indépendants (= issus de marqueurs RAD différents).

**Structure** – L'analyse de clustering individuel avec *LEA* suggèrent quatre groupes ( $K = 4$ ) comme la solution minimisant le plus la cross-entropie – la statistique utilisée pour décider du nombre de groupes « idéal » avec cette approche. Cette solution assigne les échantillons d'Arles, de Valligières/Capelle-et-Masmolène, de la Roche-des-Arnauds, et de Sérignan-du-Comtat à des groupes différents, sans probabilité intermédiaire, à une exception : un échantillon d'Arles (T04), qui présente une faible trace de partage génétique (6 %) avec le groupe Valligières/Capelle-et-Masmolène. L'ACP de ce jeu de données confirme la séparation des quatre groupes génétiques – préalablement suggérée par l'ACP précédente (Fig. 24 droite) – et la position subtilement intermédiaire de l'individu potentiellement métissé T04 (Fig. 26).

Au niveau populationnel, les indices de différenciation ( $F_{st}$ ) sont tous significatifs, confirmant la structure génétique, qui va de faible ( $F_{st} = 0.05$  entre Capelle-et-Masmolène et Valligières, les deux populations les plus proches géographiquement et assignées au même cluster *LEA*) à modéré ( $F_{st} = 0.16$ – $0.36$  entre les autres) (Fig. 26). Les trois populations rive droite du Rhône sont plus faiblement différenciées entre elles qu'avec les deux populations rive gauche. A noter que Roche-des-Arnauds (rive gauche) reste génétiquement plus proche de Valligières/Capelle-et-Masmolène (rive droite) que de Sérignan-du-Comtat (rive gauche), dont elle est géographiquement moins éloignée. Ce résultat est à mettre en parallèle avec le fait que Roche-des-Arnauds est issue d'une introduction depuis l'Ardèche (rive droite comme Valligières/Capelle-et-Masmolène).

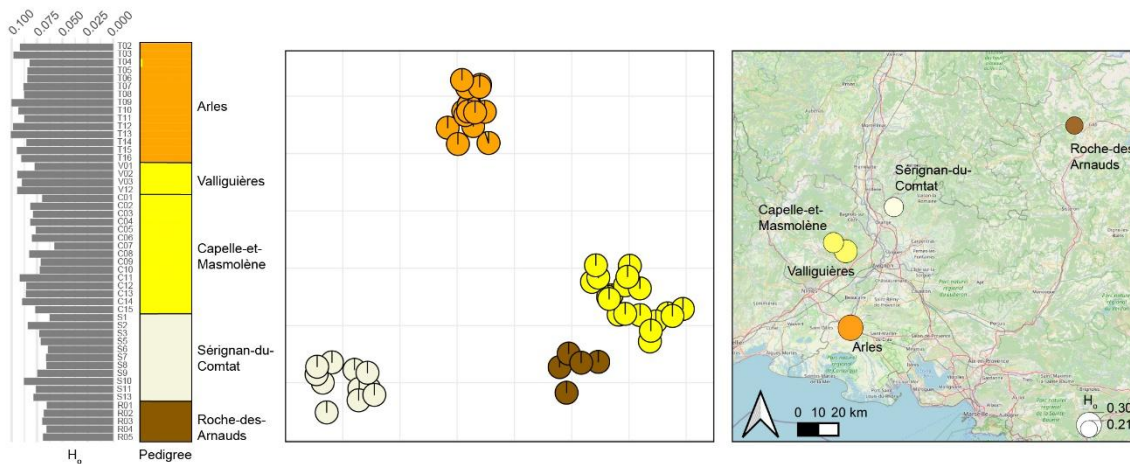


Figure 26 - Diversité et structure génétique de *T. cristatus* dans le sud de la France sur la base de 422 SNPs indépendants et génotypés chez les 50 échantillons. Pour ce jeu de données, sont présentées, de gauche à droite, les hétérozygoties observées individuelles de chaque échantillon, leurs assignations aux groupes génétiques inférés par *LEA*, leur variation génétique visualisée par ACP (symboles : assignations *LEA*), et leur origine géographique (taille des cercles proportionnels au  $H_o$  populationnel).

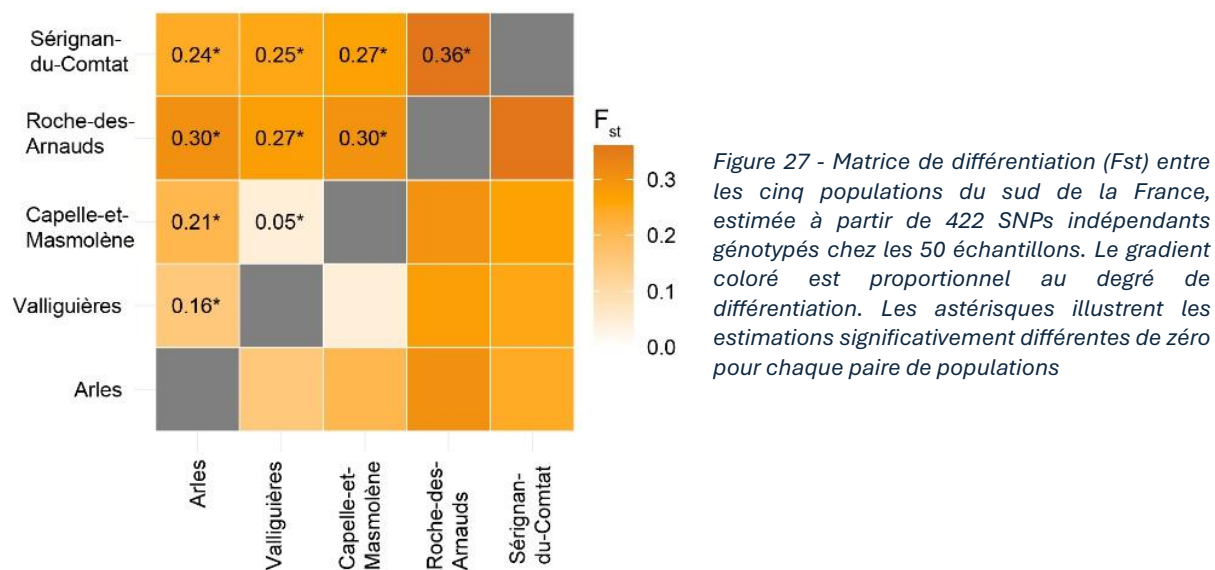


Figure 27 - Matrice de différentiation ( $F_{st}$ ) entre les cinq populations du sud de la France, estimée à partir de 422 SNPs indépendants génotypés chez les 50 échantillons. Le gradient coloré est proportionnel au degré de différentiation. Les astérisques illustrent les estimations significativement différentes de zéro pour chaque paire de populations

**Diversité** – Les hétérozygoties observées individuelles obtenues sur ce jeu de données sont reportées en Fig. 27 et en Annexe 1. Les indices d’hétérozygotie populationnelles confirment la diversité légèrement plus faible pour la population introduite de Roche-des-Arnauds et légèrement plus élevée pour la population d’Arles (Table 8). Les hétérozygoties attendues ( $H_e$ ) sont proches des hétérozygoties observées ( $H_o$ ), avec un léger excès d’hétérozygotes pour Arles ( $F_{is}$  négatif), et un léger déficit d’hétérozygotes pour Capelle-et-Masmolène et Sérignan-du-Comtat ( $F_{is}$  positif).

Tableau 8 - Hétérozygoties populationnelles observées ( $H_o$ ) et attendues ( $H_e$ ), et indices de fixation intra-population ( $F_{is}$ ), calculés à partir d’un seul jeu de données (422 SNPs génotypés chez tous les échantillons du sud de la France).

Localités	n	$H_o$	$H_e$	$F_{is}$
Arles	15	0.30	0.29	-0.03
Valliguières	4	0.27	0.28	-0.01
Capelle-et-Masmolène	15	0.24	0.25	0.04
Roche-des-Arnauds	5	0.21	0.21	0.01
Sérignan-du-Comtat	11	0.23	0.24	0.03

**Démographie** – L’analyse ABC modélise la diversification des cinq populations selon les schémas de coalescence présentés en Fig. 28. Le principe de la méthode est de simuler des données génétiques suivant chaque scénario, puis de comparer les données simulées aux données empiriques afin de déterminer quel scénario a produit les données les plus proches de la réalité. Six scénarios ont été testés, en deux groupes : l’un où les tailles de populations sont restées stable (A), et l’autre où elles ont récemment subi un goulot d’étranglement (B). Les trois scénarios de chaque groupe diffèrent par l’ordre

de diversification (topologie) : une diversification simultanée (1) ou des divergences consécutives depuis une population ancestrale, d'abord de Sérignan-du-Comtat, puis Roche-des-Arnauds et les populations rive gauche (2), ou d'abord de Roche-des-Arnauds, puis Sérignan-du-Comtat et les populations rive gauche (3). Les résultats indiquent que les simulations les plus proches de nos données empiriques sont plus souvent celles issues du scénario A1 (diversification simultanée et populations stables), mais avec un soutien marginal (30 %, probabilité postérieure  $P = 0.58$ ). De manière générale, les modèles simulant des populations « stables » sont favorisés (scénarii A ; 79 % /  $P = 0.77$  dans des analyses comparatives groupées). Pour la topologie, les scénarios modélisant des divergences simultanées ou consécutives ont une probabilité similaire, ces derniers étant légèrement favorisés (54 %,  $P = 0.64$ ). Dans le modèle préférentiel (A1), les tailles efficaces des populations sont estimées comme 2× plus petites pour la population introduite de Roche-des-Arnauds (spécimens provenant d'une population située en rive droite) et la population rive droite Sérignan-du-Comtat, comparé aux populations rive gauche (Fig. 28).

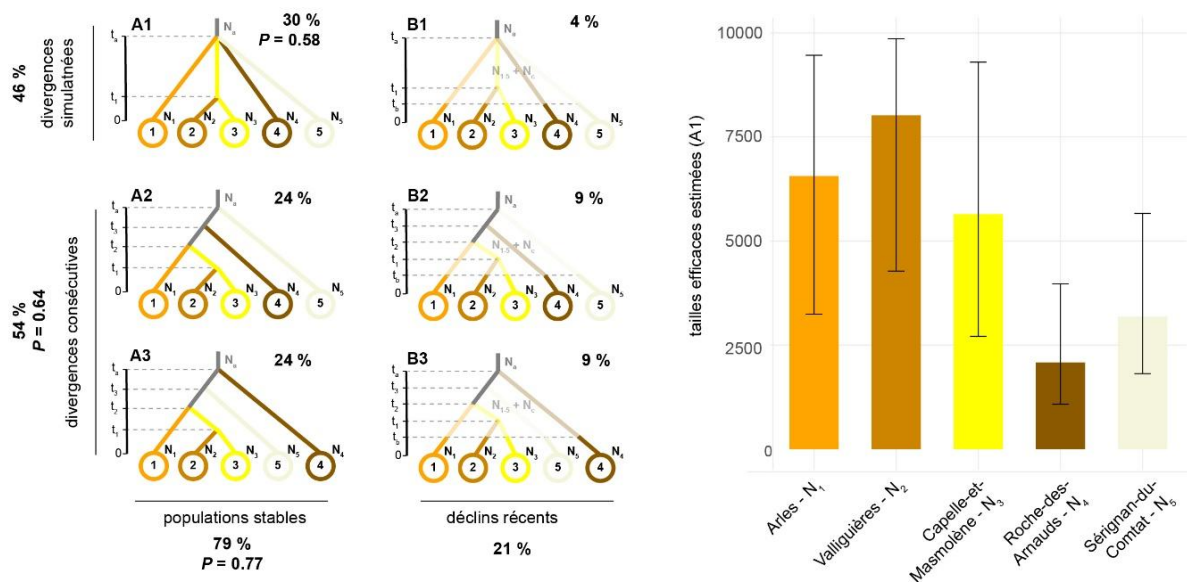


Figure 28 - Scénarii démographiques testés par ABC (gauche) et estimations des paramètres de tailles efficaces obtenues avec le modèle retenu (droite). Chaque population est caractérisée par un paramètre de taille efficace ( $N1-5$ ), qui reste constant (scénarii A), ou a récemment diminué (d'une quantité  $Nc$ ) au moment  $t_b$  (scénarii B), avec des évènements de coalescence simultanés au moment  $t_a$  (scénarii 1) ou consécutifs aux moments  $t_2-t_3-t_a$  (scénarii 2-3) depuis l'ancêtre commun (de taille  $N_a$ ) – sauf pour Valliguières, qui dérive de Capelle-et-Masmolène plus récemment (moment  $t_1$ ). Les % de simulations les plus proches des données observées ainsi que la probabilité postérieure  $P$  du modèle le plus proche sont indiqués pour chaque modèle, ainsi que pour les analyses comparatives groupées. Les estimations de  $N1-5$  (médianes et intervalles de confiance 90 %) sont relatives et restent des approximations génétiques des tailles efficaces historiques (depuis la coalescence), qui cumulent les effectifs de plusieurs générations chevauchantes.

## Equilibre génétique des populations

Afin d'évaluer l'équilibre génétique sur un maximum de marqueurs et de le tester statistiquement,  $H_o$ ,  $H_e$  et  $F_{is}$  ont été recalculés séparément pour chaque population méditerranéenne sur la base de SNPs indépendants (= différents marqueurs RAD) génotypés chez tous leurs échantillons respectifs. Pour augmenter la taille d'échantillonnage, les trois échantillons de Valliguières omis des analyses précédentes ont été réincorporés. Pour comparaison, ces indices ont également été calculés pour la population française extra-méditerranéenne de Chantenay-Villedieu (72) dont tous les échantillons provenaient de la même localité. Les résultats sont résumés en Table 9.

Mis à part Arles, les indices  $F_{is}$  suggèrent des taux d'hétérozygotes significativement plus faibles qu'attendus pour toutes les populations méditerranéennes, ainsi que pour Chantenay-Villedieu. Les tests d'Hardy-Weinberg, qui mesurent l'écart à la panmixie à chaque marqueur séparément, ne décèlent pas de déséquilibre global significatif, seule une petite portion (1–14%) des SNPs dévient significativement de l'équilibre – ces déséquilibres correspondent néanmoins systématiquement à un déficit (plutôt qu'à un excès) d'hétérozygotes (Fig. 29). Les deux résultats ne sont donc pas contradictoires – le  $F_{is}$ , mesuré sur l'ensemble des marqueurs, est sensible à des écarts entre hétérozygotie observées et attendues moyennes même faibles, là où le test de Hardy-Weinberg, calculé marqueur-par-marqueur, est plus conservatif car il nécessite un nombre conséquent de marqueurs en déséquilibre significatif (et d'un nombre conséquent d'échantillons pour qu'un déséquilibre soit jugé significatif) pour déterminer un effet global.

Les déficits d'hétérozygotie globaux sont donc modestes mais réels. Ce patron peut s'expliquer par le fait que des individus appariés se reproduisent occasionnellement entre eux, générant de la consanguinité (résultant souvent de la faible taille des populations), ou que les populations échantillonnées présentent de la sous-structure (par exemple, différentes mares au sein des sites, couplé à un comportement de philopatrie).

Tableau 9 - Hétérozygoties observées ( $H_o$ ) et attendues ( $H_e$ ), indice de fixation intra-population ( $F_{is}$ ), et % de marqueurs en déséquilibre d'Hardy-Weinberg, calculés sur des jeux de SNPs propres à chacune des populations du sud de la France, ainsi qu'à la population du nord de la France de Chantenay-Villedieu. Les  $F_{is}$  significativement différents de zéro (équilibre) sont indiqués en gras et avec astérisques. Les déséquilibres marqueur-par-marqueur penchent tous du côté d'un déficit d'hétérozygotes observés (Fig. 28).

Localités	Nbr	SNPs	$H_o$	$H_e$	$F_{is}$	HWE
Arles	15	3569	0.335	0.332	-0.008	2.77%
Valliguières	7	714	0.234	0.255	<b>0.059*</b>	13.90%
Capelle-et-Masmolène	15	1697	0.292	0.317	<b>0.073*</b>	5.80%
Roche-des-Arnauds	5	6381	0.264	0.299	<b>0.062*</b>	1.55%
Sérignan-du-Comtat	11	1137	0.342	0.365	<b>0.076*</b>	8.71%
Chantenay-Villedieu (72)	6	3127	0.217	0.257	<b>0.093*</b>	1.09%

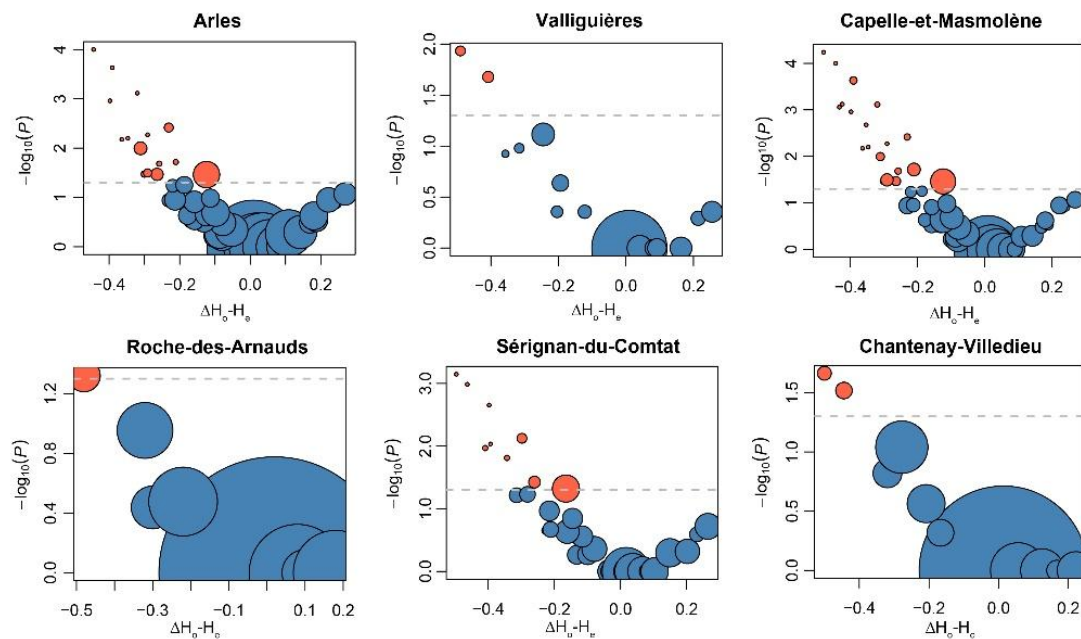


Figure 29 - Graphes dits « volcans », informatifs du sens des déséquilibres d'Hardy-Weinberg marqueur-par-marqueur pour les six populations testées. L'écart entre  $H_o$  et  $H_e$  (axe horizontal) est présenté en fonction du degré de significativité du test (axe vertical). Les marqueurs dont le déséquilibre est significatif ( $P < 0.05$ ) sont en rouge, les autres sont en bleus (taille des points proportionnelle aux nombres d'observations identiques = marqueurs avec les mêmes estimations). Tous les marqueurs en déséquilibre présentent un déficit d'hétérozygotes ( $\Delta H_o - H_e$  négatif), cohérent avec un signal de consanguinité, même si le nombre de marqueurs en déséquilibre reste trop faible pour que le déséquilibre soit significatif au niveau global.

## Traces génétiques de *T. carnifex*

L'analyse de clustering en deux groupes ( $K = 2$ ), réalisée sur 2482 SNPs génotypés sur les 50 échantillons méditerranéens de *T. cristatus* utilisés plus haut, et sur les 3 échantillons de *T. carnifex*, différencie parfaitement les deux pools génétiques, sans aucune assignation intermédiaire (Fig. 8). Ce résultat certifie l'absence d'allèles de *T. carnifex* au sein des échantillons de la zone d'étude.



Figure 30 - Clustering LEA des 50 *T. cristatus* de la zone d'étude (orange) et 3 *T. carnifex* italiens (gris) en deux groupes. Les deux espèces sont différenciées sans aucune assignation intermédiaire, indiquant l'absence de trace génétique de *T. carnifex* dans le sud de la France.

## Eléments de discussion

Les populations méditerranéennes isolées de *T. cristatus* sont apparentées aux populations continentales d'Europe occidentale (nord de la France, Suisse, Luxembourg), et comme ces dernières, elles présentent des degrés de diversité plus faibles que les populations d'Europe centrale. Ce résultat soutient l'hypothèse que les populations occidentales (vallée du Rhône compris) sont le fruit d'une colonisation post-glaciaire depuis un refuge d'Europe centrale, en accord avec la phylogéographie mitochondriale et les conditions climatiques historiques favorables à l'espèce (Wielstra et al., 2013). Le faible degré de diversité intrinsèque des populations post-glaciaires, empiriquement vérifié ici, peut être un accélérateur du déclin des populations, celles-ci étant moins résilientes aux changements environnementaux du fait de leur potentiel adaptatif moindre (Dufresnes & Perrin, 2015). D'ailleurs, de tous les échantillons analysés, ceux présentant la plus faible diversité proviennent du chablais vaudois dans les années 2000 (Dufresnes et al., 2016), et dont la population est désormais vraisemblablement éteinte.

Malgré leur origine récente et leur faible diversité, les analyses génomiques ont permis de déceler une structuration génétique nette au sein des populations méditerranéennes et avec les autres populations occidentales, qui reflète leur isolement géographique actuelle. L'hypothèse biogéographique la plus probable est donc que l'espèce aurait descendu la vallée du Rhône au cours de son expansion post-glaciaire, et que suite aux changements environnementaux de l'Holocène (et plus récemment les modifications du paysage au cours de l'Anthropocène), ces populations ont été morcelées en quelques reliques isolées. En plus de son rôle de corridor de colonisation, le Rhône, qui sépare les populations natives les plus différenciées génétiquement, a vraisemblablement aussi fait office de barrière historique. Les populations méditerranéennes consistent donc en la même lignée phylogéographique que le reste de la France, mais ont évolué des variants génétiques spécifiques suite à leur fragmentation. Au-delà de

sa valeur patrimoniale, cette diversité particulière contribue potentiellement à l'adaptation locale des populations et doit donc être préservée.

Que l'isolation géographique des populations méditerranéennes se traduit par une isolation génétique n'est pas surprenant au regard des dizaines de kilomètres qui séparent les groupes génétiques identifiés – ces distances étant bien supérieures à la capacité de dispersion de l'espèce. Ainsi, le signal de métissage chez un individu d'Arles peut soit résulter d'une introduction depuis Valliguières/Capelle-et-Masmolène, soit représenter du polymorphisme ancestral, c'est-à-dire des variants partagés entre ces populations à l'époque où elles étaient connectées, et qui n'aurait pas encore été éliminés (par dérive génétique) à Arles. Le fait que la population arlésienne présente une diversité supérieure aux autres et sans déséquilibre génétique notoire est compatible avec cette deuxième hypothèse – les effets de la dérive étant minimisés au plus les populations se rapprochent de la panmixie.

Les autres populations méditerranéennes présentent des déficits d'hétérozygotes consistant avec une légère consanguinité, une caractéristique typique des populations en limite d'aire, également vérifiée à Chantenay-Villedieu (située à la marge occidentale de l'espèce), et qui résulte souvent de leur petite taille. Ces faibles tailles efficaces sont vraisemblablement historiques, les déséquilibres génétiques restant modestes (et flagrant pour un nombre restreint de marqueurs génétiques) et la modélisation ABC ne soutenant pas l'hypothèse de goulots d'étranglement récents. Des effectifs insuffisants pour maintenir la panmixie étant un des initiateurs de vortex d'extinction, une attention particulière devra donc être portée sur ces populations. Pour le site de la Roche-des-Arnauds, les résultats génétiques sont en accord avec son origine introduite, à savoir, une diversité amoindrie qui se traduit par une taille efficace estimée plus petite (signe d'une origine récente à partir de quelques fondateurs), et une différenciation significative avec toutes les populations avoisinantes (signe d'un pedigree issu de populations non échantillonnées car hors zone d'étude, dans ce cas présent, en Ardèche).

Enfin, les populations méditerranéennes ne portent aucune trace de gènes de *T. carnifex*, une espèce invasive dont les introductions discrètes ont été avérées dans plusieurs régions d'Europe occidentale, y compris en France, où elle menace le pool génétique de *T. cristatus* (Dufresnes et al., 2016 ; Kouyoumdjian & Labadesse, 2025). Même si cette menace ne pèse pas sur la zone d'étude actuellement, toute nouvelle découverte de tritons crêtés dans des secteurs où ils n'étaient pas connus doit être considérée avec vigilance.

## Bibliographie

- Ambu J, Caballero-Díaz C, Sánchez-Montes G, Nicieza AG, Velo-Antón G, Hernandez A, Delmas C, Trochet A, Wielstra B, Crochet P-A, Martínez-Solano I, Dufresnes C. 2025. Genome-wide patterns of diversity in the European midwife toad complex: Phylogeographic and conservation prospects. *Conserv Genet* 26:361–379.
- Catchen J, Hohenlohe PA, Bassham S, Amores A, Cresko WA. 2013. Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Mol Ecol* 22(11):3124–3140.
- Cerca J, Maurstad MF, Rochette NC, Rivera-Colón AG, Rayamajhi N, Catchen JM, Struck TH. 2021. Removing the bad apples: A simple bioinformatic method to improve loci-recovery in de novo RADseq data for non-model organisms. *Methods Ecol Evol* 12(5):805–817.
- Collin F-D, Durif G, Raynal L, Gautier M, Vitalis R, Lombaert E., Marin J-M, Estoup A. 2021. Extending Approximate Bayesian Computation with Supervised Machine Learning to infer demographic history from genetic polymorphisms using DIYABC Random Forest. *Mol Ecol Resour* 21(8):2598–2613.
- Dufresnes C, Perrin N. 2015. Effect of biogeographic history on population vulnerability in European amphibians. *Conserv Biol* 29(4):1235-1241.
- Dufresnes C, Pellet J, Bettinelli-Riccardi S, Thiébaud J, Perrin N, Fumagalli L. 2016. Massive genetic introgression in threatened northern crested newts (*Triturus cristatus*) by an invasive congener (*T. carnifex*) in Western Switzerland. *Conserv Genet* 17(4):839–846.
- Dufresnes C, Jablonski D, Ambu J, Prasad VK, Bala Gautam K, Kamei RG, Mahony S, Hofmann S, Masroor R, Alard B, Crottini A, Edmonds D, Ohler A, Jiang J, Khatiwada JR, Gupta SK, Borzée A, Borkin LJ, Skorinov DV, Melnikov DA, Milto KD, Konstantinov EL, Künzel S, Suchan T, Arkhipov DV, Trofimets AV, Nguyen TV, Suwannapoom C, Litvinchuk SN, Poyarkov NA. 2025. Speciation and historical invasions of the Asian black-spined toad (*Duttaphrynus melanostictus*). *Nat Commun* 16(1):298.
- Frichot E, François O. 2015. LEA: An R package for landscape and ecological association studies. *Methods Ecol Evol* 6(8):925–929.
- Goudet J. 2005. HIERFSTAT, a package for R to compute and test hierarchical *F*-statistics. *Mol Ecol Notes* 5(1):184–186.
- Graffelman J 2015. Exploring diallelic genetic markers: the HardyWeinberg package. *J Stat Softw* 64(3):1–23.
- Hutter CR, Cobb KA, Portik DM, Travers SL, Wood PL Jr, Brown RM. 2022. FrogCap: a modular sequence capture probe-set for phylogenomics and population genetics for all frogs, assessed across multiple phylogenetic scales. *Mol Ecol Resour* 22(3):1100–1119.
- Jombart T. 2008. *Adegenet*: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24(11):1403–1405.
- Kouyoumdjian L, Labadesse, M. 2025. Stratégie nationale de gestion des amphibiens exotiques envahissants. Paris : Société herpétologique de France. 103 pp.

