

Mémoire

Auteur : Beaumariage, Anaïs

Promoteur(s) : Michaux, Johan; 856

Faculté : Faculté des Sciences

Diplôme : Master en biologie des organismes et écologie, à finalité spécialisée en biologie de la conservation : biodiversité et gestion

Année académique : 2022-2023

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/18928>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.



Université de Liège

Faculté des sciences - Département Biologie, Écologie, Évolution

Laboratoire de Génétique de la Conservation (GeCoLab)

Structuration, diversité et flux génétiques des populations wallonnes de tritons crêtés (*Triturus cristatus*). Implications pour leur conservation.



Mémoire de fin d'études présenté par **Anaïs BEAUMARIAGE**

En vue de l'obtention du grade de **Master en Biologie des organismes et écologie, orientation spécialisée en Biologie de la conservation, biodiversité et gestion**

Année académique 2022-2023

Promoteur : Johan MICHAUX

Membres du jury : Mathieu DENOËL, Jean-Yves PAQUET

REMERCIEMENTS

Je souhaite exprimer ma gratitude envers l'ensemble du personnel du laboratoire de génétique de la conservation pour m'avoir accueillie au sein de leur équipe au cours de ces derniers mois. Je tiens tout particulièrement à remercier Monsieur Michaux pour m'avoir offert l'opportunité de travailler sur ce projet passionnant et pour sa contribution précieuse à son amélioration. Sa guidance et ses conseils ont été d'une grande valeur pour moi tout au long de cette expérience.

Lise-Marie, merci pour le partage de ton expérience et ton aide indispensable lors des échantillonnages. Comment pourrais-je ne pas te mentionner Alix, sans qui ce mémoire ne serait pas celui qu'il est. Merci pour tout, ton soutien, tes conseils, ta disponibilité et les souvenirs mémorables que nous avons partagé sur le terrain. Hellyne, merci pour ton adhésion dans la team triton, ta bonne humeur et ton efficacité redoutable pour les manipulations de laboratoire, tu m'as appris beaucoup plus que tu ne le penses. Je souhaite également remercier Chloé, Adrien et toutes les personnes formidables que j'ai rencontrées au cours de ces derniers mois pour leurs conseils et leur bienveillance.

Je suis reconnaissante envers le SPW et particulièrement envers Éric Joiris pour nous avoir accordé la responsabilité de cette partie du projet Life BNIP. Je suis honorée d'avoir bénéficié de votre confiance pour ce projet.

Un tout grand merci aux équipes de Natagora. Merci à Éric Graitson pour sa contribution à différents niveaux, merci à Thierry Kinet de m'avoir éclairé de sa lumière concernant la gestion, merci à Cécile et Hélène pour la petite graine que vous avez fait germer, merci à tous les bénévoles de Natagora qui ont participé à la campagne de récolte en 2019 pour leurs apports aux données de ce travail.

Merci à vous, chers lecteurs, pour l'intérêt que vous portez à mon travail.

Mention spéciale à tous les tritons créés qui se sont laissé écouillonner pour ce projet !

Comment clore mes études sans vous rendre hommage, Mélia, Élise, Lucien, les biogosses, les amis de Mons et de Liège, ceux qui me suivent depuis le collège, ainsi qu'à toutes les personnes incroyables que j'ai rencontrées au cours des cinq dernières années. Vous êtes la plus belle réussite de mon parcours universitaire.

Enfin merci à toi Noa, pour tout ce que tu fais et pour être la personne que tu es.

RÉSUMÉ

Structuration, diversité et flux génétiques des populations wallonnes de tritons crêtés (*Triturus cristatus*). Implications pour leur conservation.

Le triton crêté, un amphibien à dispersion limitée, pourrait être affecté par la fragmentation de ses habitats et l'érosion génétique associée. Dans le cadre du projet Life BNIP (Belgian Nature Integrated Project), une campagne d'échantillonnage a été commandée par le SPW (Service Public de Wallonie) et menée en 2019 et en 2023 afin de fournir des informations cruciales sur la structuration, la diversité et la divergence génétique des populations de tritons crêtés en Wallonie (Belgique). Un total de 444 individus a été analysé, provenant de 40 sites différents répartis dans toute la Wallonie. Huit marqueurs microsatellites ont été utilisés pour le génotypage, permettant une analyse génétique approfondie. Les objectifs étaient de dresser un état des lieux des populations wallonnes, d'évaluer les variations et les flux de gènes entre les populations, d'estimer les risques de consanguinité et d'évaluer les ruptures potentielles de connexions génétiques entre les populations wallonnes pour proposer des mesures de conservation efficaces.

La structure génétique du triton crêté en Wallonie révèle une hétérogénéité selon les grandes régions naturelles, potentiellement conduite par les principaux cours d'eaux. Une distinction est proposée entre la région limoneuse hennuyère et le reste de la Wallonie. Les indices de diversité génétique les plus élevés et les échanges de gènes les plus importants sont observés dans le Hainaut. Les flux de gènes entre les populations sont généralement limités, en particulier avec les populations éloignées géographiquement. Les problèmes liés à la consanguinité ne concernent qu'une partie limitée des individus échantillonnés. Au sein des sites, les flux de gènes sont importants lorsque les mares sont proches et forment un réseau. Ces résultats soulignent l'importance de prendre en compte la structure génétique et les flux de gènes dans la gestion et la conservation du triton crêté en Wallonie.

ABRÉVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

BNIP : Belgian Nature Integrated Project

CMR : Capture-marquage-recapture

dATP : Désoxyadénosine triphosphate

dCTP : Désoxycytidine triphosphate

dGTP : Désoxyguanosine triphosphate

D_{jost} : Indice de différenciation allélique

dNTPs : Désoxyribonucléotides triphosphates, rassemblant les dATP, dCTP, dGTP et dTTP.

dTTP : Désoxythymidine triphosphate

F_{is} : Indice de consanguinité

Gst : Indice de fixation

IC : Intervalle de confiance

IUCN : International Union for Conservation of Nature

Ma : Million d'année

MAEC : Méthodes agroenvironnementales et climatiques

PAC : Politique agricole commune

PCR : Polymerase chain reaction

SNP : Single nucleotide polymorphism, répétitions d'une seule paire de base

SPW : Service public de Wallonie

STR : Short tandem repeated, courtes répétitions en tandem

UICN : Union internationale pour la conservation de la nature

ABRÉVIATIONS DES SITES

BAQ : Baquet

BEC : Barrière d'Ecaussines

BELa : Beloeil a

BELb : Beloeil b

CHE : Chemin d'Horrues

CMM : Camp militaire de Marche

COM : Comogne

ECA : Ecaussines

ETA : Etalle

FAS : Fosse aux Sables

FUM : Fumal

GES : Gesves

GQU : Grand Quarti

HAC : Hachy

HER : Hermalle

JON : Joncret

JOU : Journal (la Roche)

MAZ : Mazy

MRG : Mariembourg

MRN : Marionville

NOB : Nobressart

ORM : Ormegnies

PDMa : Plate Dessous les Monts 1

PDMb : Plate Dessous les Monts 2

PER : Perennes

PRB : Petit-Roeulx-Lez-Braine

PRZ : Peruwelz

ROM : Romedenne

ROS : Rostenne

SORa : Sorée ouest

SORb : Sorée est

TBR : Taintignies-Brunchaut

TEMa : Templeuve a

TEMb : Templeuve b

THO : Thon

VAU : Vaulx

VSL : Villers sur Lesse

WIN : Winenne

YVO : Yvoir

GLOSSAIRE

Admixture : Mélange de gènes provenant de différentes lignées génétiques. Autrement dit, chaque individu tire une fraction de son génome de différentes populations K. Les locus d'un individu proviennent donc potentiellement de plusieurs populations.

Allèle : Version variable d'un gène à un locus donné.

Bootstrap : Méthode d'inférence statistique basée sur la réplication multiple des données à partir du jeu de données étudié, selon les techniques de rééchantillonnage.

Burn-in : Période comprenant un certain nombre d'itérations dans les méthodes MCMC, permettant d'être indépendant des conditions initiales.

Cluster : Groupe de populations ou d'individus qui partagent des caractéristiques génétiques similaires. Il est un anglicisme synonyme de sous-population ou encore de lignée génétique.

Dérive génétique : Ou dérive génique, mécanisme évolutif de modification de la fréquence des allèles au cours des générations, provoquant un écart par rapport à l'équilibre d'Hardy-Weinberg. Elle est le résultat de processus aléatoires comme un isolement ou un effet fondateur.

Electrophorégramme : Résultat visuel de l'électrophorèse, une technique utilisée pour séparer les molécules chargées électriquement. Il représente les bandes formées par les molécules séparées lors de l'électrophorèse. Les bandes apparaissent comme des lignes horizontales ou verticales de différentes tailles, représentant les différentes tailles et quantités des molécules présentes dans l'échantillon.

Fitness : La fitness, ou valeur sélective, est un concept central en biologie de l'évolution. Elle décrit la capacité d'un individu d'un certain génotype à se reproduire.

Fluorochrome : Substance permettant de marquer des molécules et de les rendre fluorescents et identifiables sous l'influence d'un rayonnement d'excitation.

Gst de Nei : Basé sur la variation allélique et estime la proportion de la variance génétique totale qui est attribuable aux différences entre populations. Il peut être calculé à l'aide de différentes formules, dont la plus couramment utilisée est la formule de Weir et Cockerham (1984). Le Gst de Nei varie de 0 à 1, où 0 indique aucune différenciation génétique entre populations et 1 indique une différenciation génétique maximale.

Hétérozygote : Dans le cas d'individus diploïdes, individu présentant deux allèles différents pour un locus donné.

Homomorphe : Chromosomes homologues (homomorphique) qui ont la même forme et la même taille.

Homoplasie : Similitude d'un état de caractère chez différents taxons qui ne provient pas d'un ancêtre commun.

Homozygote : Dans le cas d'individus diploïdes, individu présentant deux allèles identiques pour un locus donné.

Locus : Localisation d'un gène sur un chromosome.

Markov chain Monte Carlo : Méthode d'échantillonnage aléatoire de distribution de probabilité basée sur les chaînes de Markov.

Markov chain : Modèle stochastique dans lequel l'état futur dépend uniquement de l'état présent.

Métapopulation : Ensemble de populations d'une même espèce réparties dans l'espace, séparées par des barrières géographiques, entre lesquelles il existe des échanges plus ou moins réguliers et importants d'individus.