- Minh BQ, Schmidt HA, Chernomor O, Schrempf D, Woodhams MD, von Haeseler A, Lanfear R. 2020. IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Mol Biol Evol.* 37(5):1530–1534.
- Miralles A, Secondi J, Pabijan M, Babik W, Lemaire C, Crochet P-A. 2024. Inconsistent estimates of hybridization frequency in newts revealed by SNPs and microsatellites. *Conserv Genet* 25:215–225.
- Paradis E. 2010. Pegas: an R package for population genetics with an integrated–modular approach. *Bioinformatics* 26(3):419–420.
- Peterson BK, Weber JN, Kay EH, Fisher HS, Hoekstra HE. 2012. Double Digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS ONE* 7(5):37135.
- Sunde J, Yildirim Y, Tibblin P, Forsman A. 2020. Comparing the performance of microsatellites and RADseq in population genetic studies: analysis of data for pike (*Esox lucius*) and a synthesis of previous studies. *Front Genet* 11:218.
- Wielstra B, Crnobrnja-Isailović J, Litvinchuk SN, Reijnen BT, Skidmore AK, Sotiropoulos K, Toxopeus AG, Tzankov N, Vukov T, Arntzen JW. 2013. Tracing glacial refugia of *Triturus* newts based on mitochondrial DNA phylogeography and species distribution modeling. *Front Zool* 10(1):13.
- de Visser MC, France J, McCartney-Melstad E, Bucciarelli GM, Theodoropoulos A, Shaffer HB, Wielstra B. 2024. NewtCap: an efficient target capture approach to boost genomic studies in Salamandridae (True Salamanders and Newts). *bioRxiv* 2024.10.25.620290.



Volet 3 – **Translocation -  
élevage  
conservatoire des  
tritons « de grande  
taille » en Europe.  
Etat de l’art**

## Etat de l'art des pratiques associés aux programmes de translocation et élevages conservatoires

Les programmes d'élevage sont des actions conservatoires de plus en plus courantes, mais controversées (HARDING et al., 2016) en raison de leur succès relatif (FIESCHI-MERIC, 2022). Cette stratégie de conservation a pourtant contribué à la préservation d'un grand nombre de populations d'amphibiens à travers le monde (TAPLEY et al., 2015). Le succès limité de ces opérations reflète généralement les nombreuses difficultés rencontrées dans la réalisation des programmes de translocation (PAQUETTE-BOISCLAIR, 2019). L'objectif de la présente étude est donc d'analyser les pratiques mises en œuvre dans les programmes de translocation existants afin de justifier les choix méthodologiques et techniques pour la réalisation de ce projet. L'analyse consiste à identifier les facteurs de réussite ou d'échec des actions de conservation menées sur le Triton crêté en Europe et les recommandations disponibles dans la littérature scientifique.

<b>Programme de conservation</b>	Transfert d'individus d'un site condamné
<b>Pays</b>	Royaume-Uni
<b>Auteurs/Publications</b>	COOKE, A.S. 2001. Translocation of small numbers of crested newts ( <i>Triturus cristatus</i> ) to a relatively large site. <i>Herpetological Bulletin</i> . 75: 25-29.
<b>Contact</b>	...
<b>Bilan général de l'opération</b>	Succès (à partir de la huitième année)
<b>Contexte</b>	Un petit nombre d'individus de <i>T. cristatus</i> a été déplacé d'un site condamné dans le comté du Kent vers des étangs situés dans le comté du Cambridgeshire (Worlick Farm).
<b>Protocole standard de biosécurité lié au programme</b>	NC (étude vraisemblablement trop ancienne pour la mise en place d'un tel protocole)
<b>Stades de développement introduits et effectif</b>	- 38 tritons crêtés adultes déplacés
<b>Suivi post-relâcher</b>	- Comptage nocturne des individus pendant la saison de reproduction. - Relever des indices de reproduction (e.g. œufs, larve et juvéniles). - Suivi de l'évolution du milieu aquatique et des variables pouvant influencer les résultats du suivi (e.g. turbidité de l'eau, végétation, etc.).
<b>Durée du suivi</b>	Pas de durée fixée au départ, l'objectif était de poursuivre les investigations jusqu'à un constat clair de succès ou d'échec de l'opération. Le suivi aura duré 14 ans.
<b>Facteurs déterminants / limitants pour la réussite d'un tel programme</b>	Une durée de suivi post-relâcher insuffisante peut biaiser l'évaluation du programme. <i>L'auteur pensait que l'opération était un échec après 6 ans de suivi. Ce n'est qu'au terme de 8 années que les résultats ont permis de démontrer l'établissement d'une population fonctionnelle.</i>

<b>Programme de conservation</b>	Translocation dans le cadre d'un projet d'aménagement
<b>Pays</b>	Suède
<b>Auteurs/Publications</b>	GUSTAFSON, D.H., Blicharska, M. & Mikusinski, G. 2016. When development and amphibians meet : A case study of a translocation of great crested newts ( <i>Triturus cristatus</i> ) in Sweden. <i>Herpetological Conservation and Biology</i> . 11: 552-562.
<b>Contact</b>	<a href="mailto:daniel.gustafson@lansstyrelsen.se">daniel.gustafson@lansstyrelsen.se</a> (contacté en février 2024)
<b>Bilan général de l'opération</b>	Succès
<b>Contexte</b>	Sur l'ensemble du comté d'Örebro (8 546 km <sup>2</sup> ), <i>T. cristatus</i> est présent dans au moins 180 localités et il existe entre 40 et 120 populations reproductrices (estimation). La population du centre-sud de la ville d'Örebro se situe à l'origine dans une gravière abandonnée, qui a été en grande partie comblée (urbanisation). En 1989 et 1990, un premier transfert d'individus a eu lieu vers une zone favorable située à environ 10 km au nord-est (étang de 500 m <sup>2</sup> créé à Oset à la fin des années 1980). En 2007 et 2008, la municipalité d'Örebro a transféré les tritons vers Vattenparken situé également à environ 10 km au nord-est. Vattenparken est distant d'environ 900 m de l'étang d'Oset, mais les deux sites de réallocation sont séparés par une rivière (Svartån).
<b>Protocole standard de biosécurité lié au programme</b>	Aucun test de diagnostic a été réalisé.
<b>Stades de développement transférés et effectif</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 121 entre 1989 et 1990 (65 mâles adultes, 44 femelles adultes et 12 juvéniles).</li> <li>- 730 en 2007 (433 femelles adultes, 197 mâles adultes et 100 juvéniles).</li> <li>- 59 en 2008 (21 mâles adultes, 23 femelles adultes et 15 juvéniles).</li> </ul>
<b>Suivi post-relâcher</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Suivi du printemps à l'automne 2008 et au printemps 2009 sur le site de Vattenparken pour connaître le taux de survie et le taux de fixation des animaux relâchés.</li> <li>- Suivi des étangs alentours pour étudier la dispersion des individus transférés</li> <li>- Installation d'un crapaudrome d'avril à septembre 2008 et d'avril à juin 2009 pour étudier la migration (nécessite des contrôles quotidiens).</li> <li>- Les étangs à proximité du site de réallocation ont fait l'objet d'observation visuelle standardisée pendant 2 nuits en 2008 et 2 nuits en 2009. Méthode pas pertinente pour estimer la taille de la population, mais considérée comme fiable et rentable pour du présence / absence (voir KRÖPFLI et al. 2010). Méthode couplée à une recherche d'œufs et de larves en 2007, 2008 et 2009.</li> </ul>
<b>Durée du suivi</b>	Une enquête ponctuelle a été menée en 2013, soit 4 ans après le suivi. Aucun suivi post-relâcher régulier n'a été réalisé (Gustafson com. pers.).

Programme de conservation	Translocation dans le cadre d'un projet d'aménagement
<p><b>Facteurs déterminants / limitants pour la réussite d'un tel programme</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Un suivi à long terme est nécessaire pour déterminer si l'opération est un succès.</li> <li>- Le comportement des individus est un facteur important à prendre en considération. Les adultes relâchés ont tendance à retourner vers leurs sites d'origine. La cause la plus courante d'échec des projets de translocation d'amphibiens est liée à la capacité des individus relâchés à rejoindre systématiquement leurs milieux d'origine et la migration loin des sites de réallocation (GERMANO &amp; BISHOP, 2009).</li> <li>- L'évaluation de la qualité des sites de réallocation est d'une importance capitale dans le cadre d'un transfert d'individus. Au-delà des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques, la structure paysagère doit également être considérée. L'interconnexion des habitats terrestres et aquatiques est indispensable.</li> </ul>
<p><b>Recommandations de Daniel GUSTAFSON pour augmenter le succès des programmes de translocation</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Il est possible d'ériger des clôtures autour du(des) site(s) de réallocation pour forcer les adultes à rester et à se reproduire dans les plans d'eau au moins pendant la première année. <i>Stratégie similaire à une phase d'acclimatation en condition semi-naturelles</i></li> </ul>

<b>Programme de conservation</b>	Colonisation assistée via un transfert d'œufs
<b>Pays</b>	Royaume-Uni
<b>Auteurs/Publications</b>	HAYCOCK, G.B. 2016. Translocation of great crested newt <i>Triturus cristatus</i> eggs for conservation purposes in Ilkley, West Yorkshire, UK. <i>Conservation Evidence</i> . 13: 2.7-32.
<b>Contact</b>	<a href="mailto:enquiries@haycockandjay.co.uk">enquiries@haycockandjay.co.uk</a> (contacté en mars 2024)
<b>Bilan général de l'opération</b>	Succès
<b>Contexte</b>	Au Royaume-Uni, le Triton crêté est considéré comme une espèce d'importance majeure. De ce fait, les plans non officiels de conservation qui lui sont dédiés peuvent inclure des tentatives de colonisation assistée. Dans ce contexte, l'introduction de tritons crêtés a été tentée au Nell Bank Environment Centre à Ilkley (West Yorkshire) afin de soutenir les efforts de conservation menés à l'échelle du territoire nationale. Le site source se situe à 24,5 km du site de réallocation.
<b>Référentiel pris en compte dans le cadre du programme</b>	IUCN/SSC, 2013. <i>Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations</i> . Version 1.0. IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland.
<b>Protocole standard de biosécurité lié au programme</b>	- La population source/donneuse a été testé uniquement pour Bd → Résultats négatifs.
<b>Stades de développement introduits et effectif</b>	- 600 œufs prélevés grâce à la technique de collecte passive sur bandelettes en plastique ont été introduits dans un étang receveur chaque année pendant 3 ans (2009-2011). L'impact de ce transfert sur la population source a été jugé négligeable puisque 600 œufs représentent le potentiel de ponte annuel de 2 ou 3 femelles matures (GRIFFITHS, 2002).
<b>Suivi post-relâcher</b>	4 ans de suivi est un minimum, mais l'auteur préconise des suivis plus long. Actuellement, ils suivent la population tous les 2 ans (la population continue de prospérer)
<b>Facteurs déterminants / limitants pour la réussite d'un tel programme</b>	- Les stratégies de relâcher (e.g. choix du stade à relâcher) peuvent entraîner des conséquences sur la réussite du programme (succès ou échec). - L'introduction d'œufs permet d'augmenter les chances de succès d'un tel programme. L'introduction d'adultes est considérée comme plus délicate. - Nécessité de trouver un nombre suffisant de mares favorables à l'espèce qui ne soient pas déjà occupées. Il faut travailler à l'échelle du paysage, en introduisant de manière stratégique pour permettre une colonisation naturelle.
<b>Recommandations / choix stratégique de l'auteur</b>	- Lorsque la perte d'œufs et de juvéniles est régulière en raison d'événements stochastiques (e.g. assèchement prématuré des mares ; stochasticité environnementale) dans une population source, l'utilisation d'œufs peut être envisagé pour minimiser l'impact sur la population. - Il est nécessaire de récupérer beaucoup d'œufs chaque année sur au moins 2 sites « donneurs » si possible (brassage génétique). Le transfert doit se faire sans délai entre la capture et le relâcher.

<b>Programme de conservation</b>	Colonisation assistée via un transfert d'œufs
<b>Programme de conservation</b>	Programme de réintroduction et renforcement via l'élevage conservatoire
<b>Pays</b>	Allemagne
<b>Auteurs/Publications</b>	KINNE, O. Successful re-introduction of the newts <i>Triturus cristatus</i> and <i>T. vulgaris</i> . <i>Endangered Species Research</i> . 1: 25-40. (voir également KINNE, O., KUNERT, J. & ZIMMERMANN, W. 2004. Land and equipment. <i>Endangered Species Research</i> . 1: 7-9).
<b>Contact</b>	Premier auteur décédé en mars 2015.
<b>Bilan général de l'opération</b>	Succès
<b>Contexte</b>	Afin de participer aux efforts de conservation qui profitent à <i>T. cristatus</i> , Kinne a mis fin aux activités agricoles, créé une zone favorable à l'espèce (14 étangs + sites d'hivernage) et réduit la pression de prédation dans une petite partie de la vallée de la Luhe (Allemagne du Nord), localité autrefois colonisée par le Triton crêté. Pendant 3 ans, l'auteur a mené un programme de réintroduction en relâchant des adultes piégés dans un puit situé dans un jardin privé. Il a soutenu leur capacité de reproduction par la libération de larves/juveniles issues de captivité pendant 10 ans.
<b>Modalité d'élevage ex-situ</b>	L'élevage ex-situ a nécessité la combinaison de deux environnements différents (extérieur et intérieur) : - Des tiges de <i>Veronica beccabunga</i> sont plantées dans des pots en plastique puis placés dans l'enclos extérieur pour permettre aux femelles d'y déposer leurs œufs. - Après la ponte, les pots sont transférés dans un aquarium de 100 l en conditions contrôlées de laboratoire.
<b>Nombre d'adultes reproducteurs maintenu en captivité lors du programme</b>	- 24 adultes reproducteurs ont été prélevés chaque année pendant 3 ans.
<b>Protocole standard de biosécurité lié au programme</b>	NC (étude vraisemblablement trop ancienne pour la mise en place d'un tel protocole)
<b>Stades de développement relâchés et effectif</b>	- En plus des 24 spécimens prélevés, 5 à 10 adultes supplémentaires sont relâchés chaque année pendant 3 ans dans l'un des 14 étangs créés et dans un enclos extérieur dédié à l'élevage. - 60 individus (larves et juvéniles) relâchés par an pendant 10 ans dans l'un des 14 étangs créés et dans un enclos extérieur dédié à l'élevage.
<b>Suivi post-relâcher</b>	Les relâchés concernent uniquement 2 plans d'eau. - Suivi du complexe de mares nouvellement créées (présence / absence et densité) - Suivi de la migration des individus grâce à la mise en place de crapaudrome
<b>Durée du suivi</b>	Le programme de réintroduction a débuté en 1994 et s'est poursuivi jusqu'en 2002-2004. Le suivi a donc durée de 8 à 10 ans: - <i>Aucun résultat positif après 2 ans de suivi.</i> - <i>Les premiers signes de succès de l'opération sont visibles au bout de 3 ans de suivi.</i>

Programme de conservation	Colonisation assistée via un transfert d'œufs
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Les premiers indices de colonisation ont été enregistrés au cours de la 4<sup>ème</sup> année.</i></li> <li>- <i>Le Triton crêté se reproduit dans 8 étangs sur 14 après 5 ans de suivi.</i></li> <li>- <i>Après 8 ans de suivi, les tritons colonisent des sites distants de 4 km par rapport à la zone concernée par le programme.</i></li> </ul>
<b>Facteurs déterminants / limitants pour la réussite d'un tel programme</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La reproduction en aquarium (intérieur) semble être moins efficace qu'en conditions semi-naturelles (extérieur). L'auteur émet l'hypothèse selon laquelle le manque d'exposition au soleil et une alimentation peu diversifiée peuvent être à l'origine d'une baisse de performance.</li> <li>- La maîtrise foncière est un facteur déterminant dans la réussite d'un tel programme.</li> <li>- L'introduction de larves et/ou de juvéniles augmentent la fidélité des individus au site de relâcher. Les adultes ont tendance à migrer vers leurs sites d'origine.</li> <li>- Le relâcher de larves et/ou de juvéniles sur plusieurs années semble être indispensable pour soutenir l'effort de réintroduction.</li> </ul>

<b>Programme de conservation</b>	Transfert d'individus dans le cadre d'un aménagement
<b>Pays</b>	Royaume-Uni (Ecosse)
<b>Auteurs/Publications</b>	MCNEILL, D.C. 2010. Translocation of a population of great crested newts ( <i>Triturus cristatus</i> ): a Scottish case study. PhD Thesis. Department of Ecology & Evolutionary Biology, Faculty of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow.
<b>Contacts</b>	<a href="mailto:deborah.mcneill@sams.ac.uk">deborah.mcneill@sams.ac.uk</a>
<b>Bilan général des opérations</b>	Incertain au moment de l'écriture de la thèse
<b>Contexte</b>	<p>Au Royaume-Uni, la translocation est une stratégie de plus en plus utilisée pour concilier conservation du Triton crêté et aménagement du territoire. Pour permettre le réaménagement du site industriel de Gartcosh (Ecosse), il a été décidé de transférer la population résidente de tritons vers un site créé spécifiquement (Réserve naturelle de Gartcosh). Les principaux objectifs de la thèse sont les suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Evaluer la qualité des habitats sur le site de réallocation ;</li> <li>- Déterminer si la population s'est établie avec succès à un niveau comparable à celle du site industriel ;</li> <li>- Identifier les indicateurs et les critères de réussite pour ce type de programmes.</li> </ul>
<b>Protocole standard de biosécurité lié au programme</b>	Aucun test de diagnostic n'a été réalisé en amont des opérations de relâcher, mais prise de conscience de la problématique pour ce type de programme.
<b>Stades de développement déplacés et effectif</b>	<p>Le déplacement des individus s'est déroulé sur 3 ans et a débuté en 2004 :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 260 en 2004 (29 femelles, 27 mâles, 135 subadultes et 69 juvéniles) → site RJ.</li> <li>- 803 en 2005 (357 mâles, 299 femelles, 82 subadultes et 65 juvéniles) → site BB.</li> <li>- 531 en 2006 (145 mâles, 155 femelles, 115 subadultes et 116 juvéniles) → site GH.</li> </ul> <p>En 3 ans, 1594 tritons crêtés ont été introduits sur la réserve (529 mâles, 483 femelles, 332 subadultes et 250 juvéniles), répartis sur 3 sites différents.</p>
<b>Suivi post-relâcher</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Approche CMR utilisée pour évaluer le succès à long terme du programme de translocation.</li> <li>- Estimation de la taille de la population et taux de survie après 3 ans : 5 sessions de capture sur chaque étang et chaque site, réparties sur la saison de reproduction (mars à mai) de 2007 à 2009. Quatre années d'échantillonnage, la première capture ayant eu lieu lors de la translocation en 2006 (année N).</li> <li>- Taux de fixation au site : l'utilisation des étangs dans les 3 sites de la réserve a été étudiée en analysant les données obtenues par CMR (2007-2009).</li> <li>- Taux de recrutement/immigration : tout nouvel individu (subadultes ou adultes), qui n'a pas été référencé lors de la translocation, s'est développé sur le site (aucun triton n'a été observé sur la réserve avant les opérations de relâcher et aucune immigration n'est connue). L'individu peut être issu d'un transfert d'œufs, de larves, de juvéniles ou être à l'origine d'une reproduction sur le site réallocation.</li> </ul>

<b>Programme de conservation</b>	Transfert d'individus dans le cadre d'un aménagement
<b>Durée du suivi</b>	- 3 ans
<b>Facteurs déterminants / limitants et/ou recommandations pour la réussite des programmes de conservation</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La planification stratégique est souvent négligée, mais elle est essentielle au succès d'un tel programme.</li> <li>- Pour survivre à long terme en situation d'isolement, la population relâchée doit être composée d'environ 100 adultes (ou 40 femelles). Des populations plus petites peuvent persister s'il existe des échanges avec celle-ci (flux migratoire).</li> <li>- Environ 70% des adultes quittent le(s) site(s) de réallocation après relâcher pour tenter de rejoindre leurs habitats d'origine. Le relâcher d'œufs ou de larves peut augmenter le succès de l'opération de translocation.</li> <li>- Le relâcher d'adultes peut nécessiter la pose de clôtures autour de l'étang pour les empêcher de quitter le site.</li> <li>- Le stress chronique peut contribuer indirectement à l'échec du programme : augmentation de la mortalité, prédisposition des individus aux maladies ou diminution de la performance de reproduction → Réduire le temps de manipulation pendant le transport et la capture.</li> <li>- La durée minimum de suivi post-relâcher doit être de 6 ans (2 générations), voire 10 ans si possible.</li> <li>- Si le site de réallocation héberge déjà une population de tritons crêtés, il est nécessaire de pouvoir différencier les individus relâchés pour évaluer le taux de survie de la population introduite.</li> <li>- La méthode CMR doit être utilisée pour estimer la taille de la population, le taux de survie et surtout le taux de recrutement/immigration dans une population.</li> <li>- Un suivi post-relâcher de tous les stades biologiques est recommandée. <i>Par exemple, l'abondance relative des adultes et des larves permet d'évaluer les fluctuations de la population et du rendement reproducteur.</i></li> <li>- Un suivi permanent de la qualité des habitats sont indispensables pour savoir si les modalités de gestion sont adaptées à l'espèce ciblée.</li> <li>- L'habitat favorable doit s'étendre sur au moins 100 m autour du plan d'eau, voire jusqu'à 500 m. L'interconnexion des habitats (aquatiques et terrestres) est nécessaire à la survie de l'espèce.</li> </ul>

<b>Programme de conservation</b>	Réintroduction/Colonisation assistée du Triton crêté en carrière
<b>Pays</b>	Belgique
<b>Auteurs/Publications</b>	TAYMANS, J., GAUQUIE, B., HAUTECLAIR, P., KINET, T., DE NEVE, V. & SELECK, M. 2021. Translocation d'amphibiens ( <i>Triturus cristatus</i> , <i>Epidalea calamita</i> et <i>Bombina variegata</i> ) dans le cadre du LIFE in Quarries. Bruxelles, 27/10/2021.
<b>Contacts</b>	<a href="mailto:julien.taymans@natagora.be">julien.taymans@natagora.be</a> ; <a href="mailto:bgauquie@pnpe.be">bgauquie@pnpe.be</a> (contacté en mars 2024)
<b>Contexte</b>	L'objectif du projet LIFE in Quarries est de développer des méthodes permettant d'optimiser le potentiel d'accueil de la biodiversité des sites d'extraction en activité en Belgique. L'isolement géographique des carrières peut être un facteur limitant dans la recolonisation de la petite faune caractéristique des milieux pionniers. Afin de profiter du potentiel d'accueil pour des populations importantes de tritons crêtés et de crapauds calamites, l'objectif du projet est de réintroduire 4 populations de chaque espèce dans des sites carriers potentiels.
<b>Protocole standard de biosécurité lié au programme</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Analyse de la présence éventuelle de pathogènes avant les opérations de relâcher.</li> <li>- Frottis de 30 œufs/site (écouvillon)</li> <li>- Analyse PCR par l'Université de Gand (Frank Pasmans) des pathogènes (Bd, Bsal et Ranavirus) → Résultats négatifs</li> </ul>
<b>Stades de développement transférés et effectif</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les transferts d'œufs se sont déroulés entre 2019 et 2021</li> <li>- 1 à 4 sessions de transfert par an</li> </ul> <p>Œufs transférés par site de réallocation :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Objectif initial : 2000 œufs</li> <li>- Résultats : entre 2471 et 13188 (total de 24754 œufs)</li> </ul>
<b>Suivi post-relâcher</b>	<p>Suivi des mares de réallocation avec pose de nasses :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- En 2019 et 2020 : 1 à 2 sessions d'une nuit (+/- 8 semaines après transfert)</li> <li>- En 2021 : 2 sessions de 2 nuits (6 et 8 semaines après transfert)</li> </ul> <p>Résultats (tous sites confondus) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 97 larves et 3 (sub-)adultes en 2021</li> </ul>
<b>Durée du suivi</b>	Aucune réponse
<b>Facteurs déterminants / limitants et/ou recommandations pour la réussite d'un tel programme</b>	Aucune réponse

<b>Programme de conservation</b>	Renforcement de population via l'élevage conservatoire
<b>Pays</b>	Belgique
<b>Auteurs/Publications</b>	VAN DOORN, L., AUWERX, J., COX, K., MERGEAY, J., PICAUVET, B., VAN EENAEME, D. & SPEYBROECK, J. 2022. At the forefront of conservation : integrating science and amphibian reintroductions in Flanders, Belgium. Contribution to conference, 21st European Congress of Herpetology, 07/09/2022.
<b>Contacts</b>	<a href="mailto:loic.vandoorn@inbo.be">loic.vandoorn@inbo.be</a> (contacté en février 2024 via Researchgate)
<b>Bilan général de l'opération</b>	Succès
<b>Contexte</b>	Dans les Flandres belges, la création de vastes zones inondables a permis de résoudre les problèmes d'inondation de l'estuaire de l'Escaut. L'une de ces zones a été créée sur un secteur colonisé par <i>T. cristatus</i> . Les marées (eaux salées) auraient provoqué l'extirpation rapide de la population sans aménagement préalable. L'état de la population a également motivé son renforcement via l'élevage conservatoire (mesure préventive).
<b>Modalité d'élevage ex-situ</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les tritons crêtés ont été maintenus en mésocosme (grandes bassines) à l'extérieur.</li> <li>- Les animaux hibernent en aquaterrarium / terrarium en conditions contrôlés et sont transférés à l'extérieur pendant la saison de reproduction.</li> <li>- Les œufs sont prélevés tous les jours dans les bassines extérieures.</li> </ul>
<b>Nombre d'adultes reproducteurs maintenu en captivité lors du programme</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Le nombre d'adultes maintenu en captivité varie, mais en moyenne 20 individus.</li> </ul>
<b>Protocole standard de biosécurité lié au programme</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les larves ont été testés pour Bd, Bsal et Ranavirus juste avant d'être relâchées.</li> <li>- Au moins 30 larves échantillonnées par écouvillon (sous-ensemble représentatif).</li> </ul>
<b>Stades de développement relâchés et effectif</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les grandes larves (stade avancé) constituent le principal stade biologique relâché.</li> <li>- Le nombre de juvéniles relâché pendant 4 ans est limité.</li> <li>- Les adultes ont été relâchés seulement la dernière année du programme (2019).</li> <li>- 3205 individus relâchés en 4 ans de 2016 à 2019 (inclus larves, juvéniles et adultes).</li> </ul>
<b>Suivi post-relâcher</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Le suivi est réalisé par des bénévoles (piégeage et dénombrement) et par des professionnels (CMR, épuisette pour les larves et ADNe).</li> <li>- La méthode CMR est effectuée avec des verveux sur 15 jours consécutif et l'ADNe une seule fois pendant la saison de reproduction. <i>Les résultats de l'ADNe montrent la présence d'individus dans les mares/étangs non intégrés dans le suivi (faible représentativité dans ces points d'eau).</i></li> <li>- Recherche d'indice de reproduction (e.g. larves) et suivi de l'hydropériode à différents moments de l'année.</li> </ul>

<b>Programme de conservation</b>	Renforcement de population via l'élevage conservatoire
<b>Durée du suivi</b>	- L'objectif est de suivre l'évolution d'une génération après la dernière opération de relâcher, ce qui correspond à un suivi d'environ 8 ans pour <i>T. cristatus</i> à compter de la dernière année de relâcher.
<b>Bilan de l'opération en 2024</b>	- Pas d'élevage de <i>T. cristatus</i> actuellement dans le cadre du programme, mais les acteurs concernés envisagent de renouveler l'opération prochainement. - L'élevage conservatoire est une méthode éprouvée pour cette espèce et permet la production de suffisamment d'individus.
<b>Facteurs déterminants / limitants pour la réussite d'un tel programme</b>	- L'élevage en captivité doit s'appuyer sur des protocoles adaptés. - Difficultés pour mettre les individus en condition optimale pour la reproduction en captivité. - Les individus doivent pouvoir hiverner dans de bonnes conditions et recevoir une nourriture diversifiée et adéquate. - L'état corporel avant l'hivernation est primordial. - Les sites de réallocation nouvellement créés doivent être adaptés à l'espèce avant les opérations de relâchés (e.g. milieux aquatiques suffisamment profonds, zones d'hivernation à proximité, etc.) → Le temps de résilience du nouveau milieu doit être pris en considération avant les opérations de relâcher. - Un suivi démographique est indispensable. Un échec observé à court terme peut permettre de redéfinir les modalités de gestion et/ou d'optimisation de l'habitat d'espèce pour garantir le succès du programme à long terme.
<b>Recommandations de Loïc Van Doorn pour la mise en place d'un programme d'élevage conservatoire dédié à <i>T. cristatus</i></b>	Il est important de tout maîtriser / planifier avant de commencer un élevage conservatoire, car ce sont des programmes qui nécessitent un important d'investissement (humain et financier) : - Les prérequis élémentaires doivent être réunis ( <i>dans notre cas, certificat de capacité, AOE et autorisation de transport de type 1</i> ). - La maîtrise foncière doit être assurée sur les sites de réallocation. - Le financement du programme doit être assuré à long terme. - Les habitats nouvellement créés doivent être favorables à l'espèce. - etc.

## Synthèse des informations récurrentes et/ou consensus scientifiques sur les programmes de conservation dédiés aux amphibiens et plus particulièrement au Triton crêté

Etape du programme	Facteurs déterminants/limitants	Références
<b>Phase préparatoire</b>	Les sites de réallocation (habitats naturels ou créés) doivent être fonctionnels pour l'espèce ciblée avant les opérations de relâcher. <i>Le temps de résilience d'un habitat nouvellement créé doit être pris en considération.</i>	GUSTAFSON et al., 2016 VAN DOORN et al., 2022
	L'interconnexion des habitats (aquatiques et terrestres) sur le(s) site(s) de réallocation est indispensable pour assurer la survie des individus relâchés à long terme.	MCNEILL, 2010 GUSTAFSON et al., 2016.
	La maîtrise foncière à long terme des sites de réallocation revêt une importance majeure dans la réussite d'un programme de conservation.	KINNE, 2004 VAN DOORN, 2022
	Mise en place d'un protocole standard de biosécurité pour éviter la dissémination des maladies émergentes (Bd, Bsal et ranavirus) lors des programmes de conservation.	HAYCOCK, 2016 TAYMANS et al., 2021 VAN DOORN et al., 2022
	La planification stratégique est essentielle au succès d'un programme de conservation. Elle ne doit pas être négligée.	EDGAR et al., 2005 MCNEILL, 2010 VAN DOORN et al., 2022
<b>Phase d'élevage</b>	Il peut être difficile de conditionner les adultes pour la reproduction en captivité.	MARQUIS, com. pers. KOUBA et al., 2009 VAN DOORN et al., 2022
<b>Phase de relâcher</b>	Les adultes de <i>T. cristatus</i> sont philopatrides c'est-à-dire qu'ils ont tendance à rejoindre leurs habitats d'origine (env. 70% des individus) et migrer loin des sites de réallocation. La réintroduction d'adultes semble donc plus délicate. <i>(Cause d'échec des programmes de translocation chez les amphibiens ; voir GERMANO &amp; BISHOP, 2009)</i>	OLDHAM & HUMPHRIES, 2000 KINNE, 2004 EDGAR et al., 2005 MCNEILL, 2010 LEWIS, 2012 GUSTAFSON et al., 2016 HAYCOCK, 2016 HEDENBERG, 2022
	Le relâcher d'œufs, larves ou juvéniles augmentent la fidélité aux sites de réallocation et donc, par conséquent, le succès des programmes de translocation.	KINNE, 2004 MCNEILL, 2010 HAYCOCK, 2016 TAYMANS et al., 2021
	La pose de clôtures autour des plans d'eau peut s'avérer nécessaire pour empêcher les tritons adultes de quitter le(s) site(s) de réallocation. <i>(correspond à une phase d'acclimatation sur site en milieu confiné)</i>	MCNEILL, 2010 GUSTAFSON et al., 2016 HEDENBERG, 2022

Etape du programme	Facteurs déterminants/limitants	Références
	La durée du suivi post-relâcher doit être suffisamment longue pour évaluer la réussite d'un programme de conservation dédié à <i>T. cristatus</i> . Entre 6 et 10 ans de suivi sont nécessaire, voire plus.	DODD & SEIGEL, 1991 COOKE, 1997 COOKE, 2001 KINNE, 2004 GERMANO & BISHOP, 2009 MCNEILL, 2010 MCNEILL et al., 2012 GUSTAFSON et al., 2016 VAN DOORN et al., 2022
<b>Phase de suivi</b>	Le suivi de la qualité des habitats de réallocation (terrestre et aquatique), après relâcher, est indispensable. Il permet notamment d'évaluer la pertinence des différentes modalités de gestion et de les adapter, le cas échéant, pour garantir le succès du programme. Ce suivi est particulièrement pertinent pour les sites de réallocation créés (voir HARPER et al., 2018). (Possibilité d'inclure un suivi des facteurs abiotiques : paramètres physico-chimiques, etc.).	COOKE, 2001 MCNEILL, 2010 HARPER et al., 2018

## Perspectives méthodologiques dans le cadre d'un futur programme de conservation du Triton crêté.

La translocation d'adultes est une opération relativement délicate en raison du comportement philopatricien des individus. Cette tendance peut en effet entraîner des déplacements hors des sites de réallocation, réduisant ainsi les chances de succès du programme. Par ailleurs, la maîtrise complète du cycle de reproduction en milieu totalement artificiel peut s'avérer difficile ; le passage du stade terrestre au stade aquatique est souvent laborieux en captivité. Si la reproduction est envisagée, le maintien des adultes en conditions naturelles ou semi-naturelles (e.g. mésocosme) semble être l'alternative la moins risquée. En revanche, l'élevage des larves (de l'oeuf à l'adulte) en milieu artificiel est aujourd'hui bien maîtrisé, sous réserve de contrôler strictement la qualité de l'eau, de limiter le cannibalisme par une gestion adaptée de la densité larvaire et d'assurer un apport suffisant en nourriture vivante durant les premiers stades de développement (e.g. daphnies, copépodes, larves de chironome, etc.).

Dans ce contexte, la stratégie qui consiste à collecter des oeufs, à élever les larves en conditions naturelles ou semi-naturelles selon le principe du *head-starting*, puis de les relâcher vers un site de réallocation apparaît comme l'option la plus souhaitable.

## Bibliographie

- Cooke A.S. 1997. Monitoring a breeding population of crested newts (*Triturus cristatus*) in a housing development. *Herpetological Journal*. 7: 37-41.
- Cooke A.S. (2001). Translocation of small numbers of crested newts (*Triturus cristatus*) to a relatively large site. *Herpetological Bulletin*. 75: 25-29.

- Dodd C.K. & Seigel R.A. (1991). Relocation, repatriation and translocation of amphibians and reptiles : are they conservation strategies that work ? *Herpetologica*. 47: 336-350.
- Edgar P.W., Griffiths R.A. & Foster J.P. (2005). Evaluation of translocation as a tool for mitigating development threats to great crested newts (*Triturus cristatus*) in England, 1990-2001. *Biological Conservation*. 122: 45-52.
- Fieschi-Méric, L. (2022). Ex-situ and in-situ conservation in practice: effects of species-management strategies on the behavior and microbiota of amphibians. Laboratory of Ecology and Conservation of Amphibians, Freshwater and Oceanic science Unit of reSearch (FOCUS), Faculty of Sciences, University of Liège, Liège, Belgium. Genetics and Ecology of Amphibians Research Group, Faculty of Graduate Studies, Laurentian University, Sudbury, Ontario, Canada. Thesis submitted for the degrees of Doctor (PhD) in Sciences and Doctor (PhD) in Boreal Ecology.
- Germano J.M. & Bishop P.J. (2009). Suitability of amphibians and reptiles for translocation. *Conservation Biology*. 23(1): 7-15.
- Griffiths R.A. (2002). *The Newts and Salamanders of Europe*. Poyser. 224 p.
- Gustafson D.H., Blicharska M. & Mikusiński G. (2016). When development and amphibians meet : A case study of a translocation of great crested newts (*Triturus cristatus*) in Sweden. *Herpetological Conservation and Biology*. 11: 552-562.
- Harper L.R., Downie J.R. & McNeill D.C. (2018). Assessment of habitat and survey criteria for the great crested newt (*Triturus cristatus*) in Scotland : a case study on a translocated population. *Hydrobiologia*. 828: 57-71.
- Haycock G.B. (2016). Translocation of great crested newt *Triturus cristatus* eggs for conservation purposes in Ilkley, West Yorkshire, UK. *Conservation Evidence*. 13: 2.7-32.
- Hedenberg F. (2022). Status of three great crested newt *Triturus cristatus* populations after translocation. Swedish University of Agricultural Sciences, SLU, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences – Department of Ecology, Master's thesis in biology, Uppsala. 30 p.
- Kinne O. (2004). Successful re-introduction of the newts *Triturus cristatus* and *T. vulgaris*. *Endangered Species Research*. 1: 25-40.
- Kouba A.J., Vance C.K. & Willis E.L. (2009). Artificial fertilization for amphibian conservation : current knowledge and future considerations. *Theriogenology*. 71(1): 214-227.
- Kröpfl M., Heer, P. & Pellet J. (2010). Cost-effectiveness of two monitoring strategies for the great crested newt (*Triturus cristatus*). *Amphibia-Reptilia*. 31: 403-410.
- Lewis, B. (2012). An evaluation of mitigation actions for great crested newts at development sites. PhD Thesis. The Durrell Institute of Conservation and Ecology, University of Kent.
- McNeill D.C. (2010). Translocation of a population of great crested newts (*Triturus cristatus*) : a Scottish case study. PhD Thesis. Department of Ecology & Evolutionary Biology, Faculty of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow.

McNeill D.C., Downie J.R. & Ross B. (2012). Gartcosh great crested newts : the story so far. *The Glasgow Naturalist*. 25: 87-91.

Oldham, R.S. & Humphries, R.N. (2000). Evaluating the success of great crested newt (*Triturus cristatus*) translocation. *Herpetological Journal*. 10: 183-190.

Paquette-Boisclair E. (2019). *Méthodologie pour la réalisation de programmes de transfert d'espèces animales terrestres*. Essai présenté au Centre universitaire de formation en environnement et développement durable en vue de l'obtention du grade de maîtrise en environnement (M. Env.). Université de Sherbrooke, Canada, 179 p.

Tapley, B., Bradfield, K.S., Michaels, C. and Bungard, M. (2015). Amphibians and conservation breeding programmes : do all threatened amphibians belong on the ark ? *Biodiversity and Conservation*. 24: 2625-2646.

Van Doorn L., Auwerx J., Cox K., Mergeay J., Picavet B., Van Eenaeme D. & Speybroeck J. (2022). At the forefront of conservation : integrating science and amphibian reintroductions in Flanders, Belgium. Contribution to conference, 21st European Congress of Herpetology, 07/09/2022.

## Microbiote et comportements

### Eléments de synthèse

En réponse au déclin alarmant des amphibiens, les programmes d'élevage conservatoire se sont multipliés (WEST et al., 2019 ; KUENEMAN et al., 2022 ; FIESCHI-MERIC et al., 2023) et ont, sans aucun doute, permis de contribuer à la restauration de nombreuses populations naturelles (GRIFFITHS & PAVAJEAU, 2008 ; TAPLEY et al., 2015 ; HARDING et al., 2016). Toutefois, le succès de ces opérations reste encore assez limité (SUTHERLAND et al., 2021) car, bien souvent, elles ne parviennent pas à garantir la viabilité des populations à long terme (FIESCHI-MERIC, 2022). Les protocoles mis en œuvre dans le cadre des programmes de conservation sont désormais adaptés pour maîtriser les facteurs limitants déjà identifiés (e.g. réduire les risques de propagation d'agents pathogènes, éviter l'effet fondateur, etc.), mais il existe de nombreux aspects inexplorés de la biologie des amphibiens qui pourraient expliquer, en partie, leur succès relatif. Par exemple, plusieurs études suggèrent d'intégrer les comportements adaptatifs acquis en captivité et, surtout, de prendre en considération le microbiote cutané dans les stratégies de conservation (TREVELLINE et al., 2019 ; WEST et al., 2019 ; FIESCHI-MERIC, 2022 ; KUENEMAN et al., 2022 ; FIESCHI-MERIC et al., 2023).

Les communautés microbiennes qui résident sur la peau des amphibiens jouent un rôle crucial contre les agents pathogènes (HARRISON et al., 2019 ; REBOLLAR et al., 2020) et sont fortement influencées par l'environnement (WALKE et al., 2014 ; BIRD et al., 2018). Plusieurs études comparatives entre amphibiens sauvages et captifs mettent en exergue des changements dans la composition et la diversité du microbiote cutané (BECKER et al., 2014 ; KUENEMAN et al., 2016 ; SABINO-PINTO et al., 2016 ; FIESCHI-MERIC et al., 2019). Après seulement quelques semaines de captivité, il est en effet possible d'observer une diminution significative de la diversité du microbiote et des modifications de la structure des communautés microbiennes (LOUDON et al., 2014 ; BATES et al., 2019). La mise en captivité de tritons crêtés adultes pourrait donc s'avérer préjudiciable en éliminant les bactéries symbiotiques qui jouent un rôle central dans la réponse protectrice contre les agents pathogènes, et ainsi compromettre les

chances de succès du programme de réintroduction. En captivité, les changements qui s'opèrent au niveau du microbiote cutané peuvent être liés à l'utilisation de substrats artificiels, aux nettoyages fréquents des enceintes d'élevage, aux cycles de températures et/ou aux changements d'environnement nécessaires pour stimuler la reproduction (FIESCHI-MERIC, 2022). Contrairement aux urodèles adultes, la flore microbienne cutanée des larves n'est pas affectée par l'environnement, mais plutôt par différents processus liés à l'ontogénèse (FIESCHI-MERIC, 2022).

Les travaux de recherche menés par FIESCHI-MERIC (2022) sur les urodèles révèlent également des changements de comportement liés à la captivité. Les animaux ont en effet la capacité d'ajuster leur comportement à leur environnement. Cette plasticité comportementale, permet une réponse adaptée et relativement rapide aux variations de l'environnement, maximisant ainsi les chances de survies. Les modifications comportementales ont cependant des implications écologiques majeures puisque l'uniformisation du comportement des tritons crêtés captifs pourraient compromettre les efforts investis pour tenter de restaurer les populations. Cependant, la captivité ne réduit pas la capacité d'expression de la plasticité phénotypique, excepté lorsque les comportements induits possèdent une composante génétique et qu'elle est transmise après plusieurs génération en élevage. En revanche, les conditions d'élevage peuvent influencer la nature et la diversité des comportements exprimés. Il apparaît dès lors essentiel de veiller à ce que l'élevage des larves favorise l'expression de comportements complexes (e.g. comportements anti-prédateurs, diversité alimentaires, capacités locomotrices, etc.). Cette approche est bien documentée chez les poissons, pour lesquels il est possible d'agir sur les conditions d'élevage (BEREJKIAN et al. 2001 ; BRAITHWAITE & SALVANES, 2005) avant le relâcher. Plusieurs traits comportementaux et fonctionnels peuvent influencer la survie des juvéniles relâchés, notamment la capacité à capturer des proies (ADRIAENSSENS & JOHNSON, 2011 ; LARSSON et al. 2011), les performances de nage (HALE, 1999), les capacités exploratoires (BRAITHWAITE & SALVANES, 2005) ou encore la capacité de détection des prédateurs (MIRZA & CHIVERS, 2000 ; HOLMES & MCCORMICK, 2010).

Les changements qui s'opèrent en captivité au niveau du microbiote cutané et du comportement pourraient donc entraîner des conséquences néfastes pour les tritons crêtés captifs directement réintroduits sur un site de réallocation. Bien que la bioaugmentation avec des probiotiques puisse limiter, avec succès, la diminution de la diversité microbienne cutanée des animaux captifs (BLETZ et al., 2013 ; WOODHAMS et al., 2016), cette stratégie ne se montre que peu efficace pour reconstituer les communautés bactériennes naturelles. En revanche, une période d'acclimatation *in situ* (ou en mésocosme extérieur), pendant quelques semaines, semble être une solution beaucoup plus prometteuse pour favoriser le réensemencement de la flore microbienne cutanée des tritons adultes, et ainsi augmenter les chances de succès du programme de réintroduction (voir KUENEMAN et al., 2022). La flore microbienne cutanée des amphibiens captifs ne persiste pas après leur réintroduction dans la nature (KORPITA et al., 2023). Les travaux récents menés par LINHOFF & DONNELLY (2022) indiquent également que l'acclimatation *in situ* constitue un moyen particulièrement efficace d'améliorer la fidélité au site et de stimuler les comportements naturels chez les amphibiens élevés en captivité.

L'autre alternative possible est de relâcher des larves issues de captivité. Outre le fait que la flore microbienne cutanée de ces dernières ne soit pas affectée par l'environnement, les tritons semblent en effet acquérir le comportement de fidélité aux sites aquatiques par l'apprentissage des odeurs lors du développement larvaire (VYATKIN & SHAKHPARONOV, 2023). Le relâcher d'œufs, larves et/ou juvéniles étant une stratégie de conservation éprouvée dans le cadre des programmes de conservation dédiés au

Triton crêté (voir KINNE, 2004 ; MCNEILL, 2010 ; HAYCOCK, 2016 ; TAYMANS et al., 2021 ; VAN DOORN et al., 2022).

## Bibliographie

Adriaenssens B. & Johnsson J.I. (2011). Learning and context-specific exploration behaviour in hatchery and wild brown trout. *Applied Animal Behaviour Science*. 132 (1-2) : 90-99.

Bates K.A., Shelton J.M.G., Mercier V.L., Hopkins K.P., Harrison X.A., Petrovan S.O. & Fisher M.C. (2019). Captivity and infection by the fungal pathogen *Batrachochytrium salamandrivorans* perturb the amphibian skin microbiome. *Frontiers in Microbiology*. 10.1834. doi: 10.3389/fmicb.2019.01834.

Becker M.H., Richards-Zawacki C.L., Gratwicke B. & Belden L.K. (2014). The effect of captivity on the cutaneous bacterial community of the critically endangered Panamanian golden frog (*Atelopus zeteki*). *Biological Conservation*. 176: 199-206.

Berejikian B.A., Tezak E.P. & Riley S.C. & LaRae, A.L. (2001). Competitive ability and social behaviour of juvenile steelhead reared in enriched and conventional hatchery tanks and a stream environment. *Journal of Fish Biology*. 59(6): 1600-1613.

Bird A.K., Prado-Irwin S.R., Vredenburg V.T. & Zink, A.G. (2018). Skin microbiomes of California terrestrial salamanders are influenced by habitat more than host Phylogeny. *Frontiers in Microbiology*. 9.442. doi: 10.3389/fmicb.2018.00442.

Bletz M.C., Loudon A.H., Becker M.H., Bell S.C., Woodhams D.C., Minbiole K.P.C. & Harris R.N. (2013). Mitigation amphibian chytridiomycosis with bioaugmentation : characteristics of effective probiotics and strategies for their selection and use. *Ecology Letters*. 16(6): 807-820.

Braithwaite V.A. & Salvanes A.G.V. (2005). Environmental variability in the early rearing environment generates behaviourally flexible cod: implications for rehabilitating wild populations. *Proceedings of the Royal Society B*. 272(1568): 1107-1113. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3062>.

Fieschi-Méric L., Bournonville M. & Denoël M. (2019). Adaptation to captivity within *ex-situ* collections of urodela : from behavioural to microbial plasticity [conference presentation abstract]. European Union of Aquarium Curators conference 2019, Boulogne-sur-Mer, France. [https://www.euacconference2019.eu/wp-content/uploads/2019/10/NAUSICAA\\_EUAC-ABSTRACT-GUIDE2.pdf](https://www.euacconference2019.eu/wp-content/uploads/2019/10/NAUSICAA_EUAC-ABSTRACT-GUIDE2.pdf). 29 p.

Fieschi-Méric L. (2022). *Ex-situ and in-situ conservation in practice : effects of species-management strategies on the behavior and microbiota of amphibians*. Laboratory of Ecology and Conservation of Amphibians, Freshwater and Oceanic science Unit of reSearch (FOCUS), Faculty of Sciences, University of Liège, Liège, Belgium. Genetics and Ecology of Amphibians Research Group, Faculty of Graduate Studies, Laurentian University, Sudbury, Ontario, Canada. Thesis submitted for the degrees of Doctor (PhD) in Sciences and Doctor (PhD) in Boreal Ecology.

Fieschi-Méric L., Van Leeuwen P., Hopkins K., Bournonville M., Denoël M. & Lesbarrères D. (2023). Strong restructuring of skin microbiota during captivity challenges *ex-situ* conservation of amphibians. *Frontiers in Microbiology*. 14:1111018.

- Griffiths R.A. & Pavajeau L. (2008). Captive breeding, reintroduction, and the conservation of amphibians. *Conservation Biology*. 22(4): 852-861.
- Hale M.E. (1999). Locomotor mechanics during early life history: effects of size and ontogeny on fast-start performance of salmonid fishes. *Journal of Experimental Biology*. 202(11): 1465-1479.
- Harding G., Griffiths R.A. & Pavajeau L. (2016). Developments in amphibian captive breeding and reintroduction programs. *Conservation Biology*. 30(2): 340-349.
- Harrison X.A., Price S.J., Hopkins K., Leung W.T.M., Sergeant C. & Garner T.W.J. (2019). Diversity-stability dynamics of the amphibian skin microbiome and susceptibility to a lethal viral pathogen. *Frontiers in Microbiology*. 10:2883.
- Holmes T.H. & McCormick M.I. (2010). Smell, learn and live: The role of chemical alarm cues in predator learning during early life history in marine fish. *Behavioural Processes*. 83(3): 299-305.
- Korpita T.M., Muths E.L., Watry M.K. & McKenzie V.J. (2023). Captivity, reintroductions, and rewilding of amphibian-associated bacterial communities. *Microbial Ecology*.
- Kueneman J.G., Woodhams D.C., Van Treuren W., Archer H.M., Knight R. & McKenzie V.J. (2016). Inhibitory bacteria reduce fungi on early life stages of endangered Colorado boreal toads (*Anaxyrus boreas*). *ISME Journal*. 10(4): 934-944.
- Kueneman J.G., Bletz M.C., Becker M., Gratwicke B., Garcés O.A., Hertz A., Holden W.M., Ibáñez R., Loudon A., McKenzie V., Parfrey L., Sheafor B., Rollins-Smith L.A., Richards-Zawacki C., Voyles J. & Woodhams D.C. (2022). Effects of captivity and rewilding on amphibian skin microbiomes. *Biological Conservation*. 271 : 109576.
- Larsson S., Linnansaari T., Vatanen S., Serrano I. & Haikonen A. (2011). Feeding of wild and hatchery reared Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts during downstream migration. *Environmental Biology of Fishes*. 92: 361-369.
- Linhoff L.J. & Donnelly M.A. (2022). Assessing release strategies for reintroductions of endangered Wyoming toads. *Wildlife Society Bulletin*. 46:e1341.
- Loudon A.H., Woodhams D.C., Wegener Parfrey L., Archer H., Knigh, R., McKenzie V. & Harris R.N. (2014). Microbial community dynamics and effect of environmental microbial reservoirs on red-backed salamanders (*Plethodon cinereus*). *ISME Journal*. 8: 830-840.
- Mirza R.S. & Chivers D.P. (2000). Predator-recognition training enhances survival of brook trout: evidence from laboratory and field-enclosure studies. *Canadian Journal of Zoology*. 78(12): 2198-2208.
- Rebollar E.A., Martínez-Ugalde E. & Orta A.H. (2020). The amphibian skin microbiome and its protective role against chytridiomycosis. *Herpetologica*. 76(2): 167-177.
- Sabino-Pinto J., Bletz M.C., Mafizul Islam M., Shimizu N., Bhuju S., Geffers R., Jarek M., Kurabayashi A. & Vences M. (2016). Composition of the cutaneous bacterial community in Japanese amphibians. Effects of captivity, host species, and body region. *Microbial Ecology*. 72: 460-469.
- Sutherland W.J., Dicks L.V., Petrovan S.O. & Smith R.K. (2021). *What Works in Conservation*. Conservation Evidence. Cambridge, UK, OpenBook Publishers. 1040 p.