Natura 2000 : Réseau de sites de reproduction et de repos essentiels pour les espèces rares et menacées et certains types d'habitats naturels rares qui sont protégés à part entière. Il s'étend sur les 27 pays de l'UE, tant sur terre qu'en mer.

Panmixie : Reproduction au hasard entre des individus.

Primer/amorce : Courte séquence d'ARN ou d'ADN, complémentaire du début d'une matrice, servant de point de départ à l'ADN polymérase pour la synthèse du brin complémentaire à la matrice. L'utilisation d'une amorce "sens" et "anti-sens" permettent de définir la séquence de l'amplicon dans le cadre des PCR.

Richesse allélique : Nombre d'allèles présents à un locus donné, connue pour dépendre de la taille de l'échantillon, puisque les chances de découvrir un nouvel allèle augmentent chaque fois qu'un nouvel individu est observé.

Spéciation allopatrique : Processus évolutif dans lequel deux populations d'une même espèce sont isolées l'une de l'autre, empêchant le flux de gènes entre elles. Un isolement reproductif a donc lieu, menant à la formation de nouvelles espèces.

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1 :** Locus microsatellites utilisés (Krupa et al., 2002).....17
- Tableau 2 :** Paramètres de diversité génétique au sein des clusters quand $K=2$. Nord = Hainaut (nord de la Haine) ; Sud = Reste de la Wallonie. N = nombre d'individus ; A = nombre d'allèles ; % = pourcentage d'allèles total observé ; Ar = richesse allélique ; Ho = hétérozygotie observée ; He = hétérozygotie attendue ; HWE = adéquation à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; Fis = coefficient de consanguinité ; Fis_Low = valeur inférieure de l'intervalle de confiance du Fis ; Fis_High = valeur supérieure de l'intervalle de confiance du Fis.....24
- Tableau 3 :** Paramètres de diversité génétique au sein des clusters quand $K=8$. N = nombre d'individus ; A = nombre d'allèles ; % = pourcentage d'allèles total observé ; Ar = richesse allélique ; Ho = hétérozygotie observée ; He = hétérozygotie attendue ; HWE = adéquation à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; Fis = coefficient de consanguinité ; Fis_Low = valeur inférieure de l'intervalle de confiance du Fis ; Fis_High = valeur supérieure de l'intervalle de confiance du Fis.....29
- Tableau 4 :** Paramètres de diversité génétique au sein des sites. N = nombre d'individus ; A = nombre d'allèles ; % = pourcentage d'allèles total observé ; Ar = richesse allélique ; Ho = hétérozygotie observée ; He = hétérozygotie attendue ; HWE = adéquation à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; Fis = coefficient de consanguinité ; IC Fis bas = valeur inférieure de l'intervalle de confiance du Fis ; IC Fis haut = valeur supérieure de l'intervalle de confiance du Fis.....30

LISTE DES FIGURES

Fig. 1 : Distribution du genre <i>Triturus</i> en Europe telle que décrite en 2011 par (Wielstra & Arntzen, 2011).....	6
Fig.2 : Points de présence wallons du triton crêté (Éric Graitson).....	8
Fig.3 : Cartographie des sites prospectés en 2019 et 2023.....	15
Fig.4 : Mare agricole à CHE (Anaïs Beaumariage).....	16
Fig.5 : Graphiques représentant la valeur de delta K en fonction de K (K étant le nombre de groupes génétiques) selon la méthode d'Evanno à droite ; et la valeur de $\ln P(K)$ en fonction de K selon la méthode de Pritchard à gauche (d'après l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des données).....	23
Fig.6 : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des génotypes de tritons collectés en Wallonie pour K=2. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacun des clusters génétiques.....	24
Fig.7 : Répartition des individus assignés à plus de 90% à chaque cluster pour K = 8.....	26
Fig.8 : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des génotypes de tritons collectés en Wallonie pour K=8. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacun des clusters.....	27
Fig.9 : Représentation de l'affiliation moyenne de chaque site à chacun des 8 clusters. Chaque camembert montre le pourcentage moyen d'appartenance aux différents clusters de tous les individus d'un site.....	28

Table des matières

I.	Introduction générale	1
1.	Généralités sur les amphibiens	1
1.1.	La sixième extinction de masse	1
1.2.	Les représentants des vertébrés les plus menacés	1
2.	Une approche génétique pour la conservation	2
2.1.	La biologie de la conservation	2
2.2.	La génétique des populations	2
2.3.	Les moteurs de la diversité génétique et leur importance	3
2.4.	Un mot sur les marqueurs moléculaires et leurs choix	4
2.5.	Avantages et inconvénients des microsatellites	5
II.	Présentation de l'espèce : Le crêté, le triton paléarctique aux exigences les plus élevées	6
1.	Systématique et histoire évolutive	6
2.	Aire de distribution et statut des populations	7
3.	Écologie et cycle de vie amphibie	9
4.	Les tritons et leurs habitats en danger	10
5.	Des solutions pour sauver le dragon des mares	11
6.	Intérêt de l'apport de connaissances génétiques sur le triton crêté en Wallonie	12
III.	Objectifs	13
IV.	Matériels et méthodes	14
1.	Matériels	14
1.1.	Sites de collectes et zone d'étude	14
1.2.	Acquisition des données	16
1.3.	Microsatellites sélectionnés	17
2.	Méthodes	18
2.1.	Techniques moléculaires	18
2.1.1.	Principe de l'extraction d'ADN	18
2.1.2.	Principe de l'amplification par PCR	19

2.1.3. Génotypage	19
2.2. Analyse des données génétiques.....	20
2.2.1. Encodage des génotypes	20
2.2.2. Individualisation	20
2.2.3. Analyses de la structure des populations	20
2.2.4. Analyses du flux de gènes, diversité et différenciation génétique.....	21
2.2.5. Test de corrélation de Mantel	22
V. Résultats	23
1. Considérations générales	23
2. Échelle de la Wallonie.....	23
2.1. Structuration génétique.....	23
2.2. Séparation en deux groupes génétiques.....	24
2.2.1. Structuration génétique	24
2.2.2. Diversité génétique des deux clusters	24
2.2.3. Différenciation génétique et flux de gènes entre les deux clusters.....	25
2.3. Séparation en huit groupes génétiques.....	25
2.3.1. Structuration génétique	25
2.3.2. Diversité génétique des huit clusters.....	29
2.3.3. Différenciation génétique et flux de gènes entre les huit clusters.....	29
3. Échelle des sites échantillonnés.....	30
3.1. Diversité génétique des sites.....	30
3.2. Différenciation génétique et flux de gènes entre les sites	31
4. Échelle de la microgéographie, au sein des sites	33
5. Corrélation entre la distance géographique et génétique.....	33
VI. Discussion	34
1. Réflexions générales.....	34
2. Le Hainaut occidental.....	35
3. Beloeil, un réseau de mares avec une santé génétique favorable	35
4. ORM et TBR : des sites isolés par leur environnement.....	35
5. PRB, une population menacée et génétiquement isolée	36

6.	MRN et FAS : une zone de mélange entre Sambre et Haine	36
7.	JON, MAZ, FUM et JOU : des populations isolées par la géographie ?.....	37
8.	Le Condroz : des appartenances variées.....	37
9.	La Famenne préoccupante : COM, VSL et GQU	38
10.	Un groupe génétique dans la Fagne : BAQ, ROM et MRG	38
11.	Le camp militaire de Marche-en-Famenne	39
12.	Le cas de la Lorraine belge	39
13.	Comparaisons avec la littérature	40
	13.1. Diversité génétique et flux de gènes.....	40
	13.2. Milieu de vie	41
	13.3. Effectifs	42
14.	Recommandations de gestion	44
	14.1. Entretien de l'habitat aquatique, terrestre et de l'écologie du paysage	44
	14.2. Réseaux de mares.....	45
	14.3. Réintroductions et translocations	46
15.	Perspectives	49
VII.	Conclusions	50
VIII.	Bibliographie	
IX.	Annexes	

I. INTRODUCTION GÉNÉRALE

1. Généralités sur les amphibiens

1.1. La sixième extinction de masse

Actuellement, la Terre abrite environ 2 millions d'espèces décrites (Chapman, 2009), formant des écosystèmes interconnectés sujets à des fluctuations continues. Ces changements environnementaux stimulent l'adaptation des espèces, illustrant le processus évolutif.

Le développement humain sans précédent a entraîné un déclin de la biodiversité à tous les niveaux taxonomiques. La croissance démographique a conduit à une consommation accrue des ressources, particulièrement depuis la révolution industrielle (Frankham et al., 2010; Pimm et al., 1995). Ce processus a un tel impact sur notre planète qu'il est maintenant qualifié de sixième extinction de masse car le taux d'extinction des espèces dépasse celui d'apparition des nouvelles. Ce rythme d'extinction alarme le corps scientifique puisqu'il s'apparente à celui des précédentes extinctions de masse et connaît une accélération depuis l'avènement de la société industrielle (Maris, 2011).

Bien que l'Histoire de la Terre ait toujours été ponctuée d'extinctions de différentes ampleurs, la crise biologique actuelle se distingue par son origine humaine, caractéristique distinctive de l'Anthropocène. Les estimations montrent qu'entre 17 000 et 100 000 espèces disparaissent en moyenne chaque année. Il ne faut cependant pas oublier que ces périodes de crise sont également des moteurs pour la radiation des espèces et la mise en place de nouvelles communautés végétales et animales (Cheptou, 2020).

1.2. Les représentants des vertébrés les plus menacés

Parmi les groupes taxonomiques les plus touchés, nous trouvons les amphibiens avec 41% d'espèces menacées selon l'UICN (IUCN, 2022). 22% des espèces d'amphibiens ne bénéficient par ailleurs pas de suffisamment de données pour être classées dans une catégorie.

Les amphibiens dépendent à la fois de milieux aquatiques et terrestres, ce qui en fait des victimes préférentielles de la destruction de leurs habitats et plus particulièrement de leurs habitats de reproduction (Sodhi et al., 2008). Cette fragmentation est la menace la plus grande touchant ce groupe de vertébrés (Stevens & Baguette, 2008), provoquant un isolement génétique et une réduction du potentiel adaptatif (Beebee & Griffiths, 2005). De plus, leurs

faibles capacités de dispersion limitent la viabilité des populations fragmentées. De ce fait, il s'agit souvent d'espèces spécialistes, connues pour leur vulnérabilité accrue aux changements de leur environnement en comparaison avec les espèces généralistes (Clavel, 2007; Sodhi et al., 2008). De leur mode de vie découle d'ailleurs l'étymologie de leur nom 'amphibiens', qui signifie double vie (Jacob et al., 2007).