- Tapley B., Bradfield K.S., Michaels C. & Bungard M. (2015). Amphibians and conservation breeding programmes : do all threatened amphibians belong on the ark ? *Biodiversity and Conservation*. 24: 2625-2646.
- Trevelline B.K., Fontaine S.S., Hartup B.K. & Kohl K.D. (2019). Conservation biology needs a microbial renaissance : a call for the consideration of host-associated microbiota in wildlife management practices. *Proceedings of the Royal Society B*. 286: 201824481.
- Vyatkin Y.A. & Shakhparonov V.V. (2023). Learning native pond odor as one of the mechanisms of olfactory orientation in juvenile smooth newt *Lissotriton vulgaris*. *Journal of comparative Physiology A, Neuroethology, sensory, neural, and behavioral physiology*. 210(1): 57-63.
- Walke J.B., Becker M.H., Loftus S.C., House L.L., Cormier G., Jensen R.V. & Belden L.K. (2014). Amphibian skin may select for rare environmental microbes. *ISME Journal*. 8: 2207-2217.
- West A.G., Waite D.W., Deines P., Bourne D.G., Digby A., McKenzie V.J. & Taylor M.W. (2019). The microbiome in threatened species conservation. *Biological Conservation*. 229 : 85-98.
- Woodhams D.C, Bletz M., Kueneman J. & McKenzie V. (2016). Managing amphibian disease with skin microbiota. *Trends in Microbiology*. 24(3): 161-164.

# Pathologies dans le cadre des programmes de translocation / élevage conservatoire

## Généralités

Actuellement, les amphibiens constituent la classe de vertébrés la plus menacée au niveau mondial (41% des espèces sont menacées d'extinction, voir SILLA & BYRNE, 2019) et la situation se détériore, en particulier pour les urodèles (LUEDTKE et al., 2023). Les maladies infectieuses, telles que la chytridiomycose et les pathologies liées aux ranavirus, sont reconnues comme l'une des principales causes de déclin des populations d'amphibiens (DASZAK et al., 2003 ; PESSIER, 2008 ; BLAUSTEIN et al., 2012, 2018 ; SCHEELE et al., 2021 LUEDTKE et al., 2023).

Depuis plusieurs années, cette crise d'extinction majeure a conduit à la mise en place de nombreux programmes d'élevage conservatoire (PESSIER, 2008 ; HARDING et al., 2016 ; LINHOFF et al., 2021). Ces programmes ont de multiples objectifs et notamment la réintroduction d'individus dans la nature (ZIPPEL et al., 2011). Dans cette intention, les structures en charge d'un élevage ont donc une forte responsabilité dans la prévention et le contrôle des maladies infectieuses (PESSIER, 2008).

## Risques pathologiques et programmes de conservation

Les maladies infectieuses constituent une entrave sérieuse au succès de tout programme de conservation (LINHOFF et al., 2021). La possibilité d'introduire des agents pathogènes dans les populations d'espèces conspécifiques ou sympatriques sur un site de réallocation est en effet particulièrement préoccupante. De plus, il est impossible d'éliminer complètement les risques de maladies infectieuses dans le cadre de telles opérations (GARNER et al., 2016). Cependant, une gestion appropriée permet de réduire considérablement la plupart des risques sanitaires liés la réintroduction d'amphibiens captifs (PESSIER & MENDELSON, 2017 ; LINHOFF et al., 2021).

## Protocole de biosécurité et quarantaine

### Protocole de biosécurité

Le rôle des maladies dans le déclin des amphibiens a permis de mettre en lumière la nécessité de faire évoluer les pratiques d'élevage et de biosécurité dans les structures qui maintiennent ces animaux en captivité. Les mesures de biosécurité correspondent aux actions à mettre en œuvre pour éviter au maximum les risques de transmission des maladies infectieuses. Dans le cas présent, une raison peut expliquer la mise en œuvre de bonnes pratiques de biosécurité :

- Empêcher les agents pathogènes spécifiques (e.g. *Batrachochytrium dendrobatidis*, *B. salamandrivorans*, ranavirus...) de se propager en dehors de la structure d'élevage dédiée au Triton crêté.

Les mesures de biosécurité nécessaires pour atteindre cet objectif sont déterminées de manière spécifique pour la structure d'élevage et en fonction du programme de conservation. Dans le cas présent, les protocoles de biosécurité se basent principalement sur deux documents :

- le document élaboré par le *IUCN SSC Conservation Breeding Specialist Group* et édité en 2017 : *A Manual for Control of Infectious Diseases in Amphibian Survival Assurance Colonies and Reintroduction Programs* (document disponible en ligne) ;
- la publication parue en 2024 dans la revue *Naturae* : *Biosécurité en milieu humide : bonnes pratiques d'intervention sur les amphibiens sauvages* (publication disponible en ligne).

De manière générale, le(s) protocole(s), qui sera mis en place, s'appuie essentiellement sur des pratiques simples de bon sens qui ont trait à l'hygiène et/ou l'isolement des animaux.

### **Quarantaine**

La réintroduction d'animaux captifs implique un isolement total (ou quarantaine permanente) de ces derniers pendant la captivité (PESSIER & MENDELSON, 2017). Aucune cohabitation avec d'autres espèces d'amphibiens n'est généralement admise. Les tritons crêtés seront donc maintenus dans un conteneur maritime entièrement dédié à leur élevage. D'après PESSIER et MENDELSON (2017), l'utilisation d'un conteneur maritime est une solution éprouvée pour réduire les risques pathologiques. De plus, l'isolement physique d'une espèce dans une structure dédiée permet de simplifier les pratiques de biosécurité.

## **Tests de diagnostic**

### **Epidémiosurveillance**

La gestion des risques pathologiques consiste essentiellement à rechercher l'agent pathogène responsable dans le but de contenir la maladie. Dans les programmes d'élevage conservatoire, l'épidémiosurveillance est nécessaire pour :

- détecter les agents pathogènes pouvant menacer l'intégrité du cheptel captif et mettre en péril le succès du programme ;
- limiter la propagation des maladies infectieuses. C'est notamment important lorsque les amphibiens captifs sont réintroduits dans la nature ;
- recueillir des informations nécessaires à l'évaluation des risques pathologiques liés aux opérations de réintroduction.

### **Echantillonnage de la population captive**

Pour estimer la prévalence d'une maladie dans la population captive de tritons crêtés, les échantillons devront provenir d'un sous-ensemble représentatif de cette population (voir PESSIER & MENDELSON, 2017). Si l'ensemble des individus de la population captive ne peut être testé (e.g. population captive importante), l'échantillonnage repose généralement sur une méthodologie aléatoire. Par exemple, si 30 individus sur 100 doivent être testés, les tritons seront sélectionnés au hasard dans les aquariums

d'élevage. La proportion d'individus à tester est généralement dépendante de la taille de la population captive.

### **Tests de diagnostic pour les ranavirus et chytrides**

Les tests de diagnostic moléculaire utilisant la PCR (Polymerase Chain Reaction) seront utilisés pour les agents infectieux tels que ranavirus, *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) et *Batrachochytrium salamandrivorans* (Bsal). La chytridiomycose (maladie fongique provoquée par Bd et Bsal) et les infections à ranavirus sont souvent asymptomatiques chez de nombreuses espèces d'amphibiens (MILLER et al., 2011 ; MIAUD, 2013 ; PESSIER & MENDELSON, 2017 ; SABINO-PINTO et al., 2018). Pour cette raison, il est généralement recommandé de tester systématiquement un échantillon représentatif de la population captive en amont des opérations de relâcher (PESSIER & MENDELSON, 2017 ; voir également HAYCOCK, 2016 ; TAYMANS et al., 2021 ; VAN DOORN et al., 2022). L'objectif étant de s'assurer qu'aucune contamination des spécimens n'ait eu lieu durant la captivité afin d'éviter la dissémination desdits pathogènes.

Les tests de diagnostic dédiés à Bd et Bsal seront réalisés par le Laboratoire Départemental d'Analyses du Jura (LDA39) qui travaille en étroite collaboration avec l'Office Français de la Biodiversité (OFB), établissement public en charge de la gestion de l'épidémiosurveillance des amphibiens. Les prélèvements cutanés seront effectués par écouvillon et envoyés au laboratoire. La recherche des ranavirus sera effectuée par une structure compétente via une analyse d'ADN présent dans l'eau des aquariums.

### **Traitements possibles en cas d'affection**

En fonction de l'origine de l'infection, plusieurs traitements sont actuellement connus pour lutter contre les maladies susceptibles de provoquer des mortalités massives chez amphibiens.

#### **Traitements contre la chytridiomycose**

Actuellement, il existe différents traitements qui peuvent être utilisés pour lutter contre la chytridiomycose en captivité. Les méthodes citées ci-après présentent des avantages et des inconvénients, mais reste, à ce jour, les plus utilisées (YOUNG et al., 2007 ; BERGER et al., 2010 ; WOODHAMS et al., 2012) :

- Le traitement antifongique à l'Itraconazole est le plus utilisé dans les institutions zoologiques et les programmes de conservation pour lutter contre la chytridiomycose (GAGLIARDO et al., 2008 ; TAMUKAI et al., 2011 ; voir également PLEWNIA et al., 2023).
- Le traitement synergique grâce à l'interaction du Voriconazole, de la Polymyxine E et de la température est particulièrement efficace contre Bsal (BLOOI et al., 2015).
- Le traitement au Chloramphénicol, généralement utilisé comme antibactérien, se montre relativement efficace contre Bd.
- Le traitement par augmentation de la température.
- Le traitement à la Bétadine® et au Bactone® ont également été utilisés avec succès (Michael MAHONY, Université de Newcastle, com. pers.).

La plupart des traitements médicamenteux présentés ci-dessus sont généralement toxiques pour les larves aux mêmes concentrations que celles utilisées pour les adultes. Actuellement, il existe très peu d'études permettant d'évaluer l'efficacité et l'innocuité d'un traitement chez les larves d'amphibiens. Il faut donc évaluer les risques pour savoir s'il est nécessaire d'attendre la métamorphose avant d'administrer un traitement spécifique. De nouvelles avancées prometteuses dans le traitement de la chytridiomycose ont cependant été réalisées grâce au Tébuconazole pour tous les stades de développement (THUMSOVA et al., 2024).

### Traitement contre la ranavirose

De nos jours, les méthodes de traitement pour les pathogènes viraux sont très limitées pour les vertébrés en général et leur efficacité est inconnue chez les amphibiens. Si le diagnostic virologique est établi au sein de la population captive de tritons crêtés, les efforts seront plus axés sur la prévention et le contrôle de la maladie que sur le traitement des animaux. Dans les faits :

- Isolements des tritons infectés.
- Respect strict des pratiques de biosécurité visant à réduire les risques de diffusion et transmission de la maladie.
- Désinfection du matériel et/ou de tout équipement dédié à l'hébergement (Virkon®).

Bien qu'elles soient limitées, il semble que certaines options thérapeutiques existent pour traiter de manière préventive ce type de pathologie. La température et la qualité de l'eau du milieu semble en effet jouer un rôle dans la pathogénicité des ranavirus (NAZIR et al., 2012 ; BRAND et al., 2016).

## Bibliographie

Berger L., Speare R., Pessier A., Voyles J. & Skerratt L.F. (2010). Treatment of chytridiomycosis requires urgent clinical trials. *Diseases of Aquatic Organisms*. doi: 10.3354/dao02238.

Blaustein A.R., Gervasi S.S., Johnson P.T.J., Hoverman J.T., Belden L.K., Bradley P.W. & Xie G.Y. (2012). Ecophysiology meets conservation : understanding the role of disease in amphibian population declines. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 367: 1688-1707.

Blaustein A.R., Urbina J., Snyder P.W., Reynolds E., Dang T., Hoverman J.T., Han B., Olson D.H., Searle C. & Hambalek N.M. (2018). Effects of emerging infectious diseases on amphibians : a review of experimental studies. *Diversity*. 10(3), 81. <https://doi.org/10.3390/d10030081>.

Blooi L., Pasmans F., Rouffaer L., Haesebrouck F., Vercammen F. & Martel A. (2015). Successful treatment of *Batrachochytrium salamandrivorans* infections in salamanders requires synergy between voriconazole, polymyxin E and temperature. *Scientific Reports*. 5:11788. DOI :10.1038.srep11788.

Brand M.D., Hill R.D., Brenes R., Chaney J.C., Wilkes R.P., Grayfer L., Miller D.L. & Gray M.J. (2016). Water temperature affects susceptibility to ranavirus. *EcoHealth*. 13: 350-359.

Daszak P., Cunningham A.A. & Hyatt A.D. (2003). Infectious disease and amphibian populations declines. *Diversity and Distributions*. 9(2): 141-150.

- Densmore C.L. & Green D.E. (2007). Diseases of amphibians *ILAR Journal*. 48: 235-254.
- Gagliardo R., Crump P., Griffiths E., Mendelson J.R., Ross, H. & Zippel K.C. (2008). The principles of rapid response for amphibian conservation using the programmes in Panama as an example. *International Zoo Yearbook*. 42: 125-135.
- Garner T.W.J., Schmidt B.R., Martel A., Pasmans F., Muths E., Cunningham A.A., Weldon C., Fischer M.C. & Bosch J. (2016). Mitigation amphibian chytridiomycoses in nature. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 371: 20160207.
- Harding G., Griffiths R.A. & Pavajeau L. (2016). Developments in amphibian captive breeding and reintroduction programs. *Conservation Biology*. 30: 340-349.
- Haycock G.B. (2016). Translocation of great crested newt *Triturus cristatus* eggs for conservation purposes in Ilkley, West Yorkshire, UK. *Conservation Evidence*. 13: 2.7-32.
- Linhoff L.J., Soorae P.S., Harding G., Donnelly M.A., Germano J.M., Hunter D.A., McFadden M., Mendelson J.R., Pessier A.P., Sredl M.J. & Eckstut M.E. (eds). (2021). *IUCN Guidelines for amphibian reintroductions and other conservation translocations*. First edition. Gland, Switzerland : IUCN. 219 p.
- Luedtke J.A., Chanson J., Neam K., Hobin L., Maciel A.O., Catenazzi A., Borzée A. (2023). Ongoing declines for the world's amphibians in the face of emerging threats. *Nature*. 622: 308-314.
- Miaud, C. (2013). Un champignon menace les amphibiens. Qu'avons-nous appris sur la chytridiomycose ? *Le Courrier de la Nature*. 277: 30-36.
- Miaud, C., (2022) - Protocole d'hygiène pour le contrôle des maladies des amphibiens sur le terrain. Ecole Pratique des Hautes Etudes (ed), 9 pages.
- Miller D., Gray M. & Storfer A. (2011). Ecopathology of ranavirus infecting amphibians. *Viruses*. 3(11): 2351-2373.
- Nazir J., Spengler M., Marschang R.E.(2012). Environmental persistence of amphibian and reptilian ranaviruses. *Diseases of Aquatic Organisms*. 98: 177-184.
- Pessier A.P. (2008). Management of disease as a threat to amphibian conservation. *International Zoo Yearbook*. 42: 30-39.
- Pessier A.P. & Mendelson J.R. (2017). A Manual for Control of Infectious Diseases in Amphibian Survival Assurance Colonies and Reintroduction Programs, Ver. 2.0. IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group: Apple Valley, MN.
- Plewnia A., Lötters S., Veith M., Peters M. & Böning P. (2023). Successful drug-mediated host clearance of *Batrachochytrium salamandrivorans*. *Emerging Infectious Diseases*. 29(2): 411-414.
- Sabino-Pinto J., Veith M., Vences M. & Steinfartz S. (2018). Asymptomatic infection of the fungal pathogen *Batrachochytrium salamandrivorans* in captivity. *Scientific Reports*. 8: 11767.
- Sandor C., Matutini F., Decors A., Cardoso O., Sentenac H., Larrat S., Pozet F., Berthet M. & Palumbo L. (2024). Biosécurité en milieu humide : bonnes pratiques d'intervention sur les amphibiens sauvages. *Naturae*. 14: 273-305.

- Scheele B.C., Hollanders M., Hoffman E.P., Newell D.A., Lindenmayer D.B., McFadden M., Gilbert D.J. & Grogan L.F. (2021). Conservation translocations for amphibian species threatened by chytrid fungus : A review, conceptual framework, and recommendations. *Conservation Science and Practice*. 3: 524.
- Silla A.J. & Byrne P.G. (2019). The role of reproductive technologies in amphibian conservation breeding programs. *Annual Review of Animal Biosciences*. 7: 499-519.
- Tamukai K., Une Y., Tominaga A., Suzuki K. & Goka K. (2011). Treatment of spontaneous chytridiomycosis in captive amphibians using itraconazole. *Journal of Veterinary Medical Science*. 73: 155-159.
- Taymans J., Gauquie B., Hauteclair P., Kinet T., De Neve V. & Seleck M. (2021). Translocation d'amphibiens (*Triturus cristatus*, *Epidalea calamita* et *Bombina variegata*) dans le cadre du LIFE in Quarries. Bruxelles, 27/10/2021.
- Thumsova B., González-Miras E., Rubio A., Granados I., Bates K.A. & Bosch J. (2024). Chemical disinfection as a simple and reliable method to control the amphibian chytrid fungus at breeding points of endangered amphibians. *Scientific Reports*. 14: 5151.
- Van Doorn L., Auwerx J., Cox K., Mergeay J., Picavet B., Van Eenaeme D. & Speybroeck J. (2022). At the forefront of conservation : integrating science and amphibian reintroductions in Flanders, Belgium. Contribution to conference, 21st European Congress of Herpetology, 07/09/2022.
- Woodhams D.C., Geiger C., Reinert L., Rollins-Smith L., Lam B., Harris R., Briggs C., Vredenburg V. & Voyles J. (2012). Treatment of amphibians infected with chytrid fungus: learning from failed trials with itraconazole, antimicrobial peptides, bacteria, and heat therapy. *Disease of Aquatic Organisms*. 98: 11-25.
- Young S., Berger L. & Speare R. (2007). Amphibian chytridiomycosis: strategies for captive management and conservation. *International Zoo Yearbook*. 41: 85-95.
- Zippel K., Johnson K., Gagliardo R., Gibson R., McFadden M., Browne R., Martinez C. & Townsend E. (2011). The Amphibian Ark : A global community for ex situ conservation of amphibians. *Herpetological Conservation and Biology*. 6(3): 340-352.

# Apports et perspectives

## Résumé des éléments clés collectés

### Volet 1 - Modélisation de la distribution du Triton crêté

#### Situation actuelle

- Quatre modèles de prédiction réalisés
- Concentration des habitats potentiellement favorables dans une grande partie du Comtat Venaissin (notamment dans le bassin des Sorgues et la plaine de Carpentras) ou plus ponctuellement dans le Haut Vaucluse (plateau de Sérignan-du-Comtat / Sainte-Cécile-les-Vignes).
- Divergences entre les modèles, le modèle calibré sur les données de T. crêté en zone méditerranéenne s'avère plus optimiste est préféré par à dire d'expert

#### Potentialité de présence d'écrevisses exotiques envahissantes

- Réduction drastique de la distribution des habitats favorables en raison de pressions potentiellement exercées par la présence d'écrevisses, plaines alluviales alors défavorables et têtes de bassin versant moins affectées

#### Représentation du potentiel de restauration de sites / création de nouvelles mares

- Basée sur deux critères environnementaux : Potentiel d'Accumulation en Eau (PAE) et probabilité de présence seuillée de zones humides (TWI)
- Les basses terrasses alluviales rhodaniennes et de ses principaux affluents présentent intrinsèquement des niveaux élevés de PAE et TWI mais sont également l'objet d'importantes pressions (ex. agricole intensif ; foyer d'espèces exotiques dont écrevisses ; gestion hydraulique ; fragmentation des habitats ; ...)
- Potentiel notable sur les contreforts des Alpilles (13), le Comtat Venaissin et partiellement le Haut Vaucluse.

### Prédiction face aux changements climatiques

- Réduction pressentie de la disponibilité en habitat favorable avec un effet croissant entre les deux séquences temporelles considérées (2041-2070 / 2071-2100) et ce, quel que soit le modèle considéré
- Cette baisse de la favorabilité concerne l'ensemble du territoire d'étude incluant également les stations occupées.

### Volet 2 – Génomique des populations méditerranéennes de T. crêté

- Colonisation de l'Europe de l'Ouest depuis l'Europe centrale (refuge glaciaire)
- Faible degré de diversité intrinsèque pour l'ensemble des populations d'Europe de l'Ouest (dont pop. méditerranéennes)
- Origine commune des populations méditerranéennes avec présence d'une structuration génétique propre à chaque population.
- La population d'Arles présente une diversité supérieure aux autres et sans déséquilibre génétique notoire.
- Déficit d'hétérozygotie global chez les autres populations est modeste mais réel traduisant soit une consanguinité ou un échantillonnage d'une sous-structure de population
- Aucune trace génétique de présence de T. carnifex (espèce proche et considérée invasive en France) au sein des populations échantillonnées en zone méditerranéenne.

### Volet 3 - Translocation - élevage conservatoire des tritons « de grande taille » en Europe, état de l'art

- Retours d'expériences positifs de programmes d'élevages conservatoires – translocation en Europe de l'Ouest pour le T. crêté et/ou autres grands tritons présents en Europe de l'Ouest ;
- Détermination des facteurs clés – restrictifs sur l'ensemble des phases d'un tel programme (détermination des sites de réallocation ; identification des pressions locales ; connectivité et qualité des habitats aquatiques et terrestres ; prélèvement argumenté des reproducteurs ; stratégie du lâcher (acclimatation des spécimens ; stade ; nombre, fréquence ...);
- Maîtrise des paramètres zootechniques pour objectiver l'élevage ex-situ (détermination des facteurs clés pour le développement de l'espèce en captivité ;
- Pathologie et biosécurité : la mise en place d'élevages conservatoires appelle à développer un cadre sanitaire rigoureux (quarantaine ; épidémiosurveillance ; traitements) ;
- Importance d'un monitoring adapté ;
- Importance d'une gestion adaptative des habitats aquatiques et terrestres.

## Perspectives

Les données collectées dans le cadre de ce projet s'inscrivent au titre de l'évaluation de la faisabilité – pertinence d'actions conservatoires complémentaires à celles déjà en vigueur sur deux départements de la région PACA abritant naturellement le T. crêté.

L'élevage conservatoire est considéré comme une approche complémentaire aux actions de conservation *in situ* avec des possibilités de déploiement dans le cas de « sécurisation » de populations en danger immédiat ou de renforcement génétique voire encore de réintroduction. Il présente cependant une part d'incertitudes et de limites qu'il convient d'appréhender en amont pour évaluer au cas par cas sa pertinence. Difficultés de réintroduction, maladies et pathogènes, changements climatiques, état génétique, gestion des habitats sont autant de causes d'échec de précédents programmes d'élevages conservatoires d'amphibiens.

Aussi, la mise en place éventuelle de cette approche doit s'accompagner en amont d'un certain nombre de pré-requis résumés ici en 8 grands thèmes non hiérarchisés :

- Justification et risque ;
- Menaces initiales ;
- Elevage conservatoire ;
- Connaissances académiques ;
- Logistiques et sites (de collecte et d'accueil) ;
- Suivi post-libération ;
- Génétique et santé ;
- Gestion adaptative.

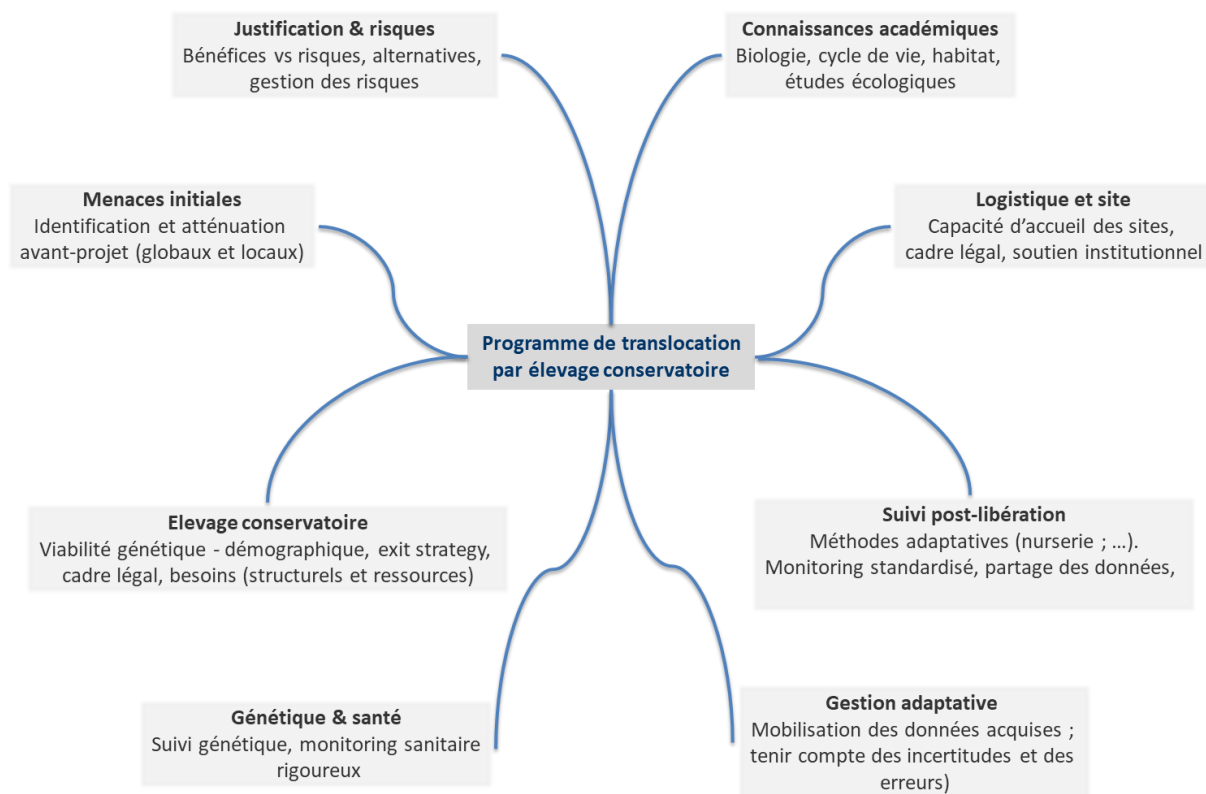


Figure 31 - Pré-requis pour la mise en place d'un programme de translocation par élevage conservatoire.

## Processus décisionnaire 5 étapes de l'UICN

L'UICN SSC (2014) aborde l'importance du processus décisionnaire et l'implication des parties prenantes ainsi que le rôle complémentaire que l'élevage conservatoire peut prendre dans la conservation de certaines espèces – populations menacées. Ces décisions doivent s'inscrire dans le cadre d'une stratégie globale (ou territoriale) de conservation de l'espèce.

Etapes principales	Etapes secondaires	Commentaires
<b>Etat de référence</b>	Bilan (statut de l'espèce)	Données synthétisées dans l'étude préalable
	Menaces (passé – présent – et à venir)	Données synthétisées dans l'étude préalable Compléments possibles
	Incertitudes	Etat démographique de la population source. Etat démographique des amphibiens présents sur le site d'accueil (si ZH existante).
<b>Définir le rôle de l'élevage conservatoire</b>	Rôles possibles	Sauvetage temporaire (retirer spécimens de la nature face à une menace immédiate) Source pour réintroduction (reproduction pour relâchers futurs des fratries)

Etapes principales	Etapes secondaires	Commentaires
	Bénéfices / Risques	<p>+ Objectifs quantifiables (ex. fictif 300 ind. en 5 ans post-relâchés)</p> <p>- Risque que l'élevage ne soit pas une solution adaptée aux besoins</p>
<b>Déterminer les caractéristiques de la population <i>ex situ</i></b>	Paramètres biologiques	Nombre de fondateurs, structure démographique, biosécurité, acclimatation ; ...
	Aspects pratiques	Proximité géographique du site d'élevage ou à distance avec installations spécialisées (paramètres zootechniques maîtrisés) Autorisations réglementaires obtenues (capacité ; captures ; transport).
	Objectif	Population <i>ex situ</i> viable, gérable et disponible pour réintroduction – renforcement
<b>Ressources, faisabilités, risques</b>	Infrastructures	Site d'accueil (centre d'élevage adapté)
	Ressources	Personnel qualifié Financement (budget à définir sur période minimale comprise entre 5 et 8 ans) Collaboration (institutions ; labo de recherche / chercheurs indépendants ; Conservatoire – Association de Protection de la Nature -
	Risques	Fragilisation de la / des population(s) source(s) Sanitaire Cadre juridique à respecter Probabilité que les objectifs ne soient pas atteints
<b>Prise de décision transparente et documentée</b>	Critères de décision	Valeur ajoutée réelle de l'élevage conservatoire ? Alternatives existantes (solutions <i>in situ</i> à privilégier car plus efficace) et complémentarité d'actions <i>in situ</i> / <i>ex situ</i> à évaluer. Faisabilité du programme (bénéfices > coûts-risques)
	Processus	Associer les parties prenantes dans le processus décisionnaire Documenter la décision et les objectifs Communiquer les résultats (même en cas d'abandon / échec du projet).

# Types d'actions locales envisageables en lien avec l'élevage conservatoire

## Réintroduction

### *Cas de la population de Trinquetaille*

La population de Trinquetaille est marquée par son caractère enclavé, une hydropériode insuffisante et une surface en eau libre faible du fait d'un atterrissement marqué. Aucune reproduction efficace n'est avérée depuis 2014 et les suivis réalisés depuis tendent à montrer un effondrement du stock populationnel. Les concentrations en sel enregistrés sur le site (mares et abords) sont aujourd'hui considérées incompatibles avec le développement larvaire complet. Des relevés complémentaires menés sur l'ensemble du site montrent des concentrations élevées en sel sur l'ensemble du site (PNRC / Tour du valat *com. pers.*). Cette situation hautement critique plaide pour une difficulté à maintenir cette population par des actions de restauration écologique *in situ*.

Des réflexions sont actuellement partagées quant au devenir de cette population et dans ce contexte singulier, l'élevage conservatoire peut s'avérer être un outil pertinent pour 1) accompagner un sauvetage temporaire si des actions *in situ* sont envisagées ; 2) développer la population en condition maîtrisée le temps de mettre en œuvre un programme durable d'actions préférentiellement sur un site d'accueil proche et répondant à ses exigences écologiques ; 3) renforcer d'autres populations existantes et fragilisées par des risques de consanguinité ou de dérive génétique.

### *Cas de nouvelles populations*

L'élevage conservatoire peut venir en soutien d'actions de restauration ou de création d'habitats propices à l'espèce au sein de son aire de distribution. Les travaux de modélisation réalisés dans le volet 1 de cette étude montrent une disponibilité en habitats potentiellement propices à l'implantation de nouvelles populations. Les SDM constituent un outil puissant pour identifier des zones humides existantes potentiellement favorables à l'implantation de nouvelles populations. Ils constituent une première étape pour planifier des réintroductions de manière rationnelle. Cependant, il convient de rappeler que l'existence d'habitats théoriquement favorables ne doit pas masquer l'état de dégradation important des milieux aquatiques notamment dans la plaine rhodanienne, comme démontré par Grillas et al. (2018).

En outre, la réussite d'une stratégie de réintroduction repose sur la prise en compte d'autres contraintes telles que :

- Disponibilité et gestion durable de la ressource en eau, essentielle pour assurer une hydropériode suffisante et compatible avec son développement larvaire mais à caractère temporaire pour éviter–limiter la présence de poissons ou écrevisses exotiques ;
- Maîtrise foncière et gouvernance locale, garantissant la pérennité de la protection et la non-destruction des habitats restaurés ;
- Pratiques de gestion adaptées, incluant les habitats terrestres et la mise en place de suivis écologiques à long terme.

Enfin, de manière complémentaire, l'analyse des deux indicateurs « Potentiel d'Accumulation en Eau (PAE) » et « Probabilité de présence seuillée de zones humides (TWI) » ouvre des perspectives sur la détermination de secteurs potentiellement favorables à la création – renforcement de milieux aquatiques. Si ces données issues de modélisation permettent de cibler des secteurs attractifs, des relevés de terrain restent obligatoires pour collecter les informations complémentaires essentielles à la priorisation des secteurs candidats.

## Renforcement de populations

Bien que les trois sites occupés sur la commune de Sérignan-du-Comtat ne bénéficient pour l'heure d'aucune information sur leurs états démographiques respectifs, les effectifs maximums relevés, la disponibilité et la qualité des habitats aquatiques et terrestres semblent être, dès à présent, des facteurs de risques pour Ser2 et Ser3. Le réseau d'habitats aquatiques sur l'étang de Ruth (Ser1) se singularise par une meilleure représentativité en habitat aquatique propice à la reproduction ainsi que des biotopes terrestres de qualité. La connectivité présumée entre ces trois sites peut être qualifiée de mauvaise (Ser2/Ser3) à nulle (Ser1/Ser2 et Ser1/Ser3) au regard des distances importantes et de la nature des habitats terrestres. Dans pareil contexte, l'élevage conservatoire peut s'inscrire en continuité de mesures *in situ* (restauration – gestion des localités occupées ; rétablissement des capacités d'échange entre sites par création d'habitats aquatiques et terrestres ; ...).



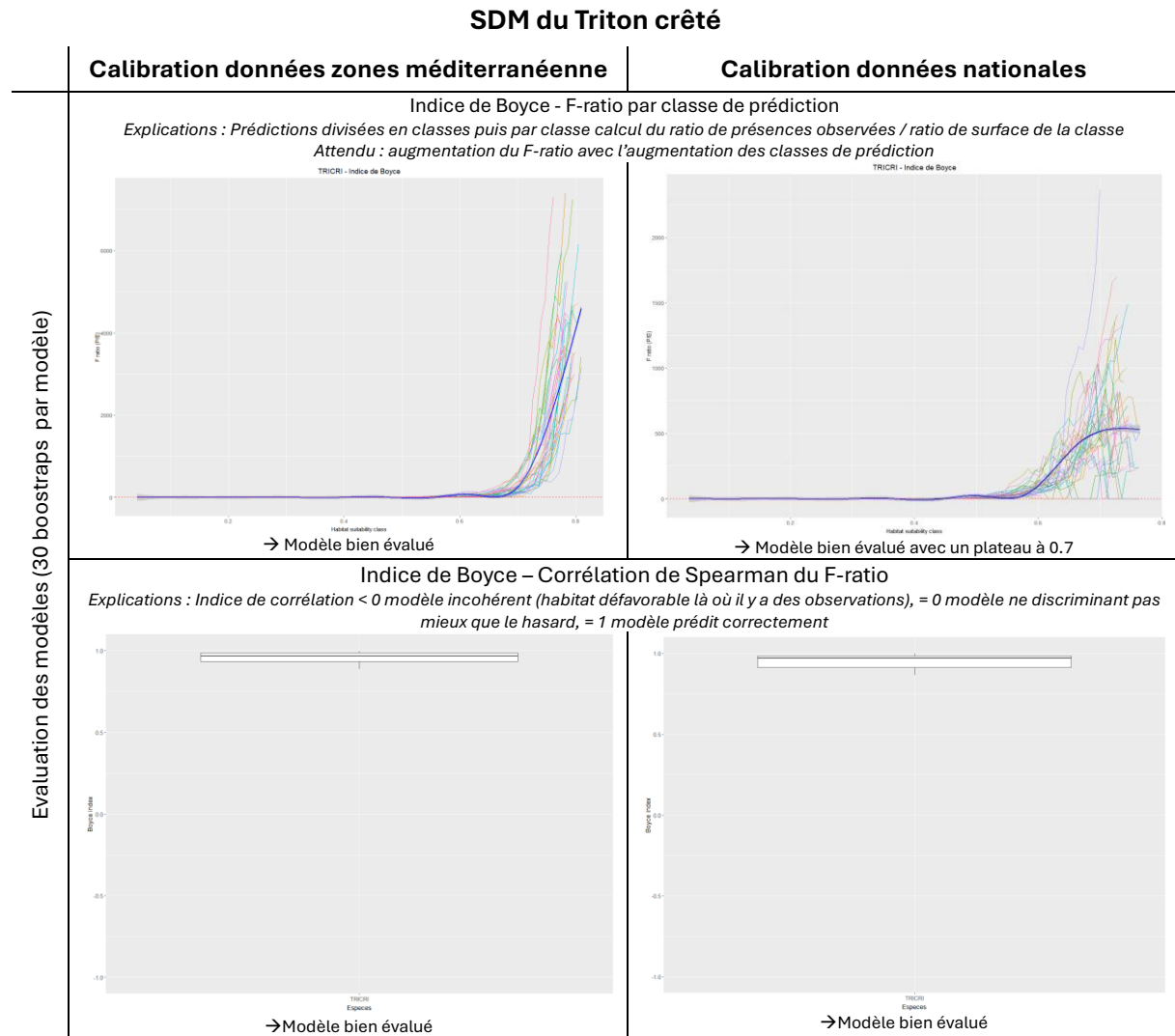
# Annexes

## Annexe 1 – Inter-distance des populations au sein des 5 départements considérés

Fichier joint : TRICRIMed-inter-distance-stations.xlsx

## Annexe 2 – Courbes de réponses et évaluation des SDM

Annexe 2.a – SDM de Triton crêté calibré à partir des données zone méditerranéenne (à gauche) et données nationales (à droite)



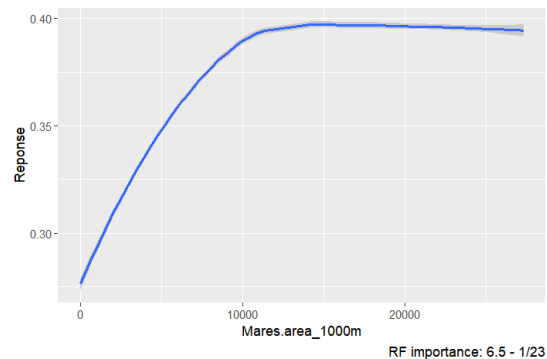
### Importance des variables – Random Forest SDM du Triton crêté

Ordre	Calibration données zone méditerranéenne		Calibration données nationales	
	Variable	Importance	Variable	Importance
1	Mares.area_1000m	6,5	CHELSA_bio13_1981.2010_50m	65,8
2	CHELSA_bio13_1981.2010_50m	5,8	CHELSA_bio9_1981.2010_50m	61,5
3	OSO2022.Cultures_permeables_1000m	4,9	Mares.area_1000m	51,2
4	CHELSA_bio14_1981.2010_50m	4,4	CHELSA_bio15_1981.2010_50m	50,0
5	CHELSA_bio15_1981.2010_50m	3,3	CHELSA_bio14_1981.2010_50m	42,5
6	CHELSA_bio8_1981.2010_50m	3,1	CHELSA_bio8_1981.2010_50m	42,0
7	CHELSA_bio9_1981.2010_50m	2,7	Elevation_50m	33,3
8	Elevation_50m	2,5	OSO2022.Cultures_defavorables_1000m	30,1
9	OSO2022.Milieux_fermes_1000m	2,1	Hedge.length_200m	24,1
10	OSO2022.Cultures_defavorables_1000m	1,8	Mares.area_200m	22,0
11	Mares.area_50m	1,6	OSO2022.Milieux_fermes_1000m	21,4
12	Mares.area_200m	1,6	ZH_prob_50m	20,2
13	ZH_prob_50m	1,4	OSO2022.Cultures_permeables_1000m	20,0
14	OSO2022.Milieux_ouverts_1000m	1,4	OSO2022.Milieux_ouverts_1000m	18,3
15	OSO2022.Milieux_fermes_50m	1,2	Mares.area_50m	17,6
16	Hedge.dist_50m	1,2	Hedge.dist_50m	13,0
17	Hedge.length_200m	1,0	OSO2022.Milieux_fermes_50m	12,8
18	OSO2022.Cultures_permeables_50m	1,0	OSO2022.Milieux_ouverts_50m	12,3
19	ZH_probS.dist_50m	0,9	Mares.dist_50m	10,5
20	OSO2022.Milieux_ouverts_50m	0,7	Hedge.length_50m	10,3
21	Mares.dist_50m	0,7	ZH_probS.dist_50m	10,2
22	Hedge.length_50m	0,6	OSO2022.Cultures_defavorables_50m	10,1
23	OSO2022.Cultures_defavorables_50m	0,6	OSO2022.Cultures_permeables_50m	4,5

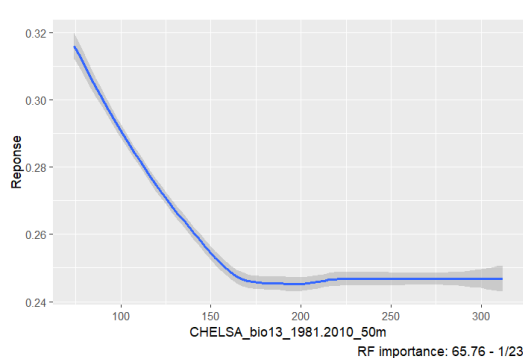
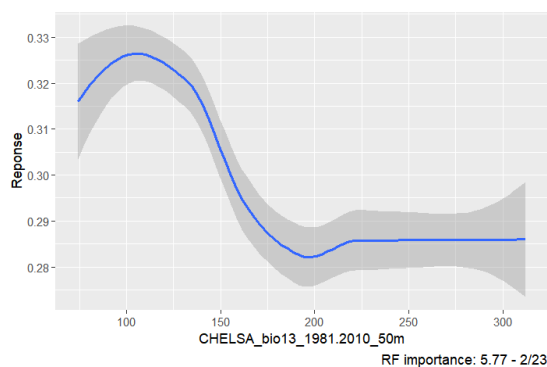
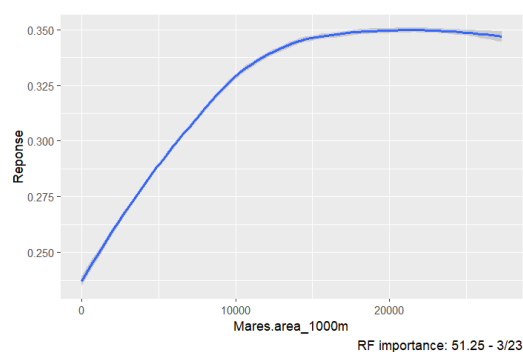
#### SDM du Triton crêté

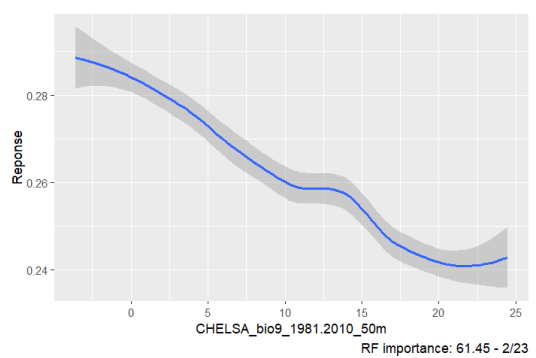
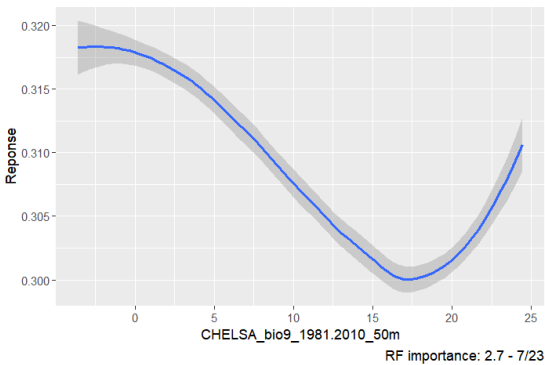
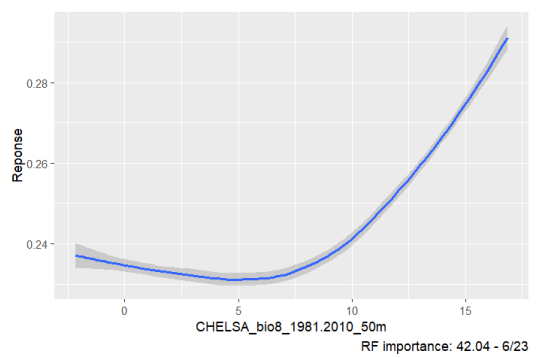
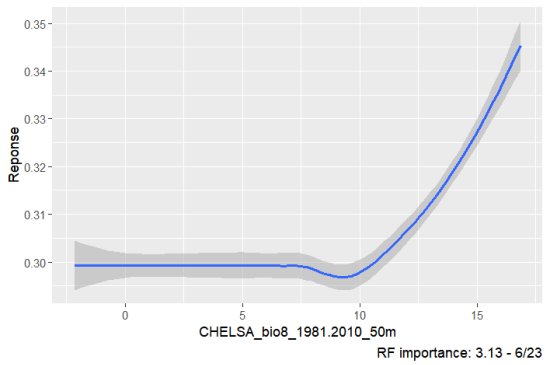
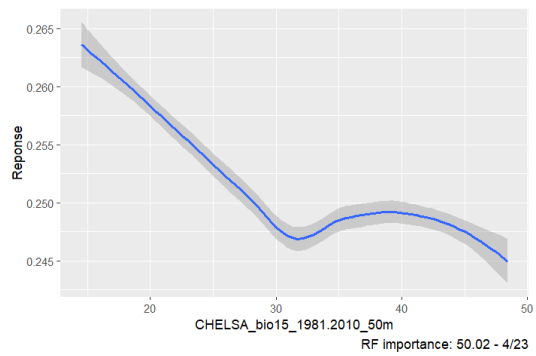
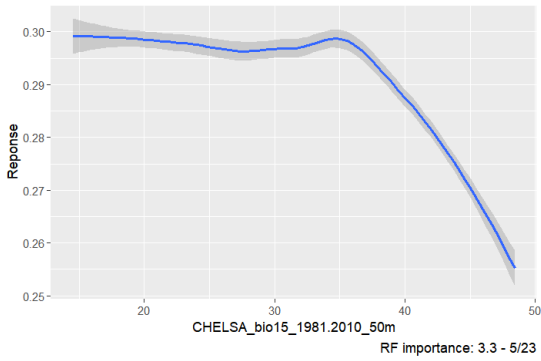
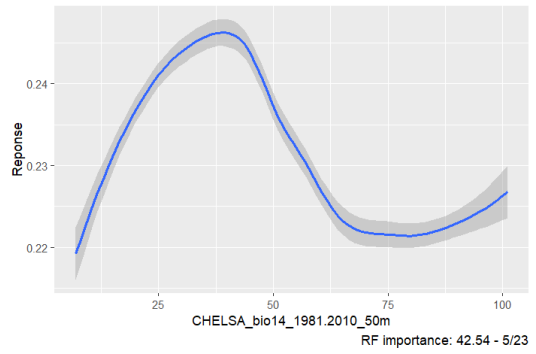
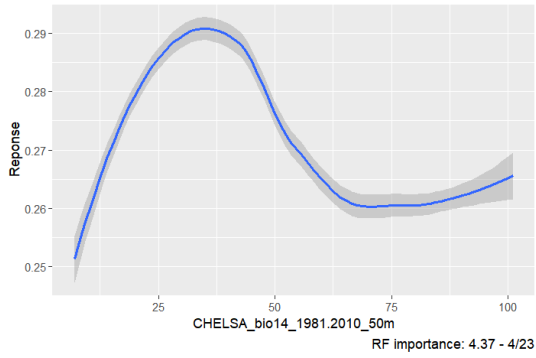
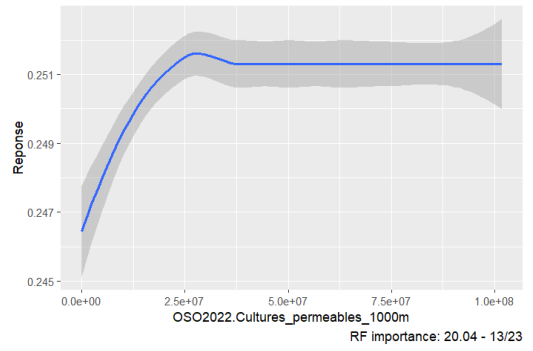
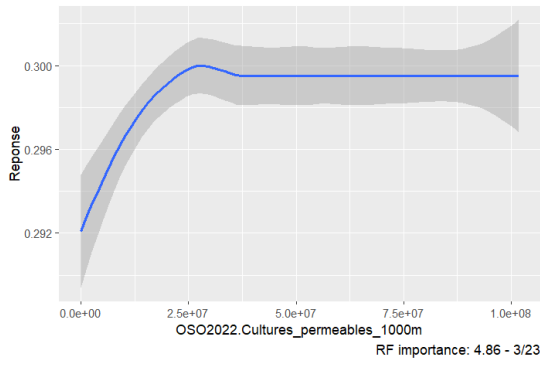
Courbes de réponses (+ ordre d'importances du Random Forest)