Les mares, comme l'ensemble des zones humides, sont en déclin, affectant négativement la reproduction des amphibiens (Barbery, 2005). Les rayonnements UV et les espèces invasives sont également des menaces pour leur survie, particulièrement aux stades critiques de développement, à savoir les œufs et larves. La chytridiomycose, une maladie fongique, est particulièrement préoccupante. Il s'agit plus précisément de *Batrachochytrium salamandrivorans* qui provoque des dégâts dans les populations de tritons et de salamandres (Beebee & Griffiths, 2005). La pluralité des menaces permet de comprendre pourquoi la plupart des populations d'amphibiens dans le monde (Sodhi et al., 2008) a une plus grande probabilité de figurer sur la liste rouge de l'UICN (Houlahan et al., 2000).

2. Une approche génétique pour la conservation

2.1. La biologie de la conservation

Ayant vu le jour dans les années 70, la biologie de la conservation est généralement considérée comme une discipline de crise, connaissant un engouement grandissant depuis l'accroissement des problèmes environnementaux (Mathevet, 2010). Les objectifs poursuivis par la discipline sont premièrement d'acquérir des informations sur des espèces, l'état de leurs populations, leurs distributions et les causes de la perte de la biodiversité. Deuxièmement, de déterminer l'impact des activités anthropiques sur les espèces et leurs écosystèmes. La finalité étant d'adopter les meilleures stratégies de gestion pour la conservation des espèces végétales et animales et de promouvoir une utilisation durable des ressources naturelles afin de contribuer à la protection et la restauration des écosystèmes, au maintien de la diversité génétique et à la conservation d'effectifs spécifiques viables (Mathevet, 2010; Primack, 2012; Reed & Frankham, 2003).

2.2. La génétique des populations

La génétique des populations est une branche de la génétique qui étudie la variation génétique et les processus qui influencent la distribution et la fréquence des gènes au sein des populations et au fil du temps. La discipline consiste en la mesure de divers indicateurs afin de comprendre les flux intra et inter populationnels et leurs transmissions d'une génération à l'autre (Frankham et al., 2010; Primack, 2012). Ensuite, elle cherche à comprendre comment les forces évolutives

agissent sur les gènes et les populations, influençant ainsi leur adaptation et leur évolution. Enfin, elle fournit des connaissances essentielles pour comprendre la dynamique génétique des espèces et prendre des décisions éclairées en matière de gestion et de conservation de la biodiversité. La génétique des populations fait la synthèse entre la génétique mendélienne et la théorie de l'évolution. Il est nécessaire de rappeler que la notion de population est encore à l'heure actuelle un terme controversé puisqu'il en existe plusieurs définitions, certaines plus adéquates que d'autres selon la problématique étudiée (Pritchard et al., 2000).

2.3. Les moteurs de la diversité génétique et leur importance

La loi de l'équilibre d'Hardy-Weinberg est un modèle génétique postulant que, dans une population idéale à effectif infini, pourvue d'individus diploïdes se reproduisant de manière sexuée, où les taux de mutation, sélection et migration sont nuls et pour des caractères situés sur des locus de gènes autosomaux (non liés au sexe), les fréquences des allèles sont identiques de générations en générations. Dans le cas des populations en panmixie, les fréquences génotypiques se calculent directement à partir des valeurs des fréquences alléliques. Si tel est le cas, la population sera dite 'à l'équilibre'. Cette configuration est rarement représentée dans le milieu naturel à cause de l'action de forces évolutives comme la dérive génique, la spéciation ou la sélection naturelle. L'équilibre de Hardy-Weinberg est un point fondamental de toute étude concernant la génétique des populations étant donné qu'un de ses objectifs est la détection et l'estimation des forces évolutives qui le perturbe (Andrews, 2010; Hardy, 1908; Mayo, 2008; Weinberg, 1908).

La question qui se pose est la suivante : la consanguinité affecte-t-elle l'équilibre et la viabilité des populations sauvages ? Les croisements entre individus apparentés causent en effet une diminution du succès reproducteur et de la survie, ce qui réduit la fitness en raison de la fixation potentielle d'allèles délétères (Keller & Waller, 2002; Primack, 2012). Cela engendre des fréquences alléliques s'écartant de celles du modèle d'Hardy-Weinberg. Ce phénomène est exacerbé dans les petites populations (Lande, 1988) en vertu du choix limité de partenaires et conséquemment du pool d'allèles disponibles. En effet, la diminution de l'hétérozygotie conduit à une perte de diversité génétique, ce qui entraîne une dépression de consanguinité et une réduction de la fitness totale de la population (Reed & Frankham, 2003). De plus, un faible effectif soumet également les populations aux fluctuations aléatoires de l'environnement et de la démographie. In fine, un isolement peut avoir lieu, renforçant cette promiscuité génétique,

ce qui peut éventuellement mener à une extinction locale et avoir des répercussions sur l'ensemble de l'écosystème au sein duquel l'espèce est présente (Frankham et al., 2010).

Le maintien de cette diversité génétique est primordial dans le contexte des changements globaux étant donné qu'une plus grande diversité permet de meilleures capacités d'adaptations dans les environnements changeants, accordant une persistance des espèces au long terme (Angelone, 2010; Orizaola et al., 2010). Cela met en lumière le fait que les dynamiques des petites populations ne sont pas simplement des modèles réduits des plus grandes. Elles héritent de risques d'extinctions accrus par rapport à leurs congénères plus peuplées, renforçant ce phénomène de vortex d'extinction (Gilpin & Soulé, 1986).

2.4. Un mot sur les marqueurs moléculaires et leurs choix

Divers marqueurs peuvent être utilisés afin d'étudier les divergences entre les groupes. Actuellement, les SNP (single nucleotide polymorphism, répétitions d'une seule paire de base) et les STR (short tandem repeated, courtes répétitions en tandem) sont régulièrement intégrés aux analyses. Les STR sont idéaux pour investiguer l'histoire évolutive récente des organismes de par leur évolution rapide (Cutter, 2013; Senge et al., 2011). Parmi eux, les microsatellites sont des marqueurs du génome nucléaire transmis de manière biparentale. Ils font partie des introns, ce qui leur confère une propriété non-codante et sont théoriquement moins soumis à la sélection naturelle. Il s'agit de courtes séquences d'ADN (1 à 6 nucléotides) répétées (entre 5 et 40 fois) en tandem. Leur taille varie donc selon le nombre de répétitions et la taille de la séquence, ce qui leur confère leur caractère hypervariable (Schlötterer, 2000). Également qualifié de polymorphiques, ils permettent une efficacité satisfaisante pour la pratique de la PCR sur de nombreux taxa (Cutter, 2013).

Les microsatellites sont régulièrement utilisés dans le cadre d'études sur le degré de proximité entre individus et sur la structuration des populations. Il s'agit d'ailleurs d'un des marqueurs les plus recommandés dans le cadre de l'estimation du degré de diversité génétique dans les populations sauvages d'espèces menacées. Ils bénéficient donc d'un intérêt particulier lorsque l'on s'intéresse à des questions écologiques fines (Selkoe & Toonen, 2006).

L'intérêt d'analyser plusieurs microsatellites réside dans le fait que chaque locus est considéré comme un morceau unique du génome. Différents gènes et différentes régions subissent les effets des recombinaisons, de la sélection et de la dérive génique. C'est pourquoi leur histoire généalogique peut légèrement différer. La combinaison de plusieurs marqueurs permet d'inférer des informations reflétant au plus précisément l'histoire évolutive des individus tout

en étant statistiquement juste (Selkoe & Toonen, 2006). Pritchard (2000) a démontré que l'utilisation de 7 microsatellites produisait des résultats fiables dans l'étude de la structure des populations, de l'identification des individus migrants et des zones d'hybridation.

2.5. Avantages et inconvénients des microsatellites

Outre leur justification pour la problématique visée, le premier avantage des marqueurs microsatellites est leur préparation aisée. Ils utilisent l'information sous forme d'ADN, ce qui facilite les conditions de stockage des prélèvements (Selkoe & Toonen, 2006) et les répétitions peuvent aisément être amplifiées par PCR même dans le cas d'une dégradation partielle de l'ADN, comme lors des prélèvements utilisant des méthodes non invasives (Taberlet et al., 1999), ce qui est le cas dans ce travail.

Ensuite, les microsatellites sont des marqueurs hautement indicatifs de l'histoire génétique grâce à leur taux de mutation élevé, de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-2} par locus et par génération, ce qui est supérieur au taux de mutation moyen du génome nucléaire (entre 10^{-4} et 10^{-11} par locus et par génération). Ce phénomène est majoritairement provoqué par des mutations par glissement ou des erreurs de relectures lors de la réplication de l'ADN, dû au nombre élevé de répétitions (Eisen J., 1999; Ellegren, 2000). Ce polymorphisme en fait des marqueurs idéaux pour l'étude de populations à faibles effectifs et de leur démographie récente (Selkoe & Toonen, 2006).

Comme tous les marqueurs, les microsatellites ont également leurs limites bien que leur versatilité les dépasse pour beaucoup d'applications écologiques. De plus, une grande partie de ces inconvénients peut être évitée en sélectionnant minutieusement les loci. Ainsi, les statistiques basées sur l'estimation de la fréquence des allèles reposent sur un modèle mutationnel 'pas à pas' causé par des erreurs lors de la réplication de l'ADN (Selkoe & Toonen, 2006). Or, des mécanismes de recombinaison et de mutation ponctuelle peuvent également avoir lieu et ceux des microsatellites sont parfois plus complexes à élucider (Schlötterer, 2000). Le consensus actuel est que les effets de ces événements sont habituellement négligeables par rapport à ceux causés par les mutations 'pas à pas' (Eisen J., 1999).

En outre, l'homoplasie est un phénomène à prendre en compte puisqu'elle peut masquer la diversité allélique réelle et fausser les estimations de flux de gènes (Blankenship et al., 2002). Cependant, son impact est généralement limité dans les populations récentes ou de taille modérée car sa probabilité d'apparition est liée à la distance génétique entre les groupes (Estoup et al., 2002). Globalement, les microsatellites restent les marqueurs les plus efficaces pour évaluer le polymorphisme génétique (Selkoe & Toonen, 2006).

II. PRÉSENTATION DE L'ESPÈCE : LE CRÊTÉ, LE TRITON PALÉARCTIQUE AUX EXIGENCES LES PLUS ÉLEVÉES

1. Systématique et histoire évolutive

Le triton crêté (*Triturus cristatus*, Laurenti, 1768) appartient à la classe des amphibiens. Cet urodèle du sous-ordre des salamandroïdés fait partie de la famille des salamandridés (Francillon & Rage, s. d.). Plus précisément, le triton crêté fait partie du genre *Triturus* (Morand, 2018). Il n'existe pas de consensus scientifique quant à la place au rang d'espèces de certaines sous-espèces ou morphotypes (J. W. Arntzen et al., 2007), ce qui soulève une fois de plus des questions sur la définition de l'espèce. Selon certains auteurs, le genre est divisé en quatre clades en Europe : un contenant le complexe des espèces du groupe des tritons crêtés au sens large (*T. carnifex*, *T. cristatus*, *T. dobrogicus*, *T. karelinii*, *T. marmoratus*, *T. pygmaeus*), représentés dans la Fig.1 ; un clade contenant les tritons vulgaires (*T. montandoni*, *T. vulgaris*) ; le troisième formé par le triton alpestre (*T. alpestris*) et le quatrième par *T. vittatus* (Weisrock et al., 2006). Certains auteurs n'intègrent pas *T. marmoratus* et *T. pygmaeus* dans le groupe des tritons crêtés mais plutôt *T. macedonicus* (Ivanović et al., 2012; Wielstra et al., 2013). *Triturus cristatus* aurait divergé de son plus proche ancêtre commun avec *T. dobrogicus* il y a environ 8.8 Ma (Wielstra & Arntzen, 2011). Cette classification comporte donc de légères différences taxonomiques et est amenée à changer, notamment avec les progrès de la génétique.

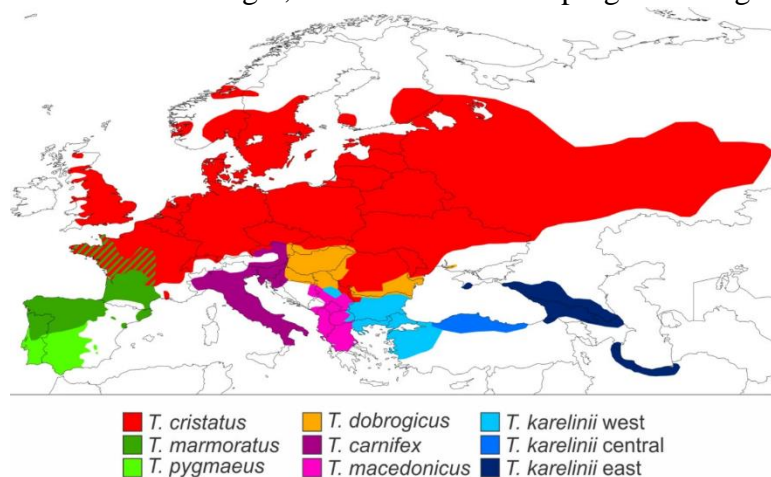


Fig. 1 : Distribution du genre *Triturus* en Europe telle que décrite en 2011 par (Wielstra & Arntzen, 2011).

Au cours du Pléistocène (0.01 à 1.8 Ma), de nombreuses espèces d'amphibiens ont subi des modifications dans leur démographie et leur répartition en raison de l'alternance entre des

périodes chaudes et sèches avec des périodes plus froides et humides (Blain, 2005). C'est dès lors pendant le Quaternaire que l'herpétofaune actuelle a émergé (Bailon, 1991). Néanmoins, les tritons européens ont divergé avant la période du Pléistocène et il semble que cette dernière n'ait pas été un facteur clé dans la formation de nouvelles espèces au sein du groupe. Plus précisément, les espèces du genre *Triturus* auraient radié, entre 10.4 et 8.8 Ma, au niveau des Balkans (J. W. Arntzen et al., 2007). Elles se différencient entre elles par leur morphologie, le nombre de vertèbres pré-sacrées portant les côtes et la durée de leur période aquatique. Cette différence écologique est suspectée d'avoir joué un rôle pendant la spéciation (Wielstra & Arntzen, 2011). Le rôle principal du Pléistocène aurait plutôt été d'influencer la diversité génétique à travers la fragmentation géographique des populations dans des refuges glaciaires. Ces refuges se trouvaient dans des régions telles que le Caucase, l'Anatolie, la péninsule balkanique, l'Italie et le nord de l'Europe. Ainsi, le Pléistocène a joué un rôle dans la diversité génétique des tritons européens plutôt que dans la spéciation du groupe (Babik et al., 2005).

2. Aire de distribution et statut des populations

L'herpétofaune belge compte 24 espèces d'amphibiens (Renson, 2017). La Wallonie, quant à elle, abrite 15 espèces indigènes dont 5 d'urodèles et 10 d'anoures. Cette faune belge comprend des représentants inféodés aux milieux froids et tempérés comme la grenouille rousse (*Rana temporaria*) ou le crapaud commun (*Bufo bufo*), des espèces à distribution océanique comme le triton palmé (*Lissotriton helveticus*) ou encore des individus à tendance plus continentale comme le pélobate brun (*Pelobates fuscus*), voire même septentrionale comme le triton crêté (*Triturus cristatus*) (Gasc, 1997; Jacob et al., 2007).

Le triton crêté est la plus grande des quatre espèces de tritons wallonnes. La Wallonie abrite en effet le triton palmé (*Lissotriton helveticus*), le triton alpestre (*Ichthyosaura alpestris*), le triton ponctué (*Lissotriton vulgaris*) et le triton crêté (*Triturus cristatus*) (Jacob et al., 2007). Ce dernier est le plus rare des tritons indigènes en Allemagne (Blab, 1981; Feldmann, 1981), en Suisse (Grossenbacher, 1977), dans le nord-ouest de la France (J. W. Arntzen & Gerats, 1976) et en Belgique (de Wavrin, 2003; Jacob et al., 2007).

Souvent qualifiée d'espèce vulnérable, le crêté figure aux annexes 2 et 4 de la directive faune-flore-habitats de l'Union Européenne (Directive 92/43/CEE) et à l'annexe 2 de la convention de Berne, ce qui signifie qu'il bénéficie d'une protection intégrale (Barbery, 2005; Convention relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe, 1979; Conseil de l'Union européenne, 1992). Les passages concernés de ces documents sont repris en annexe 1.

En outre, il fait partie des espèces menant à la désignation des zones spéciales de conservation du décret Natura2000. En vertu de ses exigences écologiques, l'espèce est considérée comme menacée en Europe occidentale (Beebee & Griffiths, 2005; Jacob et al., 2007) et quasi-menacée en Wallonie (Graitson E., Goffart Ph. & A. Weiserbs, 2021) bien qu'elle soit classée en préoccupation mineure à l'échelle mondiale, statut justifié par sa large distribution (J. W. Arntzen et al., 2008).

En Wallonie, le roi des mares possède une répartition qui suit les vallées ouvertes aux sols argilo-limoneux, marneux ou crayeux. Cette caractéristique pédologique est un facteur déterminant de sa distribution régionale (Simon, 2000).

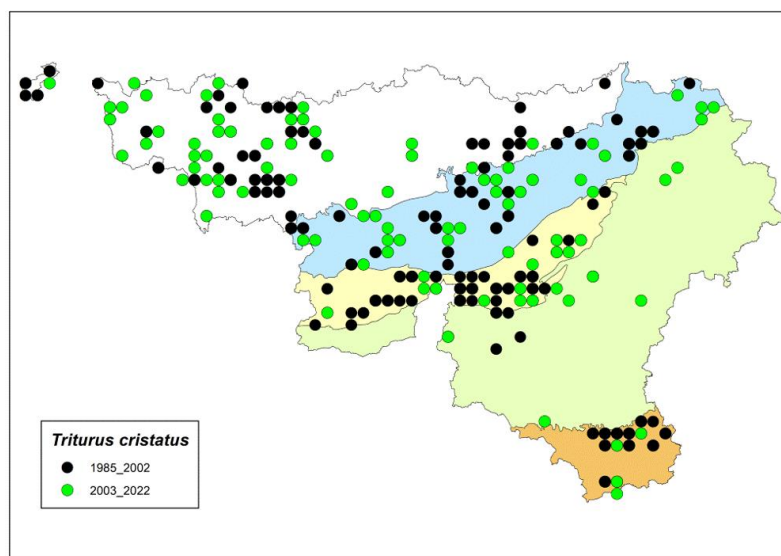


Fig.2 : Points de présence wallons du triton crêté (Éric Graitson).

Le crêté voit ses effectifs wallons augmenter depuis une vingtaine d'année. Comme présenté sur la Fig.2, il se fait néanmoins toujours rare en Ardenne et dans le Brabant wallon. Des sites sont occupés en Haute Sambre et dans le Hainaut, avec une affluence particulière dans les stations d'Enghien, Ecaussinnes et Feluy. Plusieurs populations sont établies dans le Condroz, particulièrement dans les anciennes fosses d'extraction d'argile des régions de Assesse et de Sorée, des sablières inactives à Onhaye et des carrières aux alentours de Philippeville. La région de Fagne-Famenne est fortement occupée notamment avec les bassins du Viroin, de l'Hermeton et de la Lesse. La Lorraine belge est également bien représentée avec plusieurs dizaines d'adultes reproducteurs sur le site de la briqueterie à Arlon. La province de Liège abrite quelques populations fragmentées (Denoël & Ficetola, 2008; Jacob et al., 2007).

De manière plus générale, le triton crêté a une répartition eurasienne de basse altitude et reste une espèce inféodée aux milieux ruraux à travers sa présence dans les zones d'agriculture extensive (Schön et al., 2011).