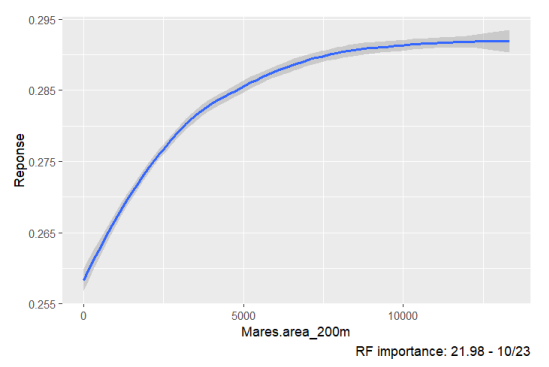
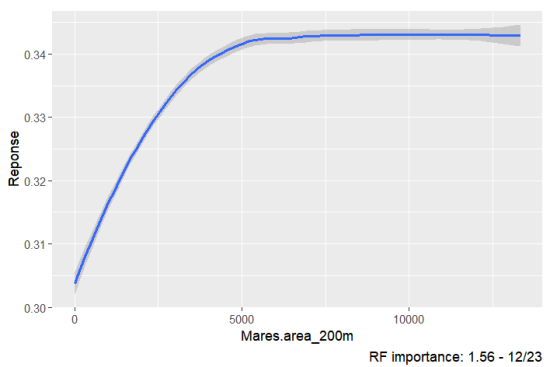
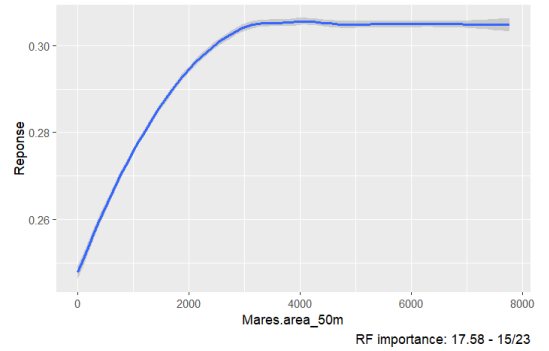
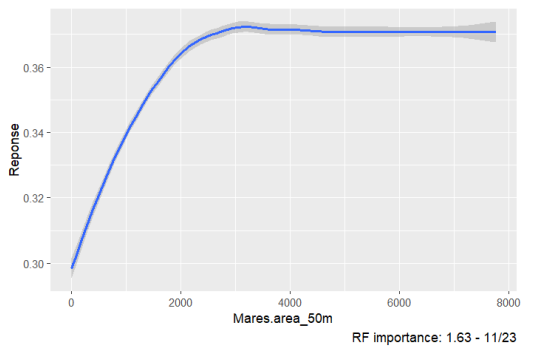
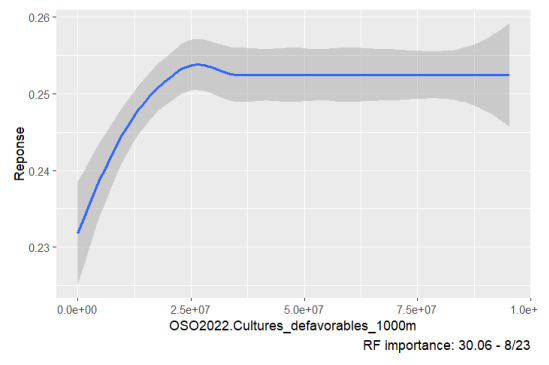
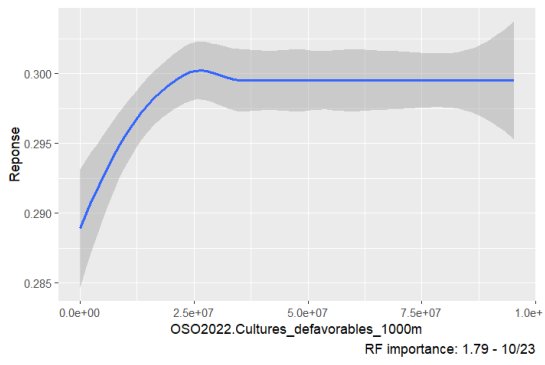
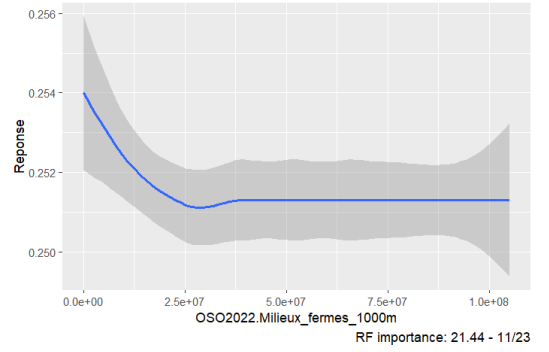
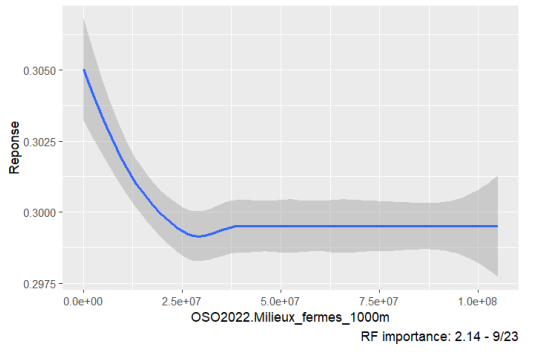
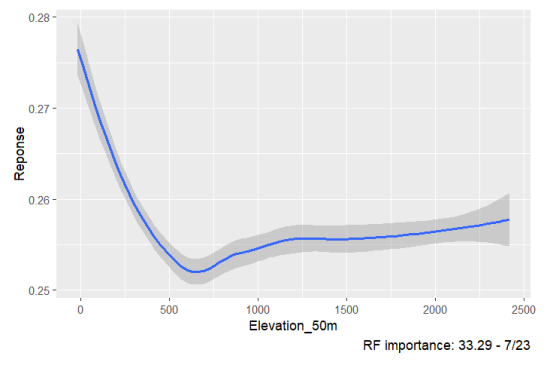
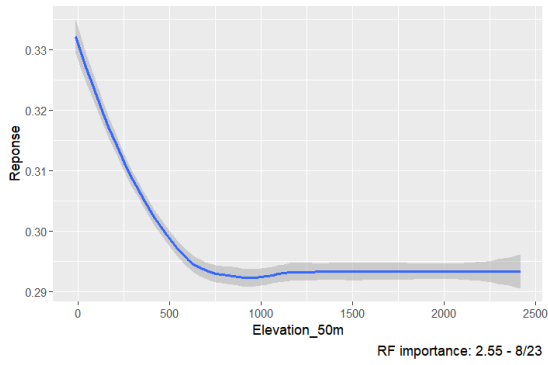
**Calibration données zones méditerranéenne**

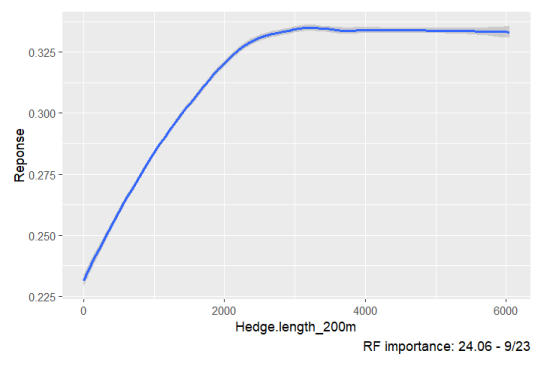
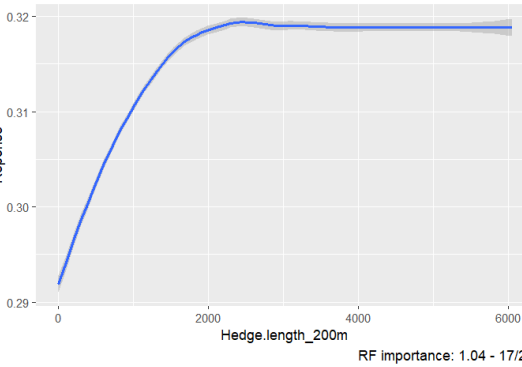
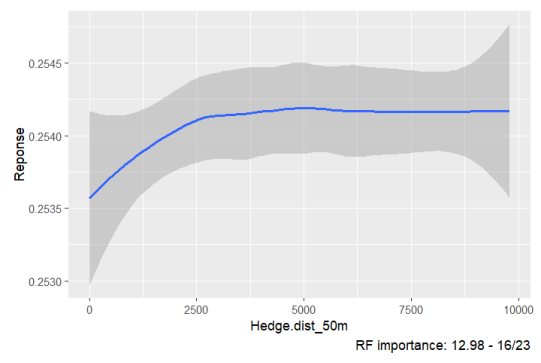
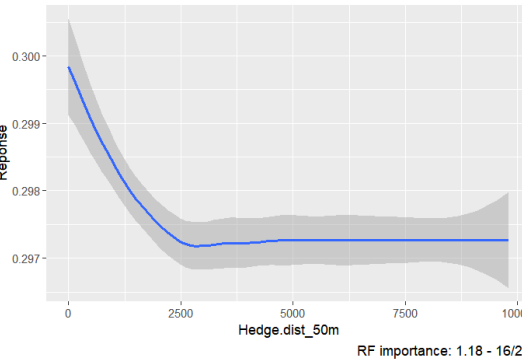
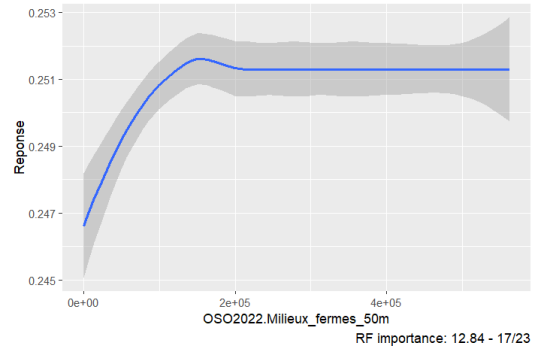
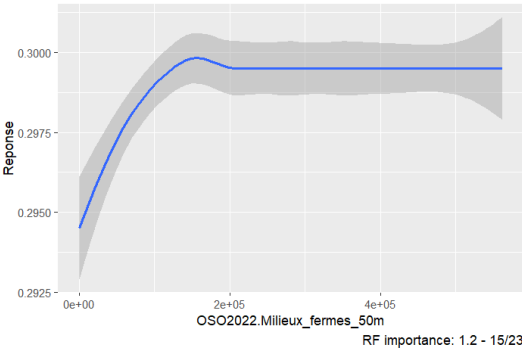
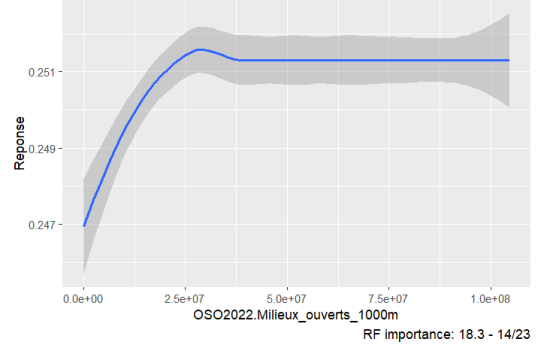
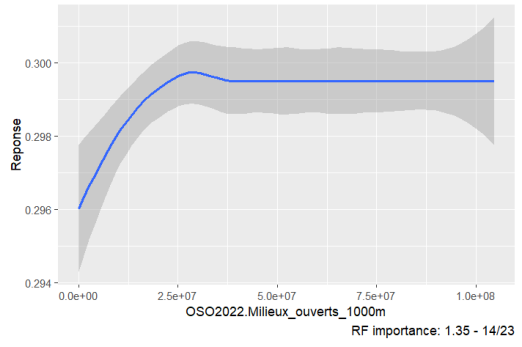
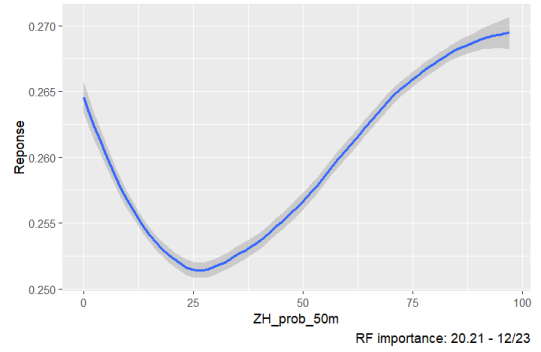
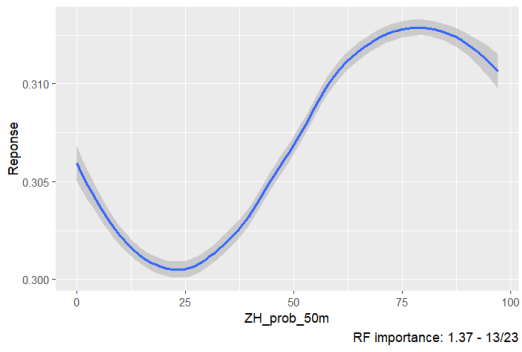


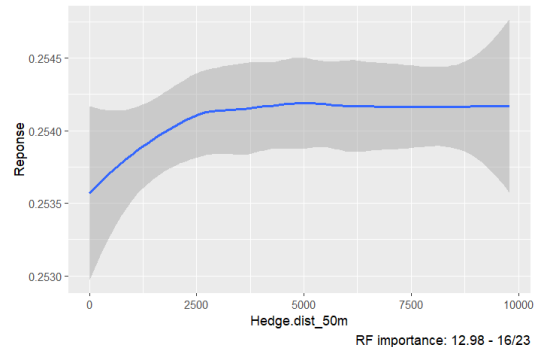
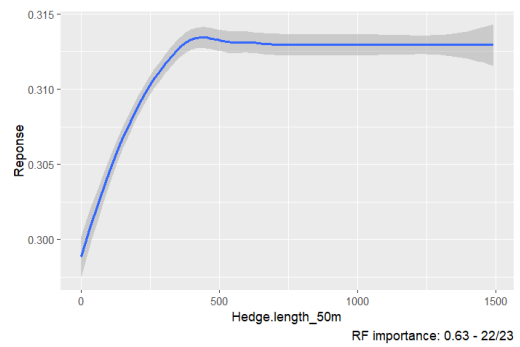
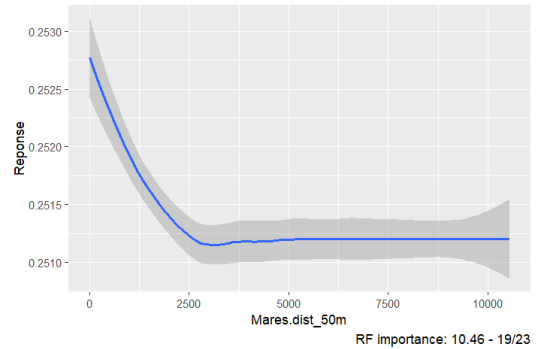
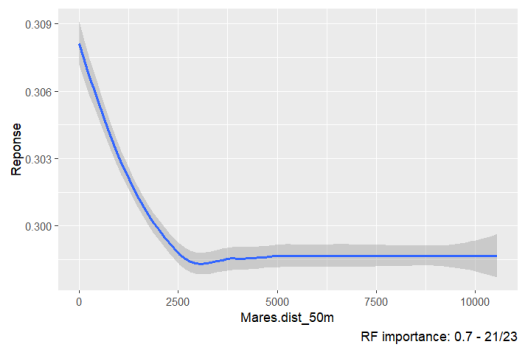
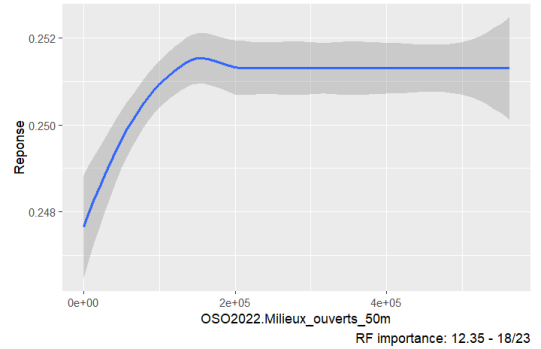
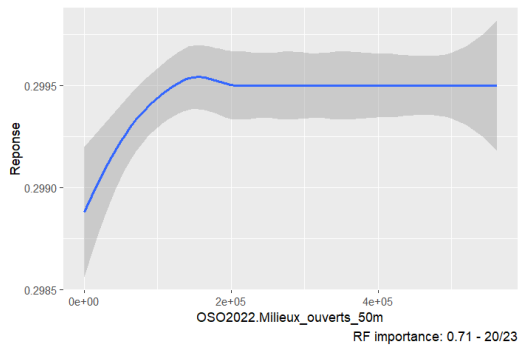
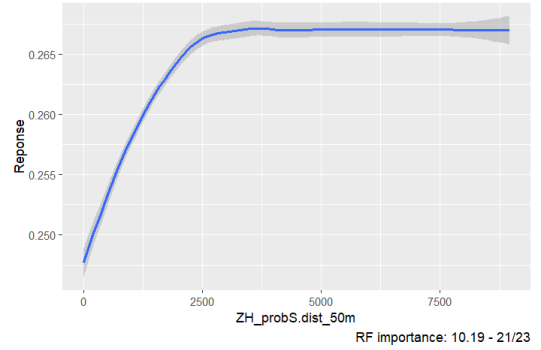
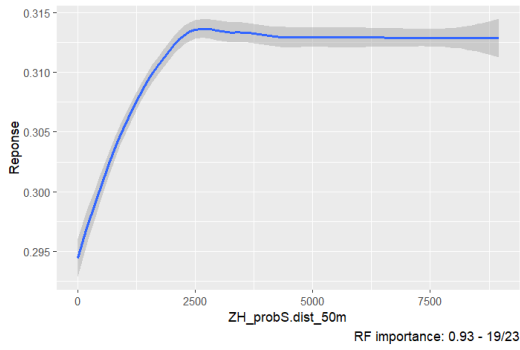
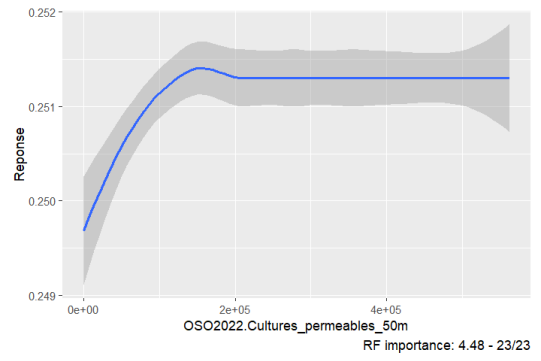
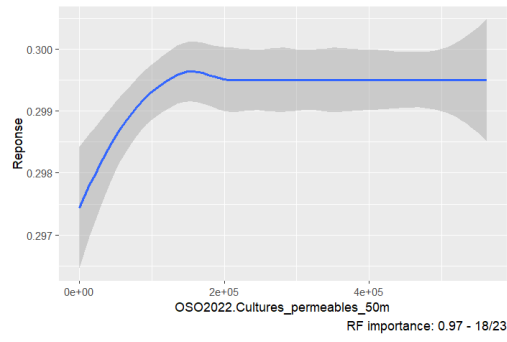
**Calibration données nationales**

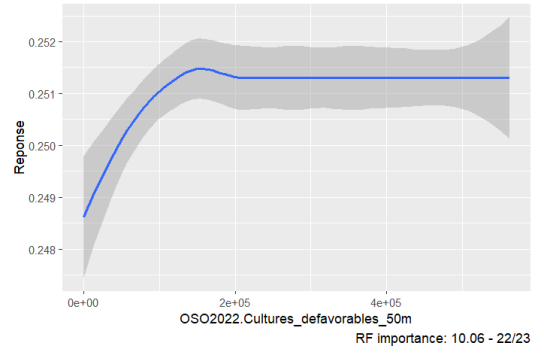
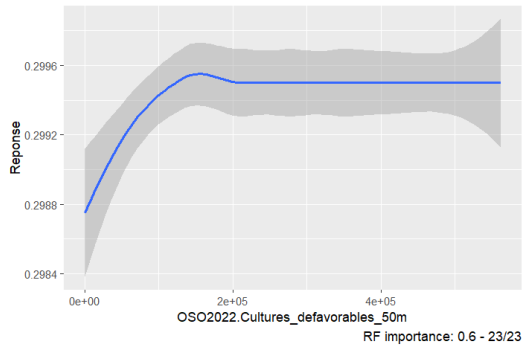






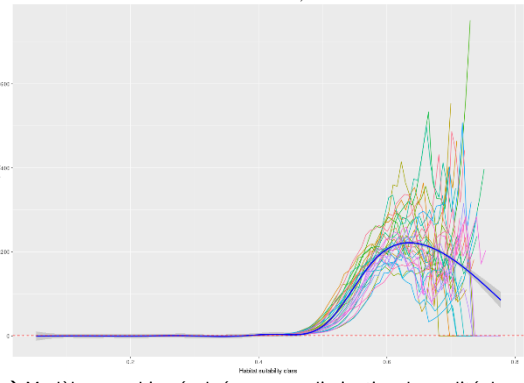
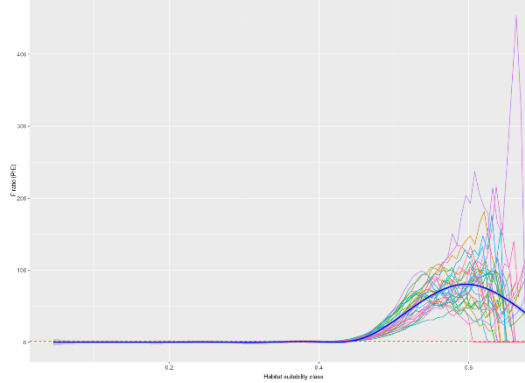
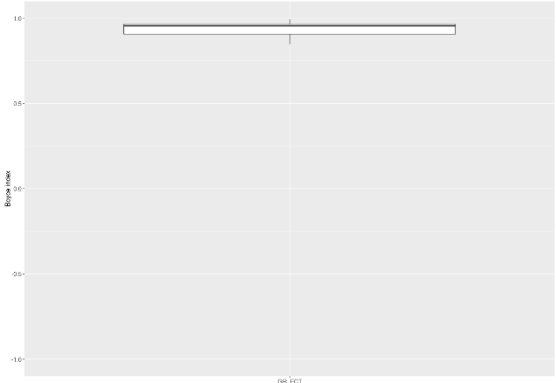
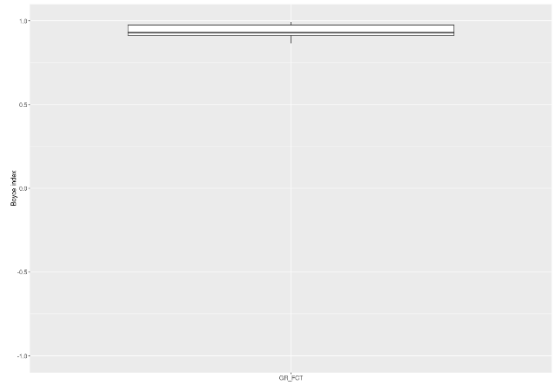






Annexe 2.b – SDM du groupe fonctionnel de Triton crêté (Triton crêté, Pélobate cultripède et Triton palmée) calibré à partir des données de zone méditerranéenne et nationales

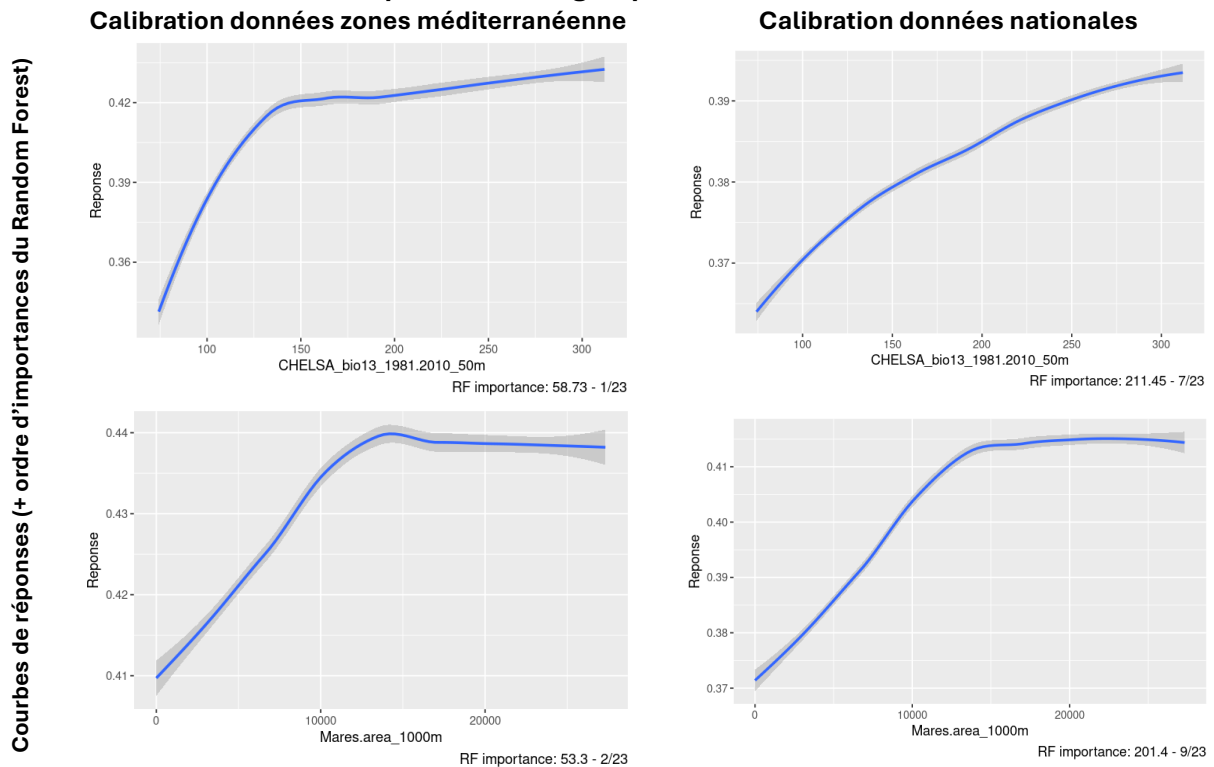
Evaluation des modèles – SDM groupe fonctionnel de Triton crêté