3. Écologie et cycle de vie amphibia

Les tritons crêtés entrent dans les eaux stagnantes entre mars et juin principalement pour la reproduction (Barbery, 2005). Cela en fait le triton belge avec la phase aquatique la plus longue (Goret, 2014). Les eaux oligotrophes riches en sels minéraux, en plancton et à pH neutre sont les plus propices à leur établissement (Barbery, 2005; Jacob et al., 2007). Plus précisément, il se retrouve préférentiellement dans les mares présentant certaines caractéristiques spécifiques, notamment abondantes en macrophytes, ensoleillées, profondes, avec une pente sud douce, à substrat structuré, sans poissons et en présence d'autres individus de la même espèce (Denoël & Lehmann, 2006; Ferrais, 2018; Goret, 2014). Les tritons crêtés ont une préférence pour les points d'eaux de grande étendue. En effet, 41% des individus ont leur phase aquatique dans des plans d'eaux d'une superficie entre 11 et 100 ares (Simon, 2000). Ils ne se retrouvent toutefois pas exclusivement dans les mares. D'autres points d'eaux comme les abreuvoirs pour le bétail ou les réservoirs d'eau à usage agricole peuvent abriter des individus. Les carrières, actuellement actives ou non, peuvent également abriter cet urodèle, tout comme des cas ont été recensés dans des étangs de pêche et de pisciculture ou encore des argilières (Simon, 2000).

Les crêtés se reproduisent annuellement à partir de leur maturité sexuelle estimée à 2-3ans pour une espérance de vie de 17ans maximum (J. Arntzen & Teunis, 1993; Jacob et al., 2007). Nous rencontrons donc la plupart du temps des adultes reproducteurs et des juvéniles dans les plans d'eau (Barbery, 2005). La fin du stade larvaire est identifiée entre autres via la perte des branchies, lors de la métamorphose qui a lieu entre août et septembre (Barbery, 2005; Goret, 2014). La queue des larves se prolonge parfois d'un filament et se termine en pointe. Les mâles reproducteurs sont reconnaissables par la crête qu'ils arborent en période nuptiale. Ils sont plus petits que les femelles qui atteignent 12 à 18 cm (Graitson et al., 2009). Lors de la phase terrestre, les mâles sont généralement noirs (Jacob et al., 2007). Le taux de survie annuel moyen des adultes est de 68% et de 20% pour les juvéniles (J. Arntzen & Teunis, 1993). Cependant, le succès reproducteur varie fortement en fonction des conditions climatiques. Bien qu'il existe des migrants opérants des changements de mares, la plupart des adultes est fidèle à son site de reproduction (Jacob et al., 2007). Ces déplacements sont de l'ordre de quelques centaines de mètres, de même que les déplacements entre leur site terrestre et de reproduction (Jehle, 2000).

Le milieu aquatique est également convoité à des fins de nutrition (Gustafson et al., 2011). Surnommé le prédateur des mares (Goret, 2014), le triton crêté se nourrit de larves d'insectes, d'annélides, de mollusques mais également de larves d'autres tritons (Avery, 1968; Griffiths & Mylotte, 1987). Son alimentation varie en fonction des ressources disponibles et de la

saisonnalité. Ses prédateurs majoritaires sont les hérons, les poissons et les dytiques en phase aquatique et les sangliers, blaireaux et hérissons en phase terrestre (Barbery, 2005; Langton et al., 2001). Il est ainsi un maillon essentiel de la chaîne alimentaire puisqu'il est à la fois prédateur et proie.

La phase terrestre est, quant à elle, convoitée pour l'hivernation et s'étend généralement d'octobre à mars, période où les tritons se trouvent dans des souches et la litière. De par la fidélité à leur site de reproduction, la qualité du milieu terrestre environnant est donc particulièrement importante aux abords de ces sites (Kupfer & Kneitz, 2000). Dans plus de la moitié des cas en Wallonie, il s'agit de prairies pâturées ou extensives (Simon, 2000). L'estivation est également terrestre et se déroule préférentiellement dans des fourrés, haies et autres anfractuosités (Barbery, 2005). Les tritons crêtés semblent se trouver en nombres plus importants dans les forêts décidues et les pâtures proches. Il s'agit de microclimats humides et ombragés, où de nombreuses cachettes sont possibles pour les petits urodèles, tout en les protégeant contre la dessiccation (Gustafson et al., 2011).

Le triton crêté est manifestement une espèce tolérante vis-à-vis des autres amphibiens puisqu'on le retrouve dans 60% des sites en cohabitation avec 2 à 7 autres espèces d'amphibiens (Simon, 2000). Cela met également en lumière son exigence, puisqu'il n'est présent que lorsque l'environnement satisfait d'ores et déjà les besoins d'autres espèces.

4. Les tritons et leurs habitats en danger

Comme mentionné précédemment, la conservation des urodèles ne peut s'envisager sans prendre en considération les mares auxquelles ils sont inféodés. Selon les localités, entre 50 à 80% des mares wallonnes ont disparu depuis 1980, malgré leur importance cruciale. Ces mares jouent des rôles indispensables tels que le drainage des zones humides, l'abreuvement du bétail, la lutte contre les incendies, l'amélioration de la rétention des eaux pluviales, et l'atténuation de la pollution. Elles offrent également des services culturels, agissant comme des réserves d'eau mobilisables et des puits de carbone. De plus, elles abritent une panoplie d'espèces inféodées aux milieux humides (Graitson et al., 2009; Projet LIFE Prairies bocagères & Natagora asbl, 2015).

D'autres phénomènes provoquent une diminution des populations de tritons comme la pollution et l'eutrophisation des eaux, l'introduction de poissons, les opérations de drainages, de remembrements ou des curages. Les milieux bocagers, lieux de prédilection de la phase terrestre des tritons crêtés, doivent faire face à l'abandon des pratiques agricoles traditionnelles au profit

d'une agriculture intensive et de l'urbanisation, particulièrement en réponse au développement des parcs industriels. L'arrachage des haies et des bosquets provoque également une diminution des abris indispensables pour la phase terrestre (Barbery, 2005; Jacob et al., 2007). Tous ces facteurs conduisent à une fragmentation de leurs habitats.

Il faut en outre mentionner les menaces génétiques auxquelles le triton crêté est confronté. En effet, il est plus que tout autre amphibien sujet aux effets de la consanguinité puisque l'homomorphisme pour le chromosome 1 mène à 50% de mortalité des œufs. Elle est causée par une incompatibilité chromosomique lors de la fusion des gamètes (Wallace, 1987).

5. Des solutions pour sauver le dragon des mares

Des mesures ont déjà été mises en place afin de protéger et restaurer les habitats du triton crêté et ainsi d'améliorer la pérennité de l'espèce en Wallonie. Le projet Life Prairies Bocagères (2012-2020) a entre autres contribué à la conservation de l'urodèle en Fagne-Famenne en restaurant et construisant des mares dans les zones habitées par les crêtés. Ces actions ont permis la reconnexion de 14 populations par la colonisation de nouvelles étendues d'eau et ont entraîné une augmentation des effectifs de tritons crêtés (Goret, 2020).

Nous retenons de cet exemple que la création de chapelets de mares, distantes de 150 à 400 mètres est idéale et que la multiplication des points d'eau permet des échanges inter et intra populationnels. Ce maillage correspond à une densité de 4 à 8 mares par kilomètre carré (Graitson et al., 2009; Projet LIFE Prairies bocagères & Natagora asbl, 2015). La connexion peut également s'opérer sur le plan terrestre via la création de réseaux d'habitats favorables (Barbery, 2005). Il s'agit par exemple de maintenir les haies, les bosquets et de conserver les prairies. Le but ultime étant la formation d'un véritable réseau favorisant les déplacements des tritons de générations en générations (Jacob et al., 2007).

Toujours concernant les mares, un entretien est indispensable afin d'éviter leur comblement naturel. Un curage partiel est d'ailleurs recommandé si les effectifs sont menacés par le comblement. Dans d'autre cas, la dynamique naturelle est à privilégier (Barbery, 2005). Une diminution ou même un retrait des poissons peut être envisagé dans les mares où des tritons crêtés ont été détectés afin d'éviter une prédation accrue (Barbery, 2005).

En ce qui concerne l'agriculture, l'alternative extensive reste à privilégier. L'épandage d'engrais et d'amendements est à éviter à proximité des mares. Une zone tampon de 25 à 60 mètres est recommandée (Graitson et al., 2009; Murcia, 1995; Projet LIFE Prairies bocagères

& Natagora asbl, 2015). Ces actions peuvent évidemment être valorisées dans le cadre de méthodes agroenvironnementales et climatiques.

Pour terminer, il faut garder à l'esprit que la conservation est une combinaison entre l'écologie et la politique (Gent, 2001) et que les enjeux doivent être placés dans des contextes plus généraux. La conscientisation et l'information du grand public concernant l'herpétofaune reste une mesure à prospérer afin de sensibiliser aux problématiques environnementales (Barbery, 2005). Toute action visant à la protection de la diversité paysagère peut indirectement s'avérer bénéfique pour l'herpétofaune et donc pour les tritons (DGARNE/DNF, s. d.).

6. Intérêt de l'apport de connaissances génétiques sur le triton crêté en Wallonie

Dans le contexte spécifique du triton crêté en Wallonie, l'utilisation de connaissances génétiques peut contribuer à améliorer sa situation. L'enjeu crucial pour mettre en place des mesures de conservation adaptées est de comprendre l'organisation des populations de tritons crêtés. En effet, en recueillant des données récentes, il est possible d'évaluer l'évolution de la dynamique des populations (Barbery, 2005) et d'étudier la génétique de la conservation de l'espèce. Or, le déclin global des populations d'amphibiens a été peu étudié sous un angle génétique (Krupa et al., 2002), de même que la constitution génétique des espèces associées aux mares (Schön et al., 2011). C'est pourquoi l'objectif principal de cette étude est d'analyser la dynamique des populations actuelles de tritons crêtés en Wallonie en utilisant le génotypage des individus.

L'étude des microsatellites réalisée par Krupa (2002) sur les tritons crêtés a révélé que la plupart de leurs loci présentaient un polymorphisme, ce qui est cohérent avec l'histoire biogéographique de ces urodèles en Europe occidentale. Une étude flamande (Schön et al., 2011) suggère qu'il y aurait peu d'échanges génétiques et une forte structuration à une échelle locale. L'analyse similaire menée en Wallonie permettra de déterminer si les populations de tritons crêtés de l'autre côté du pays présentent la même configuration génétique.

Cette étude, commandée par le SPW, s'intègre dans la continuité du projet Life BNIP (Belgian Nature Integrated Project) qui a pour but d'atteindre les objectifs Natura2000 et de Conservation Européenne Nature. Il s'agit plus précisément du monitoring biologique nécessaire à la mise en œuvre concrète de plans d'actions en Wallonie (« A propos du Life BNIP », s. d.; Portail wallonie, s. d.).