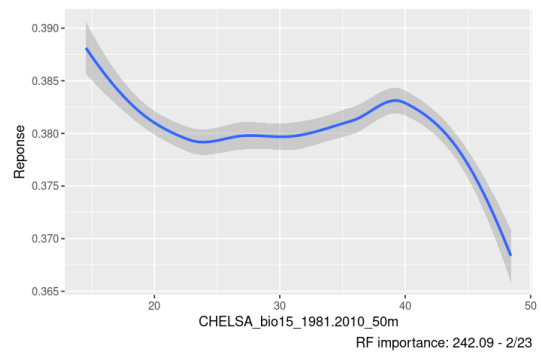
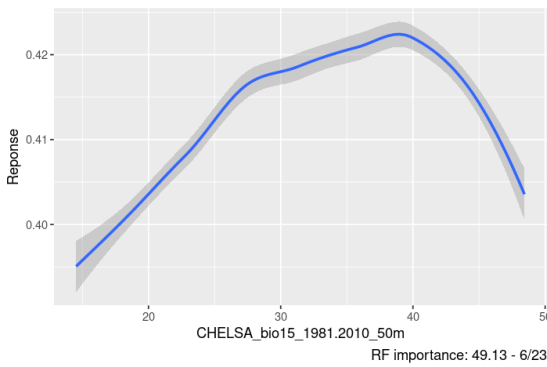
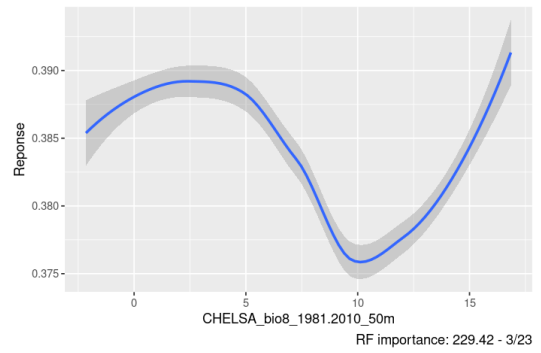
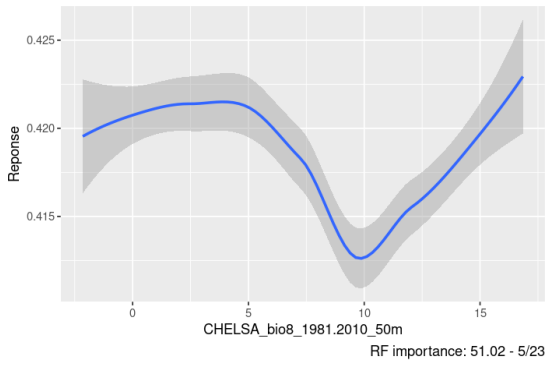
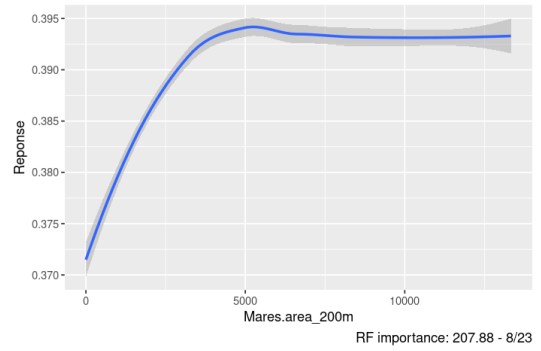
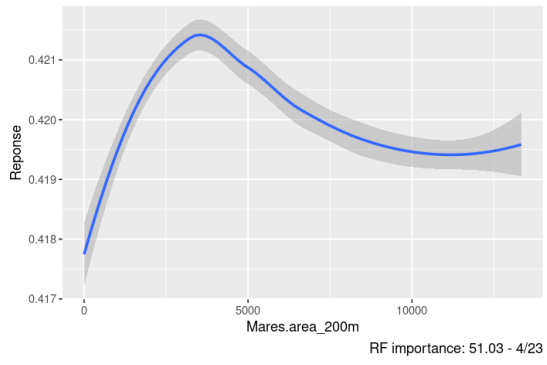
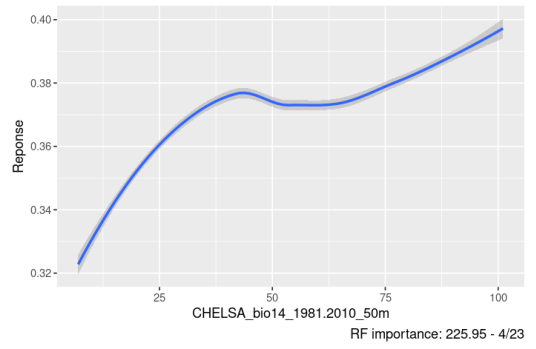
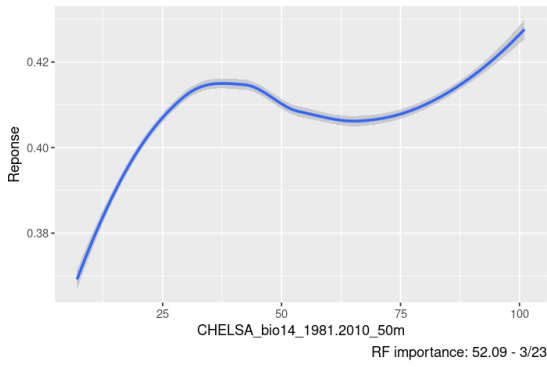
Evaluation des modèles (30 bootstraps par modèle)	Calibration données zones méditerranéenne	Calibration données nationales
	<p data-bbox="598 443 1050 470" style="text-align: center;">Indice de Boyce - F-ratio par classe de prédiction</p> <p data-bbox="300 470 1348 497" style="text-align: center;"><i>Explications : Prédictions divisées en classes puis par classe calcul du ratio de présences observées / ratio de surface de la classe</i></p> <p data-bbox="502 497 1145 524" style="text-align: center;"><i>Attendu : augmentation du F-ratio avec l'augmentation des classes de prédiction</i></p>  <p data-bbox="279 907 805 952">→ Modèle assez bien évalué avec une diminution de qualité des prédictions au-delà de 0.6</p>	<p data-bbox="598 443 1050 470" style="text-align: center;">Indice de Boyce - F-ratio par classe de prédiction</p> <p data-bbox="300 470 1348 497" style="text-align: center;"><i>Explications : Prédictions divisées en classes puis par classe calcul du ratio de présences observées / ratio de surface de la classe</i></p> <p data-bbox="502 497 1145 524" style="text-align: center;"><i>Attendu : augmentation du F-ratio avec l'augmentation des classes de prédiction</i></p>  <p data-bbox="837 907 1364 952">→ Modèle assez bien évalué avec une diminution de qualité des prédictions au-delà de 0.6</p>
<p data-bbox="550 952 1098 978" style="text-align: center;">Indice de Boyce – Corrélation de Spearman du F-ratio</p> <p data-bbox="268 978 1385 1028" style="text-align: center;"><i>Explications : Indice de corrélation &lt; 0 modèle incohérent (habitat défavorable là où il y a des observations), = 0 modèle ne discriminant pas mieux que le hasard, = 1 modèle prédit correctement</i></p>  <p data-bbox="454 1422 646 1444" style="text-align: center;">→Modèle bien évalué</p>	<p data-bbox="550 952 1098 978" style="text-align: center;">Indice de Boyce – Corrélation de Spearman du F-ratio</p> <p data-bbox="268 978 1385 1028" style="text-align: center;"><i>Explications : Indice de corrélation &lt; 0 modèle incohérent (habitat défavorable là où il y a des observations), = 0 modèle ne discriminant pas mieux que le hasard, = 1 modèle prédit correctement</i></p>  <p data-bbox="1029 1422 1220 1444" style="text-align: center;">→Modèle bien évalué</p>	

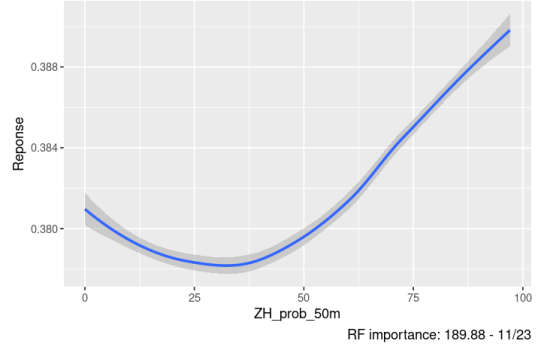
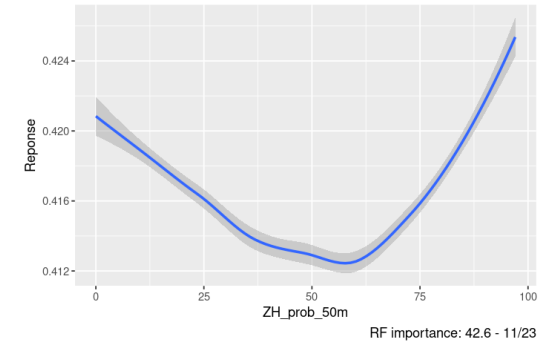
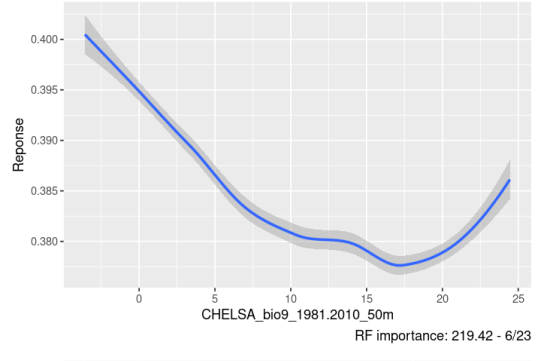
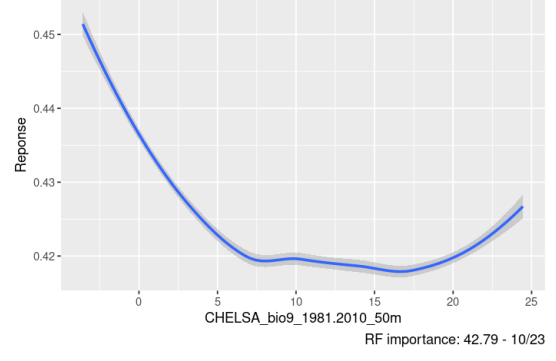
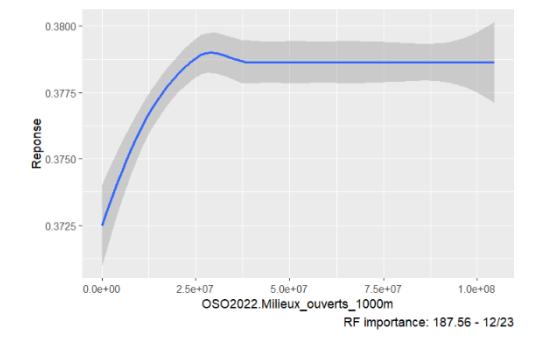
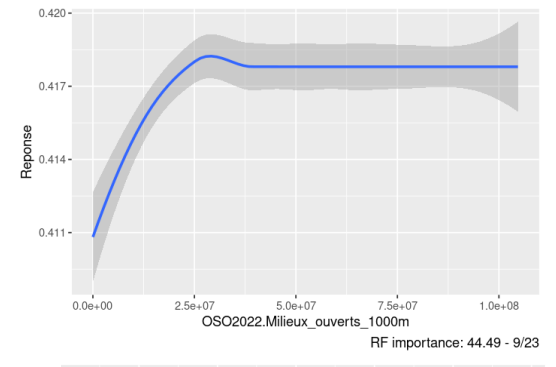
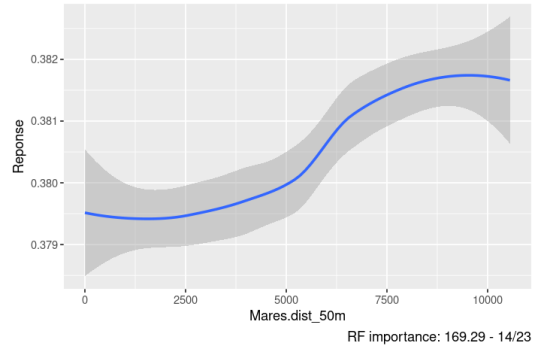
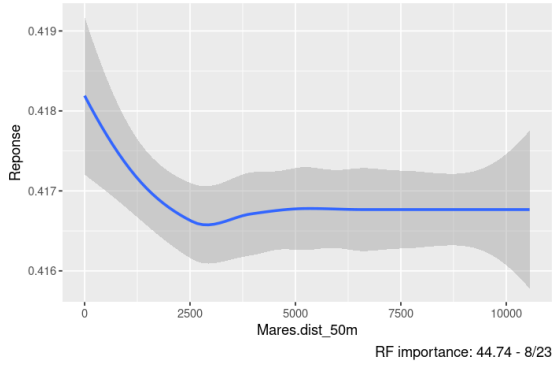
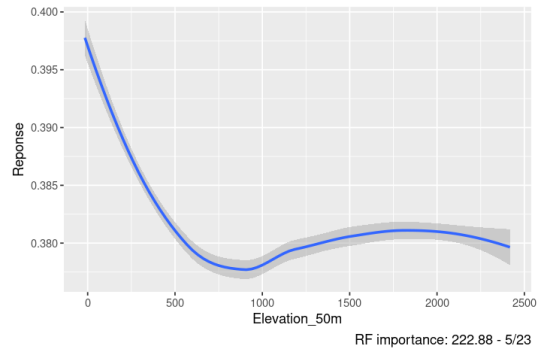
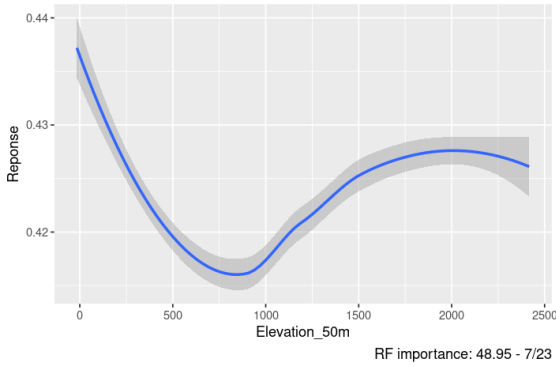
**Importance des variables – Random Forest  
SDM groupe fonctionnel de Triton crêté**

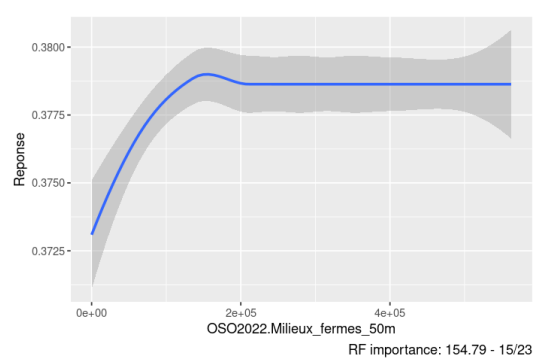
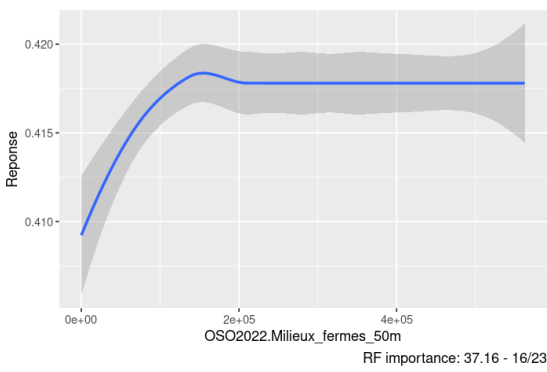
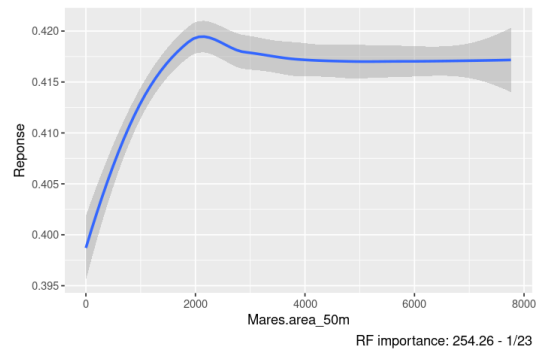
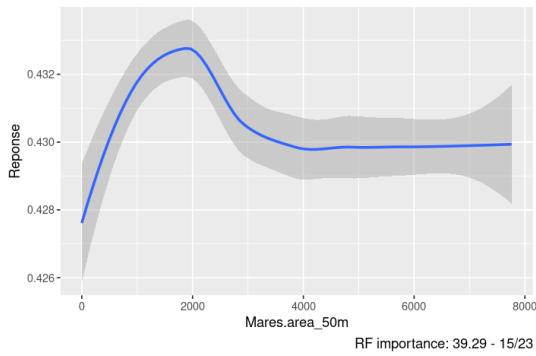
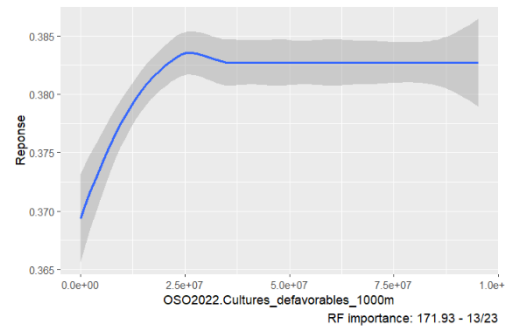
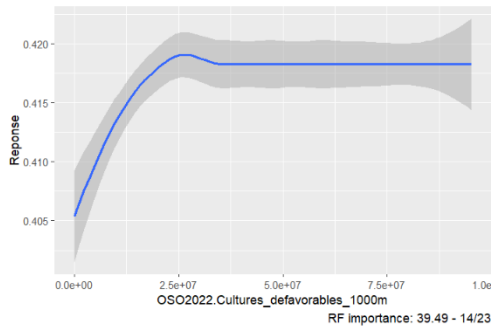
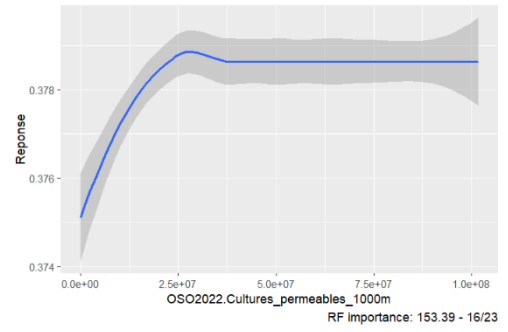
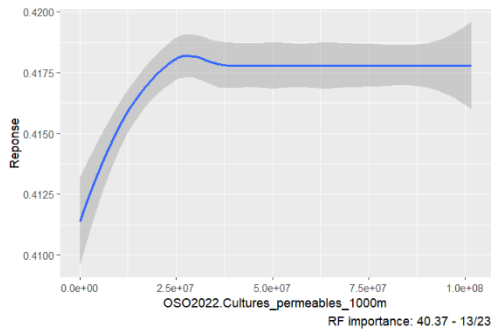
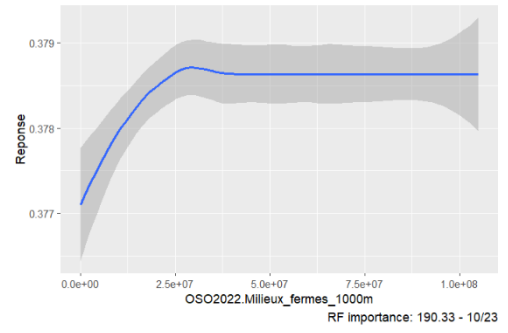
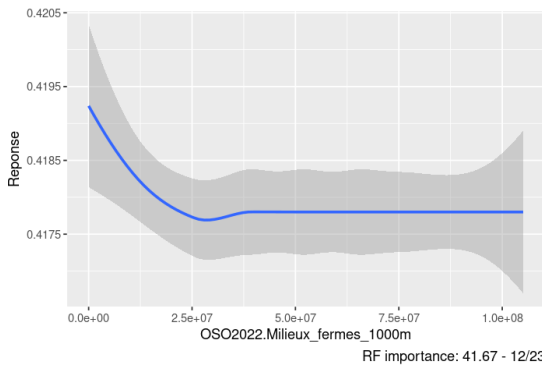
Ordre	Calibration données zone méditerranéenne		Calibration données nationales	
	Variable	Importance	Variable	Importance
1	CHELSA_bio13_1981.2010_50m	58,7	Mares.area_50m	254,3
2	Mares.area_1000m	53,3	CHELSA_bio15_1981.2010_50m	242,1
3	CHELSA_bio14_1981.2010_50m	52,1	CHELSA_bio8_1981.2010_50m	229,4
4	Mares.area_200m	51,0	CHELSA_bio14_1981.2010_50m	226,0
5	CHELSA_bio8_1981.2010_50m	51,0	Elevation_50m	222,9
6	CHELSA_bio15_1981.2010_50m	49,1	CHELSA_bio9_1981.2010_50m	219,4
7	Elevation_50m	48,9	CHELSA_bio13_1981.2010_50m	211,5
8	Mares.dist_50m	44,7	Mares.area_200m	207,9
9	OSO2022.Milieux_ouverts_1000m	44,5	Mares.area_1000m	201,4
10	CHELSA_bio9_1981.2010_50m	42,8	OSO2022.Milieux_fermes_1000m	190,3
11	ZH_prob_50m	42,6	ZH_prob_50m	189,9
12	OSO2022.Milieux_fermes_1000m	41,7	OSO2022.Milieux_ouverts_1000m	187,6
13	OSO2022.Cultures_permeables_1000m	40,4	OSO2022.Cultures_defavorables_1000m	171,9
14	OSO2022.Cultures_defavorables_1000m	39,5	Mares.dist_50m	169,3
15	Mares.area_50m	39,3	OSO2022.Milieux_fermes_50m	154,8
16	OSO2022.Milieux_fermes_50m	37,2	OSO2022.Cultures_permeables_1000m	153,4
17	ZH_probS.dist_50m	32,5	Hedge.length_200m	133,6
18	Hedge.dist_50m	29,0	Hedge.dist_50m	121,7
19	OSO2022.Milieux_ouverts_50m	26,5	OSO2022.Milieux_ouverts_50m	117,9
20	Hedge.length_200m	26,4	ZH_probS.dist_50m	105,2
21	OSO2022.Cultures_permeables_50m	19,6	Hedge.length_50m	63,7
22	Hedge.length_50m	13,2	OSO2022.Cultures_defavorables_50m	61,8
23	OSO2022.Cultures_defavorables_50m	10,4	OSO2022.Cultures_permeables_50m	46,0

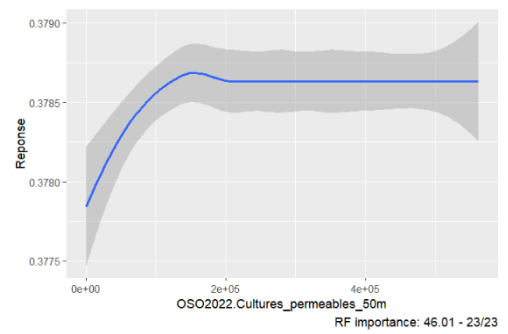
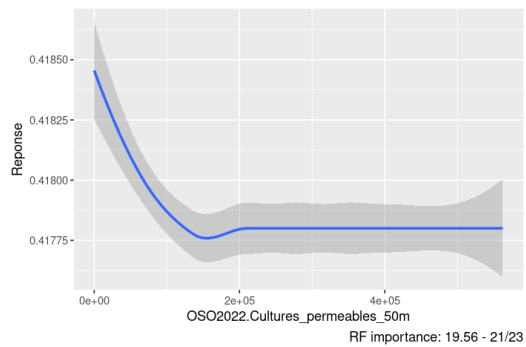
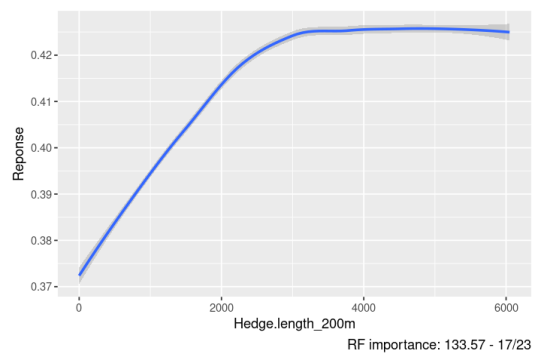
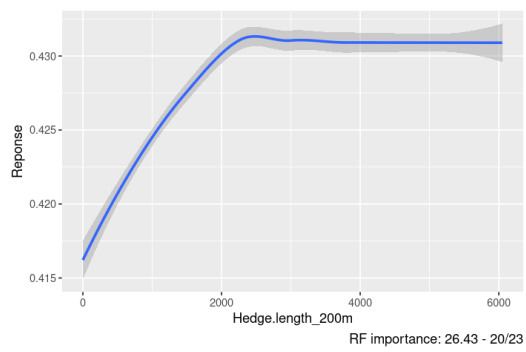
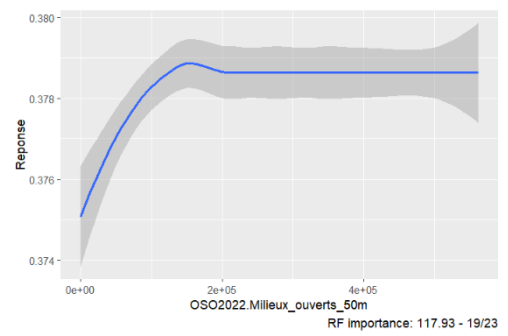
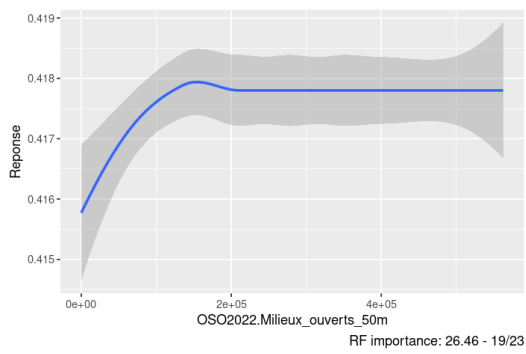
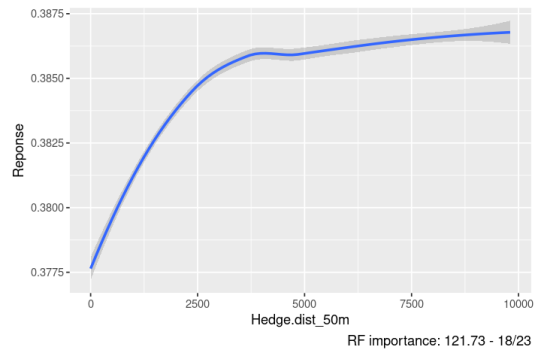
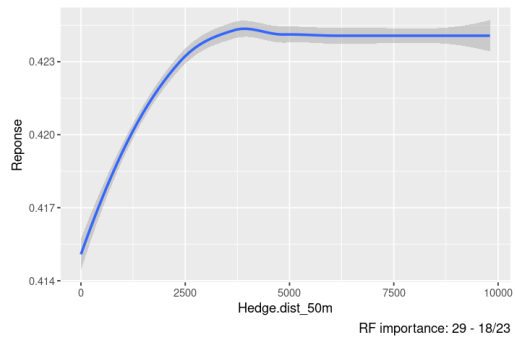
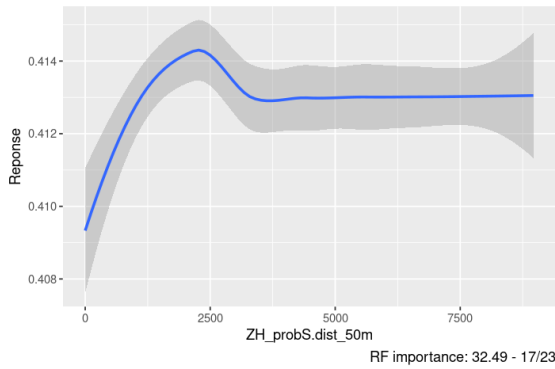
**Courbes de réponses - SDM groupe fonctionnel de Triton crêté**

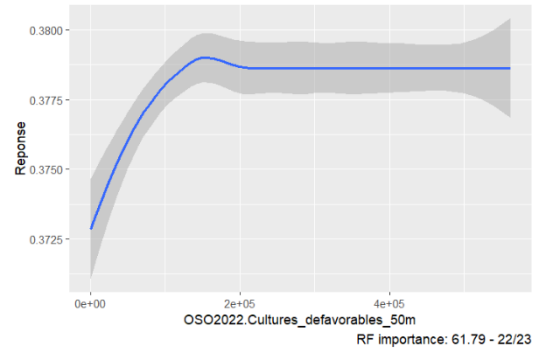
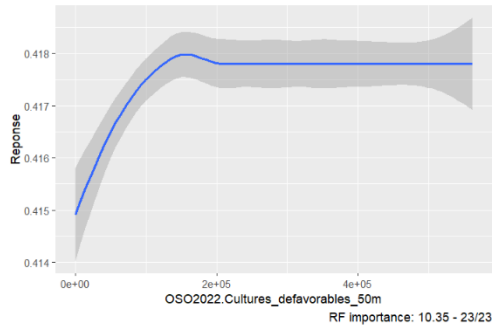
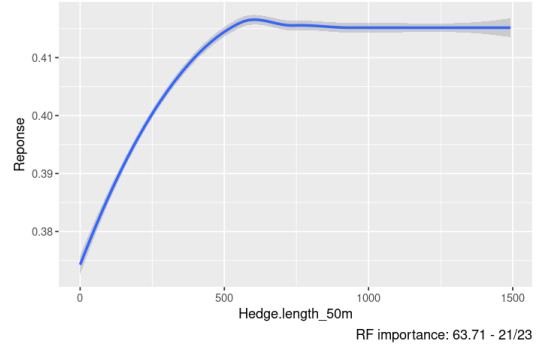
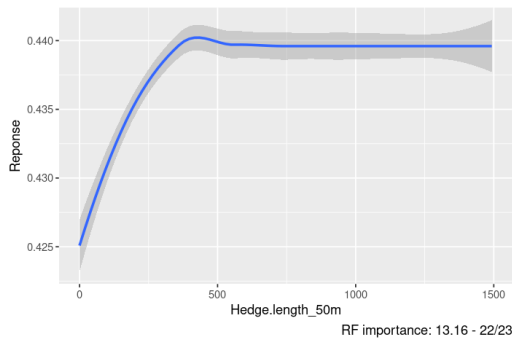






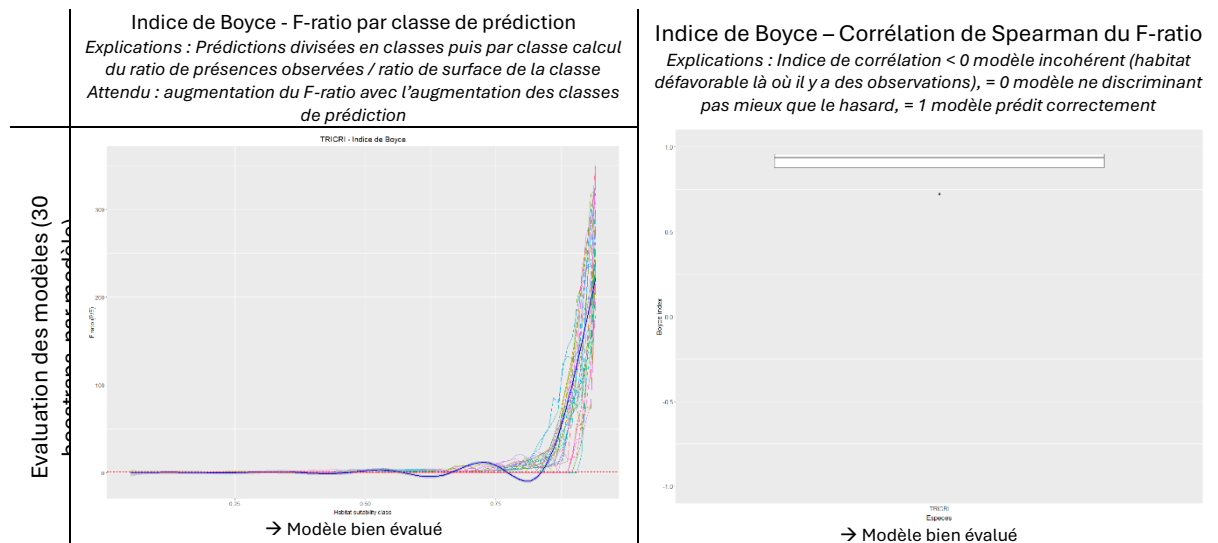






2.c – SDM bioclimatique de Triton crêté calibré à partir des données nationale et prédictions climatiques futures sur la zone méditerranéenne.

**SDM bioclimatique du Triton crêté - Calibration données nationales**

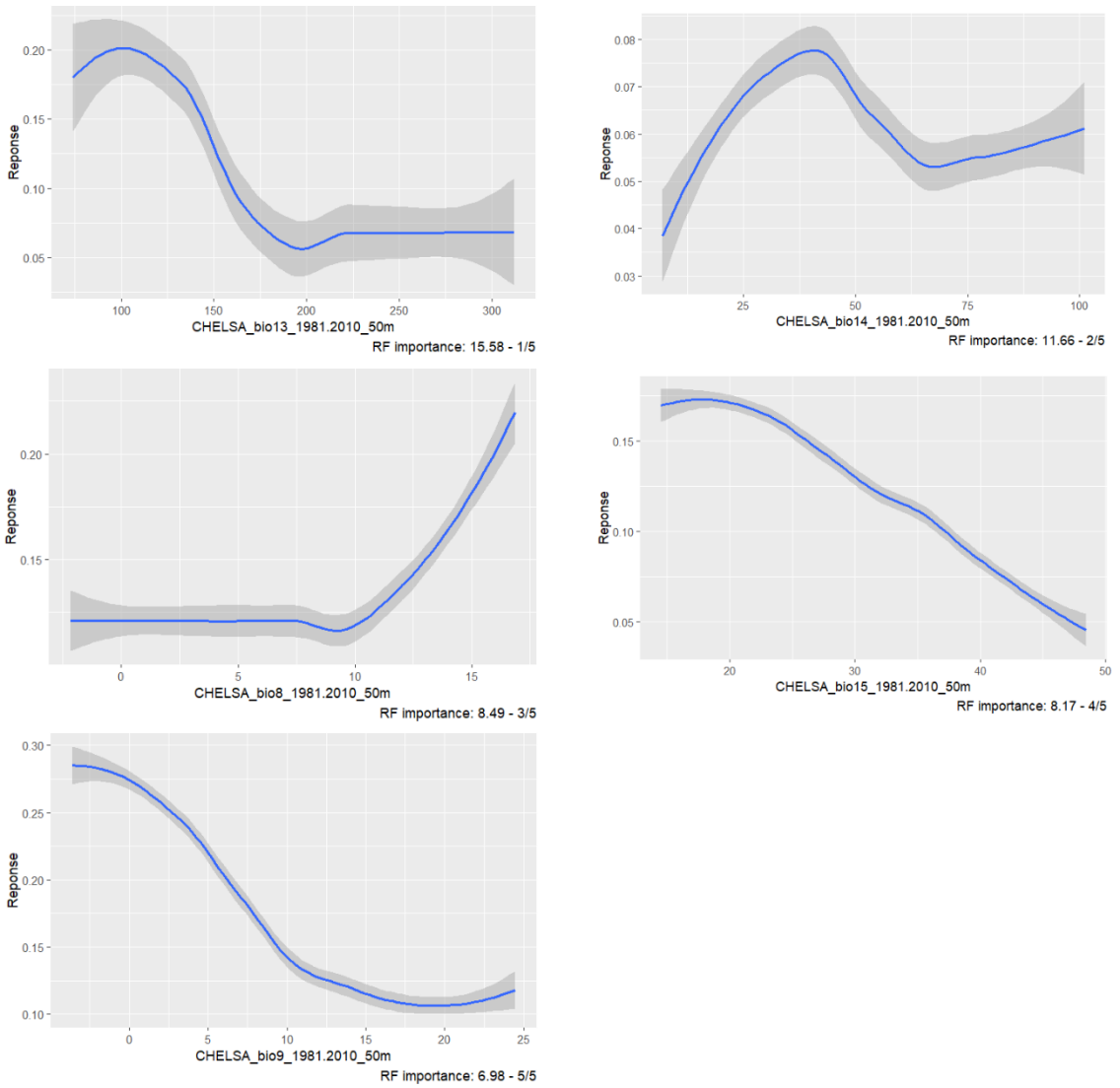


**Importance des variables – Random Forest  
SDM bioclimatique du Triton crêté**

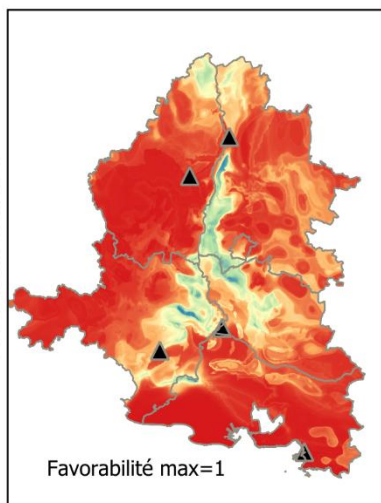
Ordre	Variable	Importance
1	CHELSA_bio13_1981.2010_50m	15,6
2	CHELSA_bio14_1981.2010_50m	11,7
3	CHELSA_bio8_1981.2010_50m	8,5
4	CHELSA_bio15_1981.2010_50m	8,2
5	CHELSA_bio9_1981.2010_50m	7,0

**Courbes de réponses - SDM bioclimatique du Triton crêté**

Courbes de réponses (+ ordre d'importances du Random Forest)



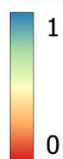
Prédiction actuelle



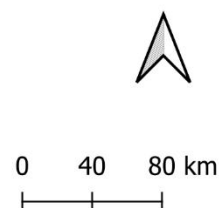
## Prédiction de la favorabilité des habitats du Triton crêté vis-à-vis des changements climatiques

- Calibrée sur données nationales -

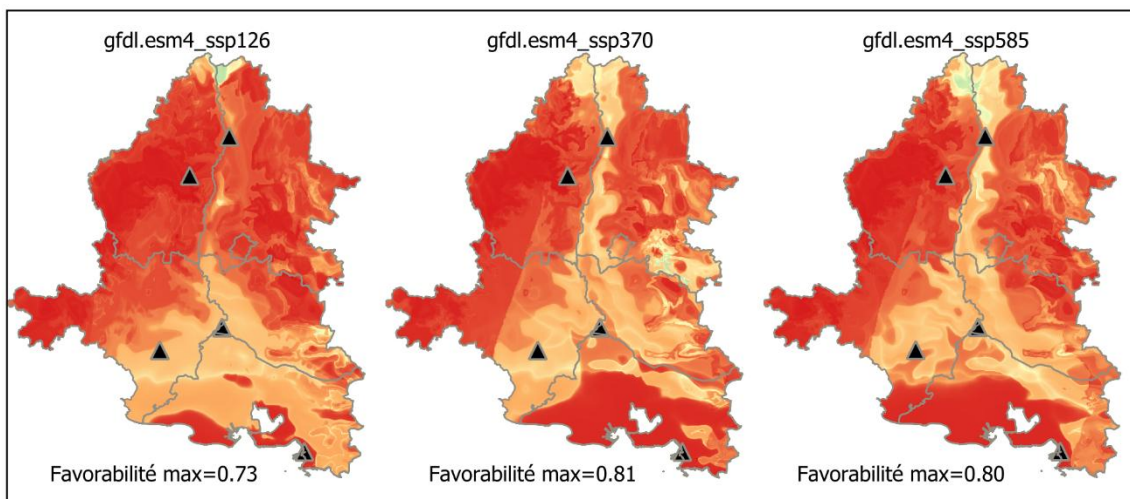
Favorabilité



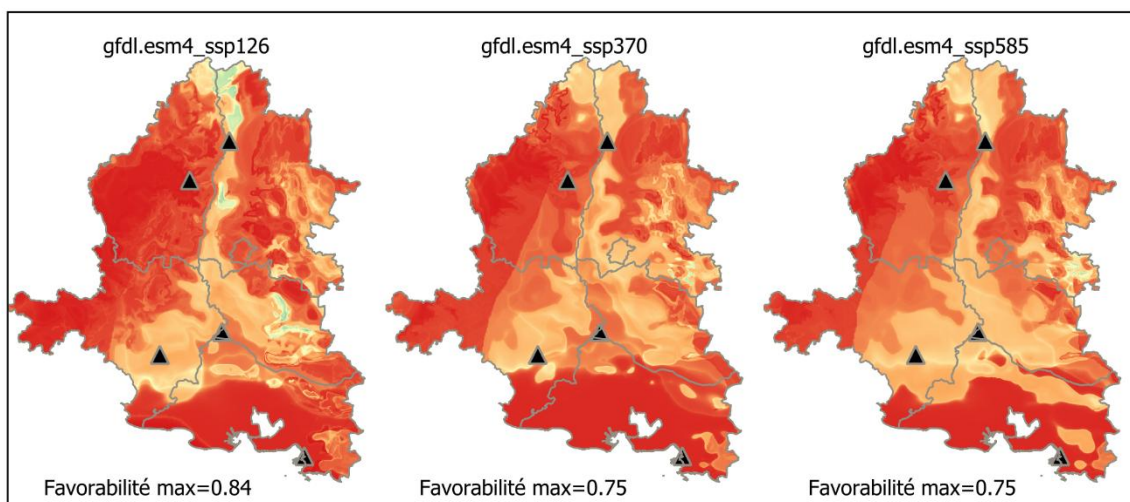
▲ Préfectures  
□ Départements



Prédiction: 2041 -2070



Prédiction: 2071 -2100



## Annexe 3 – Comparaison des SDM

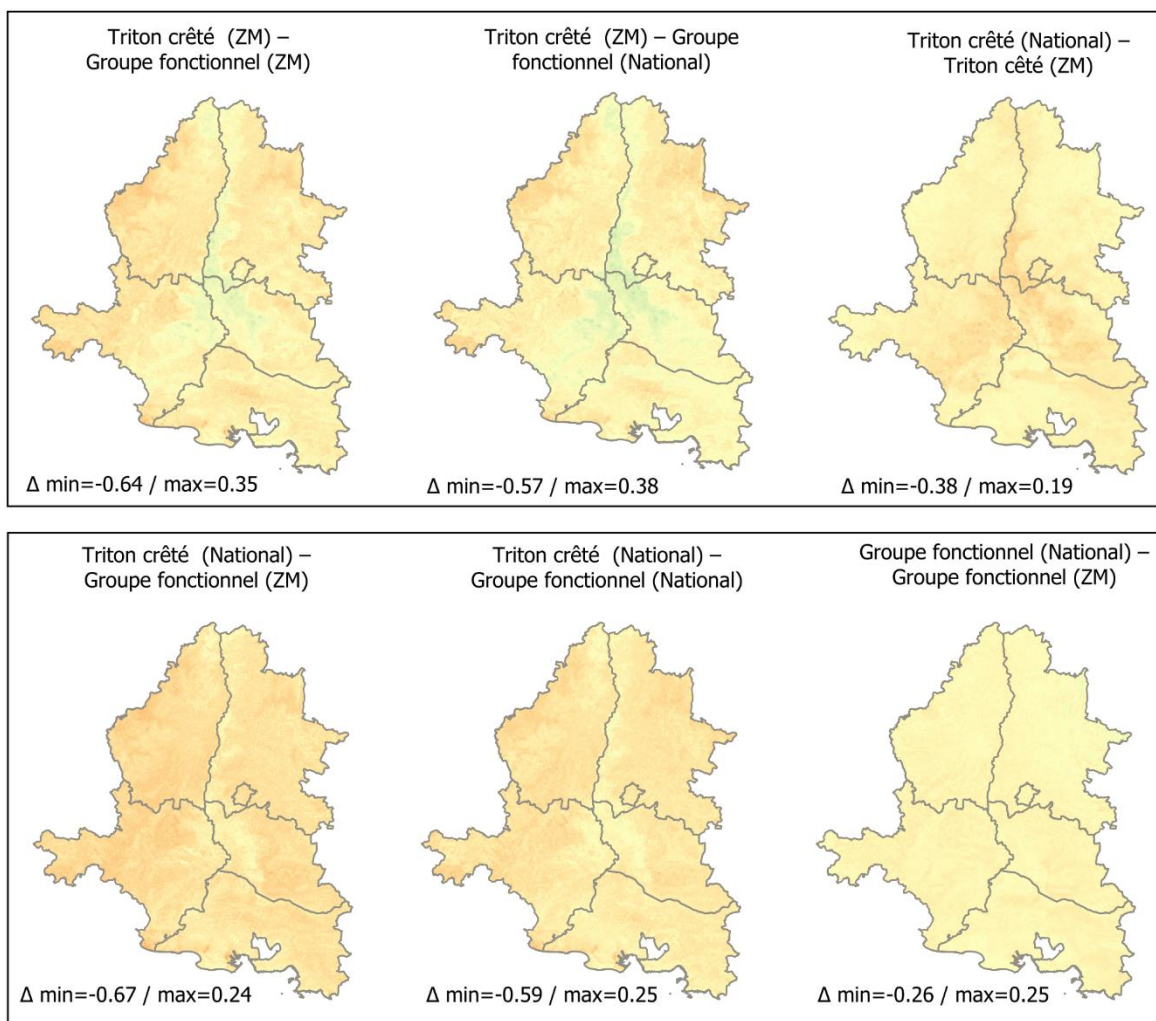
Les quatre modèles ont été comparés entre eux :

- modèle TRICRI\_N : calibration sur les données nationales de Triton crêté,
- modèle TRICRI\_ZM : calibration sur les données de zone méditerranéenne de Triton crêté,
- modèle GPFCT-N : calibration sur les données nationales du groupe fonctionnel de Triton crêté et
- GPFCT-ZM : calibration sur les données de zone méditerranéenne du groupe fonctionnel de Triton crêté

*Annexe 3.a – Indice de comparaison des cartes : « Cor. S » corrélation de Spearman et « Ind. D » indice de recouvrement de Schoener's D.*

Modèles	TRICRI National		TRICRI ZM		GP_FCT National		GP_FCT ZM	
	Cor. S	Ind. D	Cor. S	Ind. D	Cor. S	Ind. D	Cor. S	Ind. D
TRICRI National								
TRICRI ZM	0.90	0.89						
GP_FCT National	0.79	0.83	0.66	0.85				
GP_FCT ZM	0.75	0.82	0.72	0.86	0.90	0.95		

## Analyses des différences entre modèles de favorabilité d'habitat



0 40 80 km

$\Delta$  Favorabilité\*



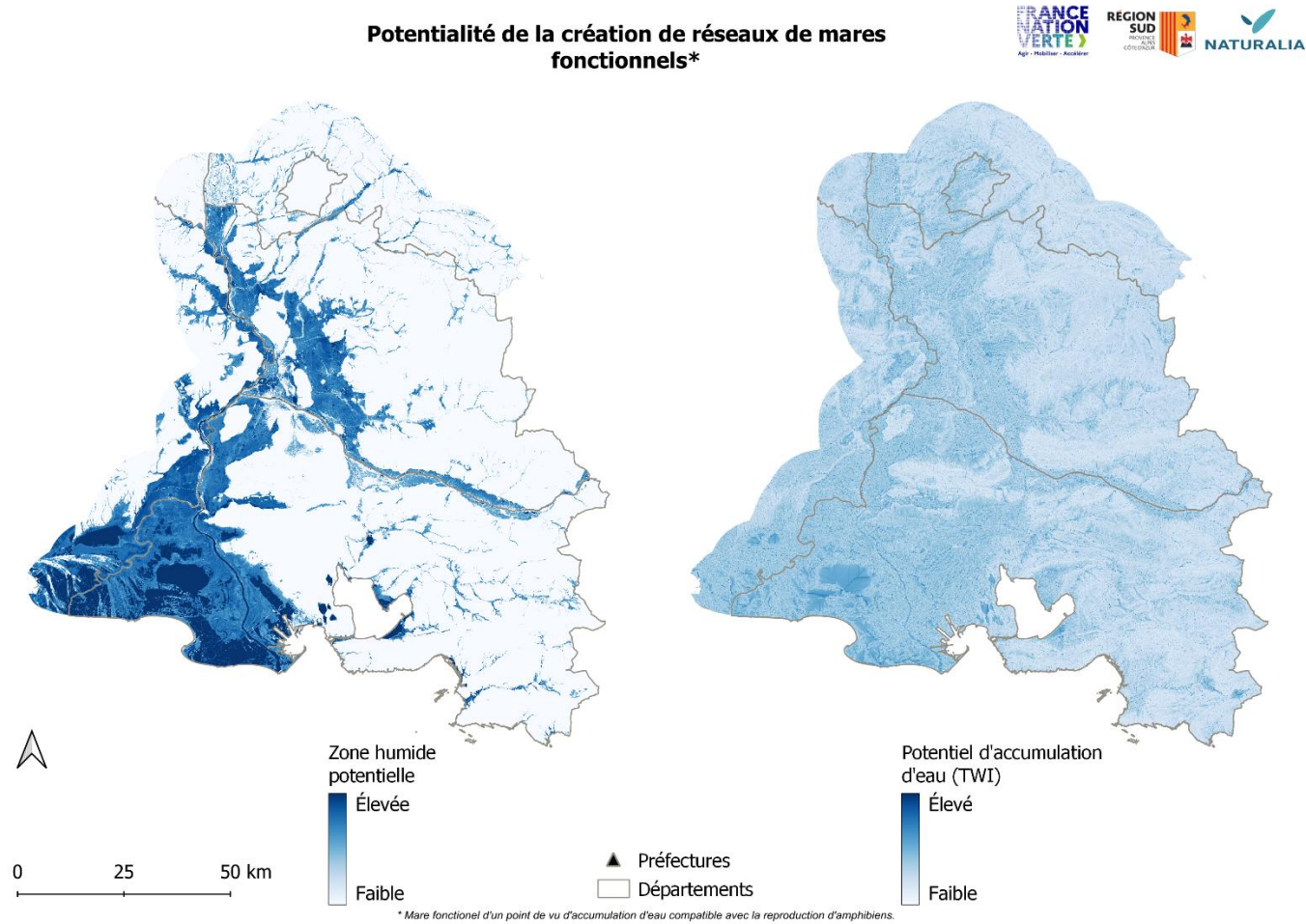
-1 1

\*  $\Delta$  Favorabilité = Modèle 1 – Modèle 2

□ Départements

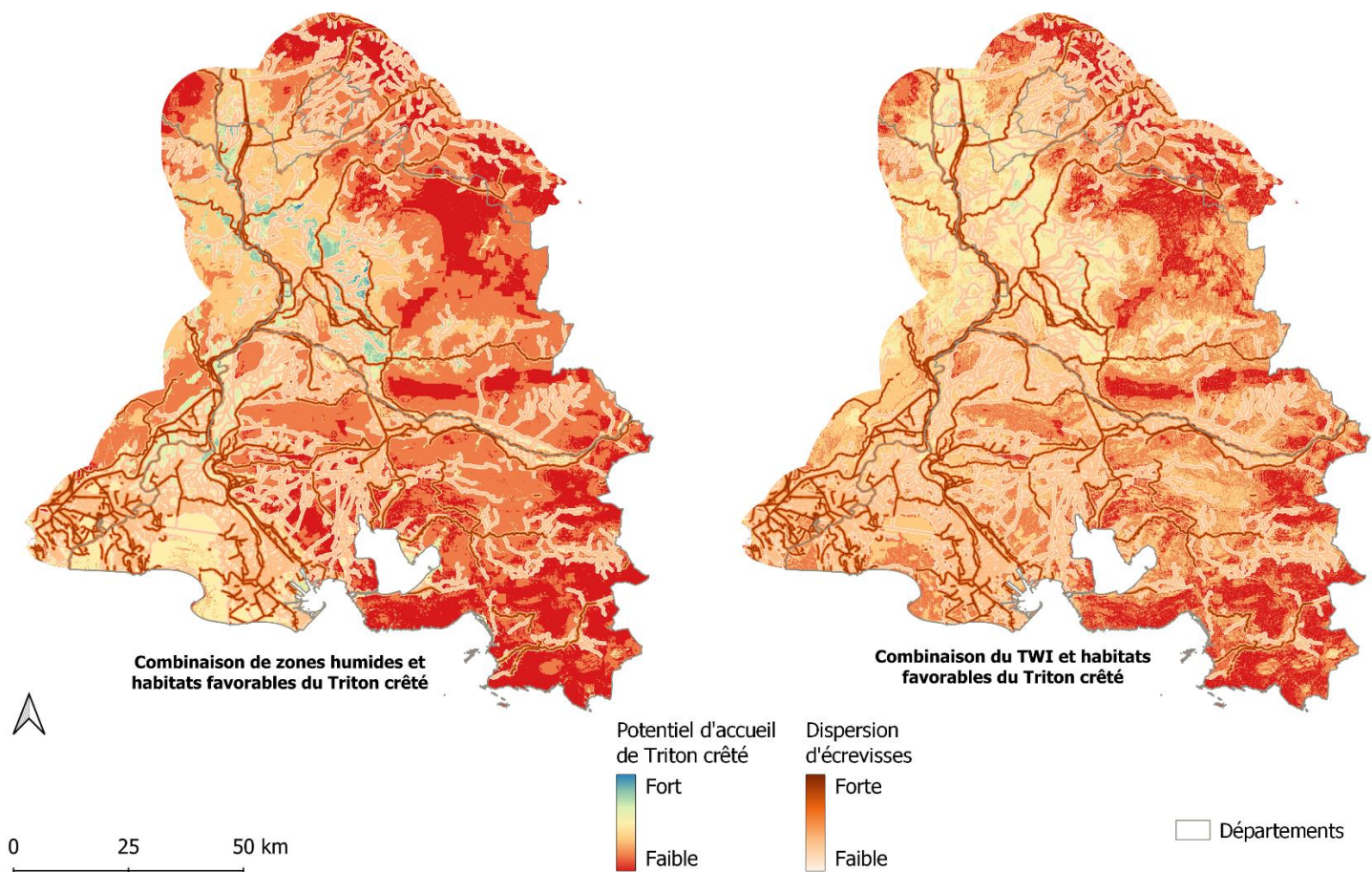
## Annexe 4 – Pré-identification des secteurs à étudier pour la translocation du Triton crêté

Annexe 4.a – Potentiel de création de réseaux de mares fonctionnels (hydro période compatible avec la reproduction) basée sur la présence de zone humide potentielle ou du potentielle d'accumulation d'eau - Figure 18 sans la dispersion potentielle d'écrevisses exotiques.



Annexe 4.b – Favorabilité des habitats de Triton crêté (catégorisés en 4 classes de 0 à 3) additionnés à la potentialité de création de mares fonctionnelles (zone humide potentielle ou TWI catégorisés en 4 classes égales de 0 à 3). Figure 19 avec la dispersion potentielle d'écrevisses exotiques.

**Favorabilité des habitats de Triton crêté additionnées à la potentialité de création de réseaux de mares fonctionnelles\***



\*Mares fonctionnelles d'un point de vu d'accumulation d'eau compatible avec la reproduction d'amphibiens.