III. OBJECTIFS

Les principaux objectifs poursuivis par ce travail sont :

- De dresser un état des lieux des populations wallonnes de tritons crêtés sur base de l'étude de 8 marqueurs microsatellites afin de mieux comprendre leur diversité, leur structuration génétique et déterminer le nombre de populations génétiques wallonnes.
- D'investiguer les variations et les flux de gènes entre les populations pour proposer des mesures de conservation efficaces, d'estimer les risques de consanguinité et d'évaluer les ruptures potentielles de connexions génétiques entre les populations wallonnes.
- De mieux comprendre la mobilité et les relations entre ces populations de tritons crêtés. Des éléments sur leur fonctionnement en métapopulations seront mis en évidence entre les populations étudiées.

Plus spécifiquement, nous nous sommes focalisés sur deux approches. La première a fourni des informations sur la structuration génétique des populations de tritons crêtés en Wallonie. La seconde s'est concentrée sur les flux de gènes, permettant notamment d'estimer les risques d'isolement génétique. Des indices de diversité génétique ont également été calculés pour mieux comprendre la santé génétique des populations étudiées. Différentes échelles géographiques ont été investiguées : l'échelle de la Wallonie, l'échelle des différentes sous-populations détectées et l'échelle de la mare pour les sites qui le permettent.

Les résultats ont aidé à formuler des recommandations de conservation spécifiques pour le triton crêté en Wallonie. Ces améliorations visent à préserver la diversité génétique et à maintenir les connexions entre les populations pour assurer la survie à long terme de l'espèce.

IV. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matériels

1.1. Sites de collectes et zone d'étude

Notre zone d'étude a couvert l'entièreté de la Wallonie (région correspondante à la partie sud de la Belgique) afin de produire une évaluation globale de la structuration génétique régionale. Bien que son relief ne soit pas sa caractéristique dominante, la région wallonne est une terre de contraste avec des zones agricoles et industrialisées au nord du sillon Sambre et Meuse et une contrée à tendance forestière et moins densément peuplée au sud. Les mares wallonnes comprennent notamment des sites fossoyés dans le Hainaut occidental, des fosses de terres plastiques dans le Condroz et des mardelles en Lorraine belge (Graitson et al., 2009).

La période de récolte s'est étendue de mars à mai, ce qui coïncide avec les maximas d'observations du triton crêté en Wallonie (Jacob et al., 2007). Un objectif de 20 échantillons buccaux par site était visé. Afin d'atteindre un objectif de 540 individus, certains sites contenaient exceptionnellement jusqu'à 45 prélèvements. Ces nombres ont été établis en tenant compte de plusieurs facteurs. D'abord, ils prennent en considération l'estimation des tailles de populations wallonnes de tritons bien qu'il n'existe pas de consensus quant à sa valeur précise à l'échelle régionale. Ensuite, un nombre plus conséquent d'échantillons est nécessaire afin d'identifier un maximum de variabilité génétique. Enfin, la multiplication des sites permet de détecter les sous-populations présentes. Ces valeurs sont donc considérées comme optimales puisqu'elles tiennent compte des objectifs de l'étude, des particularités génétiques de l'espèce ainsi que des contraintes temporelles et budgétaires tout en étant statistiquement significatives. Toute la campagne de terrain s'est réalisée dans le respect de la dérogation obtenue auprès du SPW Environnement.

Ce travail se base également sur 227 échantillons récoltés en 2019 lors d'une campagne organisée par Natagora. Ces derniers sont répartis entre 38 mares et comprenaient 20 sites. Ces données ont été récoltées sur l'ensemble de la Wallonie suivant les mêmes modalités que la campagne de 2023. Nous avons donc pour objectif de récolter 313 échantillons venant d'une cinquantaine de mares et comprenant 25 sites. L'analyse totale comprend donc 540 échantillons répartis sur 40 sites, rassemblant un peu moins d'une centaine de plans d'eau. Pour plus de

clarté, les noms des sites ont été remplacés par des abréviations. Les détails concernant les sites échantillonnés sont disponibles en annexe 2.

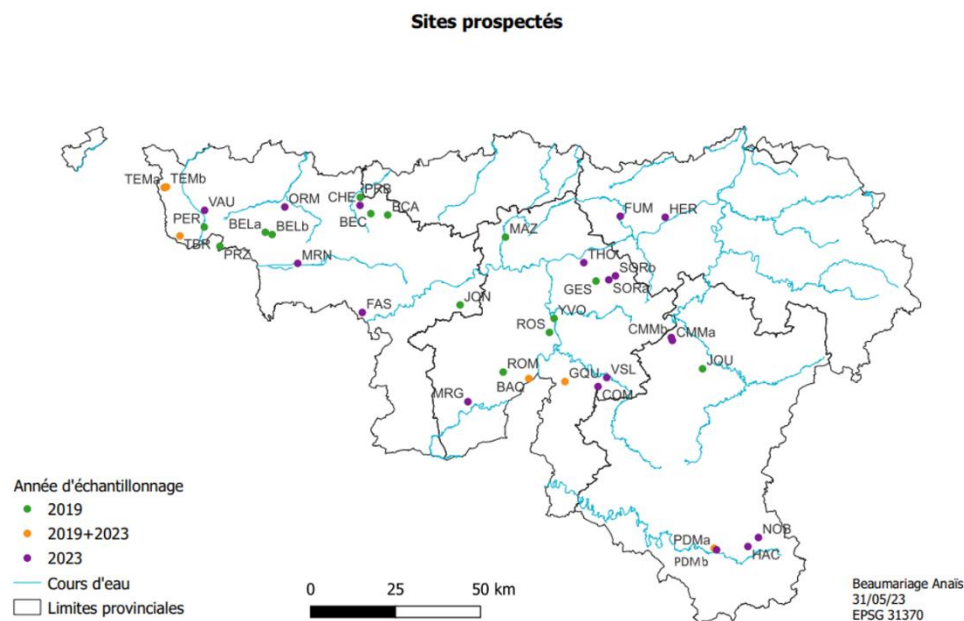


Fig.3 : Cartographie des sites prospectés en 2019 et 2023.

Les sites présentés sur la Fig.3 ont été sélectionnés selon plusieurs critères. Nous avons uniquement prospecté des sites où la présence du triton crêté a été avérée depuis 2010 selon la banque de données Raïne de Natagora. Ces données sont de diverses origines, certaines étant le résultat d'ADN environnemental, d'autres d'observations issues de la plateforme Observations.be (Éric Graitson, Comm. Pers.) ou encore d'inventaires réalisés par Natagora. Les sites les plus peuplés ont été choisis préférentiellement (CMM, VAU, VSL, PDMa), tout comme des sites déjà visités en 2019 afin de porter l'échantillonnage au plus proche de 20 individus par site (TBR, GQU, TEMa, BAQ, PDMb). D'autres sites ont été sélectionnés suivant leur position géographique intéressante afin d'offrir une couverture globale (NOB, FUM, HER, MRN, FAS). Enfin, certains ont été prospectés à cause de leur proximité avec des sites dont les résultats de 2019 méritaient une précision (CHE, THO, VSL, COM).

Les mares étudiées étaient présentes dans diverses localisations, à la fois dans des réserves naturelles que chez des particuliers, dans des jardins, des sites militaires, des bois, des prairies, des carrières, d'anciennes argilières, d'anciens bras de rivières, et ainsi de suite. Chaque site comprenait entre 1 et 6 mares, sauf le CMM. Deux mares étaient considérées comme appartenant au même site si leur distance était inférieure à un kilomètre, à quelques exceptions près (680m séparent les sites de TEMa et TEMb, 900m séparent les mares les plus proches de CMMa et CMMb). Ce critère est cohérent avec les capacités de dispersion des tritons crêtes compte tenu du relief belge.

1.2. Acquisition des données

Chaque mare a été échantillonnée avec la méthode des nasses à vairons (25 x 25 x 48cm). Ces dernières ont été prêtées par le SPW. Deux visites étaient nécessaires pour chaque site : la pose et la levée. La pose des nasses avait lieu en fin d'après-midi ou en début de soirée, moment où les tritons rejoignent les berges à la recherche d'eau plus chaude et de zones végétalisées pour la ponte. La mare devait être saturée en nasses, ce qui correspondait à environ une nasse tous les 5 mètres de berge favorable. Cela maximisait la probabilité que les tritons croisent leur route et assurait un effort de capture constant (Ferrais, 2018). Des bouteilles vides étaient placées en guise de flotteurs afin d'identifier aisément les endroits de pose et conserver une zone hors de l'eau pour la respiration des capturés. La levée avait lieu le lendemain matin, de manière à minimiser le temps de vie des tritons dans la nasse et réduire le stress causé par la capture. Un exemple de mare échantillonnée est illustré en Fig.4.



Fig.4 : Mare agricole à CHE (Anaïs Beaumariage).

Tous les amphibiens rencontrés dans les nasses ont été identifiés puis remis à l'eau. Ces informations sont encodées sur la plateforme Observations.be et les tritons crêtés sont également répertoriés sur le site de l'Observatoire de la Faune, de la Flore et des Habitats. Les prélèvements buccaux étaient exclusivement réservés aux crêtés à l'aide d'écouvillons stériles annotés (Deltalab® Collection swab, 13 x 165 mm). Deux prélèvements cutanés ont été réalisés en plus des prélèvements buccaux afin de tester leur efficacité. Ces derniers étaient conservés au sec et à température ambiante jusqu'au début des manipulations en laboratoire.

Ce type de collecte est qualifié de non invasif. Il a l'avantage de ne présenter aucun danger léthal pour les tritons et respecte les règles éthiques concernant la collecte d'échantillons d'espèces menacées. Bien que les échantillons non invasifs sont habituellement caractérisés par

une faible concentration d'ADN, ils peuvent présenter des résultats optimaux lorsque les marqueurs génétiques sont adéquatement ciblés, d'autant plus que les prélèvements buccaux présentent des rendements d'extraction d'ADN élevés (Broquet et al., 2007; Miller, 2006).

La méthode des nasses est quant à elle réputée pour ses bons résultats dans l'estimation de la présence ou non des tritons, particulièrement lorsqu'elles sont dépourvues d'entonnoir extérieur (Zrak, 2014). Les nasses sont néanmoins encombrantes et peuvent potentiellement engendrer des dégâts sur les berges si elles ne sont pas posées avec soin. Entre chaque mare, l'intégralité du matériel utilisé était désinfectée avec une solution de Virkon®. Des gants en latex étaient employés pour la manipulation des individus. Les prélèvements respectaient les recommandations de réduction des risques de dissémination d'agents infectieux et parasitaires chez les amphibiens lors d'interventions sur le terrain (Dejean et al., 2007) et les précautions pour les inventaires faunistiques du DEMNA (DEMNA, s. d.) concernant les risques de propagation de la chytridiomycose. Le protocole d'échantillonnage est consultable en annexe 3.

1.3. Microsatellites sélectionnés

Locus	Séquence de l'amorce	Gamme de taille de l'allèle (pb)	Nombre d'allèles	Fluorochrome	Mix
Tcri13	F: GTGATGGTTGCCAAGC	114–130	4	Bleu (FAM)	3
	R: GATCCAAGACACAGAATATTTAG				
Tcri27	F: GATCCAAGTATAGTGAAAATAAATAAAG	246–295	6	Rouge (PET)	1
	R: CAAGTTAGTATATGATATGCCTTTG				
Tcri29	F: CGAGTTGCCAGACAAG	298–330	5	Bleu (FAM)	1
	R: GATCACATGCCCATGGA				
Tcri32	F: GAAACTCGTAATCCAGCCCTAA	442–474	7	Bleu (FAM)	3
	R: CAAGCCTCTTGCTTTGAGT				
Tcri35	F: CCAACTGGTATGGCATTG	185–229	5	Bleu (FAM)	1
	R: GATCACAGAACTCTGAATATAAGC				
Tcri36	F: GATCATCTGAATCCCTCTG	266–282	3	Bleu (FAM)	2
	R: ATACATTCATGACGTTTGG				
Tcri43	F: CTTTTACACCACTGGAGCA	262–298	9	Vert (VIC)	2
	R: GTTCTATTAGTCTGGCATTGGCTGC				
Tcri46	F: CAAGTTTCTCTGAAGCCAG	260–296	6	Jaune (NED)	2
	R: GTTCTTGCTGACAAAGTAATGCTTC				

Tableau 1 : Locus microsatellites utilisés (Krupa et al., 2002).

Les marqueurs microsatellites sélectionnés sont spécifiques au triton crêté (Krupa et al., 2002) et ont déjà fait leurs preuves dans des études similaires (Jehle et al., 2005; Maletzky et al., 2009; Mikulíček et al., 2012; Schön et al., 2011; Vacher & Ursenbacher, 2014). Huit couples d'amorces ont été utilisés et répartis en trois multiplex, détaillés dans le tableau 1, afin d'optimiser leur lecture au génotypage. Le premier contenait Tcri27, Tcri29 et Tcri35. Le

second comprenait Tcri36, Tcri46, et Tcri43. Le dernier était composé de Tcri13 et Tcri32. Une amorce de chaque microsatellite était marquée par un fluorochrome.

Chaque microsatellite est entouré d'une paire d'amorces qui lui est spécifique, amorces utilisées pour l'amplification PCR. Ces régions sont généralement conservées entre les individus d'une même espèce, ce qui permet d'identifier un microsatellite par ces régions spécifiques (Selkoe & Toonen, 2006). Les amorces étant identifiées, l'ajout de désoxyribonucléotides triphosphates (dNTPs englobants dATPs, dCTPs, dGTPs, dTTPs) permet à la polymérase de procéder à la réplication de la zone cible lors de la PCR. L'enzyme est synthétisée par la bactérie *Thermophilus aquaticus* et possède un optimum de fonctionnement à 70°C.

2. Méthodes

2.1. Techniques moléculaires

2.1.1. Principe de l'extraction d'ADN

L'ADN de chaque échantillon de salive a été extrait à l'aide du kit QiaAmp DNA Mini suivant les recommandations du fabricant. Cette étape permet d'isoler la molécule d'ADN en cassant les cellules et en les séparant de tous les autres constituants présents sur l'écouvillon. Nous obtenons de cette manière un échantillon suffisamment purifié et riche en ADN pour la suite des manipulations moléculaires. Des contrôles négatifs ont été réalisés afin de confirmer la qualité des données. Le protocole détaillé se trouve en annexe 4.

Toutes les manipulations se sont déroulées dans des conditions stériles afin d'éviter toute contamination avec de l'ADN exogène. Des Tips à filtration ont été utilisés, les ciseaux stérilisés au bec bunsen entre chaque échantillon ainsi que la paillasse nettoyée entre chaque utilisation.

Au niveau des réactifs, le PBS (tampon de phosphate salin) diminue les forces ioniques entre les atomes. Il permet de récupérer plus facilement l'ADN en facilitant sa mise en solution. Le buffer AL (tampon de lyse) participe ensuite à la destruction des lipides et donc à la fragilisation de la membrane cellulaire en agissant de concert avec la protéinase K, qui joue un rôle dans la dégradation des histones. L'éthanol permet de faire précipiter l'ADN tandis que les tampons AW1 et AW2 sont des tampons de lavage. Enfin, le tampon d'élution (souvent du tris-EDTA), est l'élément permettant l'extraction par affinité de l'ADN chargé négativement.

2.1.2. Principe de l'amplification par PCR

Notre ADN extrait a par la suite été amplifié par PCR. La réaction en chaine par polymérase permet d'amplifier de l'ADN via des cycles de changements de température. Elle génère la formation d'un grand nombre de copies de fragments d'ADN.

C'est à cette étape que les mix multiplex contenant les amorces des microsatellites étaient ajoutés à notre ADN extrait dans une plaque 96 puits. Le Mastermix était également ajouté et incluait les autres composants de la PCR, notamment l'enzyme Taq polymérase et les dNTP. Le protocole utilisé est repris en annexe 5.

Lors de toute PCR, une période de chauffage initiale et une élongation finale a lieu. La première permet au thermocycleur d'atteindre sa température de séparation et d'activer la Taq polymérase, la seconde assure la polymérisation complète. Entre ces deux étapes, chaque cycle est divisé en trois parties : la séparation (ou dénaturation), l'hybridation et l'élongation. La séparation (30s à 94°C) des deux brins de la double hélice d'ADN est causée par la rupture des liaisons hydrogènes entre les bases. L'hybridation (1min30sec à 60°C) permet aux amorces de se lier au brin matrice. L'élongation (1min à 72°C) est opérée par la polymérase qui synthétise le nouveau brin. 40 cycles sont effectués, à savoir que la quantité d'ADN est doublée à chaque cycle (Keenan et al., 2013).

Les produits PCR étaient conservés au congélateur à -20°C jusqu'à leur envoi au génotypage. Une dilution avait alors lieu ainsi que l'ajout de formamide (Applied Biosystems™ Formamide Hi-Di™, agent de dénaturation) et d'un standard de taille (GeneScan™ 500 LIZ®). Des contrôles négatifs et positifs (avec des échantillons de 2019) ont été réalisés afin d'assurer la qualité des données.

2.1.3. Génotypage

Le génotypage permet de détecter le polymorphisme des fragments amplifiés via une électrophorèse capillaire des produits PCR dans un séquenceur automatique. Les fluorochromes correspondants aux microsatellites spécifiques au triton crété peuvent être détectés selon leur longueur d'onde lors de l'excitation avec un faisceau laser. Cette dernière varie selon la charge et la taille des fragments. Cette étape est réalisée grâce à l'utilisation d'un séquenceur 3730 Genetic Analyser (Applied Biosystems™) mis à notre disposition à l'université libre de Bruxelles. Une partie des échantillons a été analysée en duplicatas afin de maximiser la visibilité de leur génotype et d'optimiser la quantité de données récoltées.

2.2. Analyse des données génétiques

2.2.1. Encodage des génotypes

La visualisation des génotypes peut se faire par la lecture d'électrophorogrammes. Ces derniers ont été produits avec le logiciel GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems™) et permettent de visualiser les allèles présents pour chaque microsatellite et ce, pour chaque individu. La taille des pics correspond à la taille du fragment en nombre de paires de bases. Un changement de taille entre différents allèles d'un même microsatellite indique une hétérozygotie pour ce dernier, correspondant à un nombre différent de répétitions du microsatellite. L'encodage a été réalisé manuellement.

2.2.2. Individualisation

Une vérification à l'aide du script ConGenR sur Rstudio (Version 2021.09.0) (Lonsinger & Waits, 2015) a permis de mettre en évidence d'éventuels génotypes identiques, indiquant qu'un même individu a été capturé à plusieurs reprises ou qu'il s'agissait de vrais jumeaux.

2.2.3. Analyses de la structure des populations

CIPRES Science Gateway (V.3.3) est une ressource publique qui permet d'effectuer des inférences sur des bases de données génétiques. Parmi les outils disponibles, le logiciel ParallelStructure permet des exécutions parallèles du programme Structure sur des ordinateurs multicœurs. Comme son nom l'indique, le programme Structure est utilisé en génétique des populations pour détecter une possible structure populationnelle et déterminer le nombre de populations génétiques en assignant statistiquement chaque individu à un groupe en fonction de son génotype. Il sera assigné à plusieurs populations si son génotype est mixé. Le programme utilise l'estimation des fréquences alléliques dans chaque population pour calculer la probabilité d'appartenance d'un individu à une population. Il utilise un algorithme de clustering bayésien basé sur les chaînes de Markov Monte-Carlo et un modèle d'admixture pour minimiser le déséquilibre de Hardy-Weinberg. Le programme effectue des simulations avec différentes valeurs de K (nombre de populations) et une valeur de vraisemblance y est associée. Le meilleur K peut être déduit selon plusieurs méthodes. Celle de Pritchard (Pritchard et al., 2010) spécifie que le K le plus probable est celui trouvé lorsque la probabilité logarithmique des données $\ln \Pr(X|K)$ n'augmente plus significativement avec l'augmentation du nombre de K. La méthode d'Evanno (Evanno et al., 2005) indique que le K le plus probable est celui où la valeur du ΔK est minimale et pour laquelle la variance inter-simulations est la plus faible. Chaque simulation est composée d'une période de burn-in (50 000 runs) permettant l'indépendance aux conditions initiales et d'une période d'itérations composée de 500 000 runs, pour un nombre de K variant

entre 1 et 10, valeurs recommandées par Pritchard (Besnier & Glover, 2013; CIPRES – Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research, s. d.; Gilbert, 2016; Janes et al., 2017; Pritchard, J. K., & Wen, W, 2003; Pritchard et al., 2000).

Le post-traitement des résultats a été réalisé avec le logiciel CLUMPP (Cluster Matching and Permutation Program) de la plateforme Clumpak (Cluster Markov Packager Across K), Structure harvester (v0.6.94) et pophelper (v1.0.10). Tous les trois se complètent dans la visualisation graphique des résultats et la comparaison de regroupement sur différentes valeurs de K pour faciliter la détection du nombre de groupes génétiques qui correspondent le mieux aux données (Earl, Dent A. & vonHoldt, Bridgett M., 2012; Francis, 2017; Kopelman et al., 2015). L'intérêt des analyses de clustering est d'examiner les niveaux de structuration à différentes échelles. Dans cette étude, nous commencerons par analyser la structure à l'échelle de l'ensemble des données, puis nous affinerons l'analyse en répétant le processus à des niveaux plus restreints : le nord et le sud de la Wallonie, des régions spécifiques d'intérêt et enfin au niveau des sites possédant un grand nombre de mares échantillonnées pour préciser une potentielle micro-structuration.

2.2.4. Analyses du flux de gènes, diversité et différenciation génétique

Les F-statistiques sont des mesures utilisées pour évaluer les flux de gènes au sein des populations ou entre celles-ci, en prenant en compte un intervalle de confiance. Elles permettent de quantifier la différenciation génétique et offrent des informations sur la structuration des populations. Ces indices permettent de mieux comprendre les relations entre les populations (Allendorf et al., 2022; Jost et al., 2018; Keenan et al., 2013).

diveRsity (Keenan et al., 2013) est un package compatible avec le logiciel Rstudio (Version 2021.09.0) permettant d'explorer la génétique des populations de données en estimant certains de ces paramètres génétiques avec la méthode du Bootstrap. Les différents indices quantifient de manière complémentaire la structure des populations. Il est important de ne pas les comparer puisqu'ils ne mesurent pas exactement les mêmes traits mais d'en déduire la tendance globale. Les indices estimés dans ce travail sont (Allendorf et al., 2022; Jost et al., 2018; Keenan et al., 2013) :

- F_{is} : coefficient de consanguinité. Il mesure la diminution de l'hétérozygotie (et donc l'écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg) d'un individu par rapport à sa sous-population. Il fournit donc des informations sur les risques de consanguinité. Le F_{is} est le rapport de la différence

entre l'hétérozygotie globale espérée (H_e) et l'hétérozygotie globale observée (H_o) sur l'hétérozygotie globale espérée. Les valeurs oscillent entre -1 (déficit d'homozygotes, population déséquilibrée), 0 (risque faible de consanguinité, pas d'excès d'homozygotes) et 1 (risque élevé de consanguinité, excès d'homozygotes).

$$F_{is} = (H_e - H_o)/H_e \quad (1)$$

- G_{st} : indice de fixation. Il fournit des informations sur les flux géniques en quantifiant l'écart d'une sous-population par rapport à la population totale. Il exprime donc la diminution de l'hétérozygotie de cette sous-population causée par exemple par la dérive génique, autrement dit, la déviation à la panmixie. L'indice utilisé est souvent $G'st$, une valeur standardisée qui équivaut au G_{st} divisé par ses valeurs maximales possibles, afin qu'elles fluctuent entre 0 (populations indifférenciées, échanges accrus) et 1 (pas de flux génétique, aucun échange entre les populations, risques d'isolement). Le G_{st} est le rapport de la différence entre l'hétérozygotie espérée d'un individu dans la population totale équivalente en panmixie (H_t) et l'hétérozygotie espérée d'un individu dans la sous-population équivalente en panmixie (H_s) sur l'hétérozygotie espérée d'un individu dans la population totale équivalente en panmixie.

$$G_{st} = (H_t - H_s)/H_t \quad (2)$$

- D_{jost} : indice de différenciation allélique. Il mesure la fraction de la variation allélique entre les populations, autrement dit, la déviation à la population totale possiblement due aux flux de gènes. Cet indice pondère les allèles par le carré de leur fréquence. Ses tendances sont donc semblables à celles du G_{st} : ses valeurs approchent de 0 quand les allèles de toutes les populations et leurs fréquences sont identiques et de 1 quand chaque population a ses propres allèles. d représente ici le nombre de populations :

$$D_{jost} = \left[\frac{H_t - H_s}{1 - H_s} \right] * \left[\frac{d}{d-1} \right] \quad (3)$$

D'autres paramètres de diversité génétique sont mesurés comme le nombre d'allèles (A), le pourcentage d'allèle total présent dans la population (%), la richesse allélique (A_r), l'hétérozygotie observée (H_o) et espérée (H_e) et l'adéquation au modèle d'Hardy Weinberg (HWE). Il faut néanmoins garder à l'esprit que les valeurs des indices indiquent des cas extrêmes et bialléliques. Il s'agit donc d'une tendance à interpréter et non de valeurs absolues.

2.2.5. Test de corrélation de Mantel

Un test de Mantel (Mantel, 1967) a été effectué à l'aide du package `vegan` sur Rstudio (Version 2021.09.0) afin de tester la présence d'une corrélation significative entre la distance géographique et la distance génétique au seuil de significativité de 0.05.

V. RÉSULTATS

1. Considérations générales

En 2023, la présence d'au moins un individu de triton crêté a été détectée dans 41 des 56 mares prospectées. Tous les sites échantillonnés abritaient minimum un individu dans au moins une de leur(s) mare(s) sauf ETA (2023) et WIN (2019). Toujours en 2023, les sexes sont répartis comme suit : 158 mâles, 142 femelles et 13 individus non identifiés. Le nombre moyen de tritons crêtés par site est de 12.5 et la médiane de 10. Les sites où les plus grands nombres de tritons crêtés ont été recensés en 2023 sont FSA (12 femelles et 21 mâles), CMM (16 femelles et 28 mâles), CHE (30 femelles et 21 mâles), GQU (21 femelles et 19 mâles). En 2019, il s'agissait des sites de PRB (33 femelles et 12 mâles) et BELa et b (25 femelles et 12 mâles).

Les échantillons avec une absence de signal pour au moins 6 des 16 allèles étudiés ont été écartés, laissant 82.2% des échantillons récoltés (N=444) pour la suite des analyses. Les 96 échantillons aux génotypes incomplets (dont les individus de HAC et HER) n'ont pas été analysés. Un de nos deux échantillons avec frottis ventral a donné un signal au génotypage. Aucun individu de 2023 n'a été enlevé à la suite de l'individualisation. Une femelle de 2019 a probablement été recapturée et échantillonnée dans les deux mares (séparées de 500m) de PRB à 20 jours d'intervalle. Un seul génotype de cet individu a été analysé.

Les points suivants détaillent les analyses effectuées concernant les différents niveaux de structuration, de diversité et de différenciation génétiques :

2. Échelle de la Wallonie

2.1 Structuration génétique

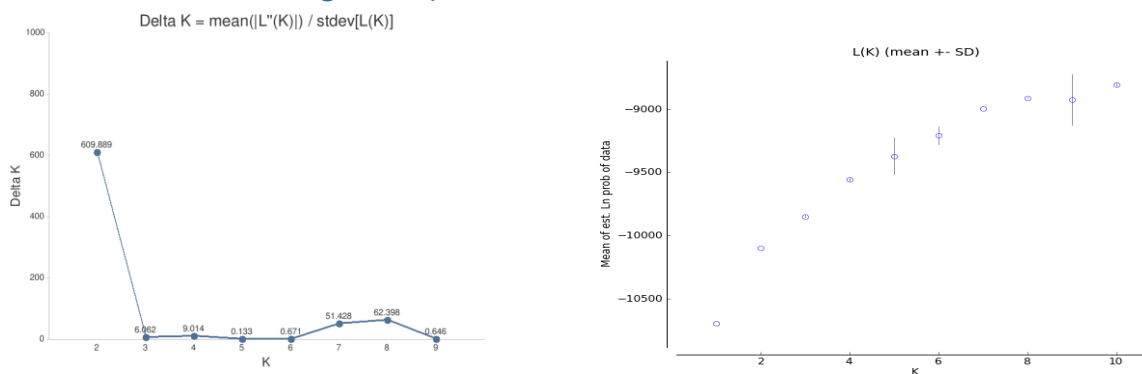


Fig. 5 : Graphiques représentant la valeur de delta K en fonction de K (K étant le nombre de groupes génétiques) selon la méthode d'Evanno à gauche ; et la valeur de $\ln P(K)$ en fonction de K selon la méthode de Pritchard à droite (d'après l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des données).

La méthode d’Evanno a montré une structure en deux lignées comme meilleure valeur (cf. Fig.5). Cependant, cette méthode tend toujours à choisir K=2 comme nombre idéal de populations et à potentiellement sous évaluer la structuration génétique (Janes et al., 2017). C’est pourquoi elle est à coupler avec d’autres indices comme le pourcentage d’affiliation des individus aux clusters, la vraisemblance ou encore la méthode de Pritchard afin de choisir le nombre de clusters qui décrit le mieux les données. Ces derniers tendent à sélectionner K=8 pour expliquer la répartition des individus au sein des différentes lignées génétiques, ce qui représente le nombre de clusters qui correspond au mieux aux données tout en restant plausible biologiquement. L’analyse de la répartition des clusters suivant différentes valeurs de K est disponible en annexe 6. Chaque niveau de séparation apporte des précisions à différentes échelles. Nous nous focaliserons sur les deux grandes lignées au sein desquelles s’inscrivent les huit groupes génétiques identifiés.

2.2. Séparation en deux groupes génétiques

2.2.1. Structuration génétique

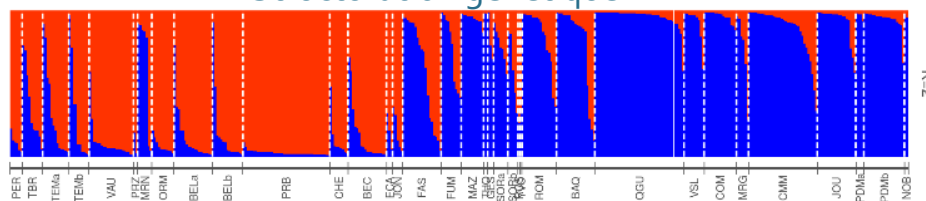


Fig.6 : Résultats de l’analyse STRUCTURE sur l’ensemble des génotypes de tritons collectés en Wallonie pour K=2. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d’appartenir à chacun des clusters.

325 individus sont assignés à plus de 90% à un des deux clusters, ce qui représente près de 73% des données. Les autres individus présentent des mélanges entre ces deux lignées.

Cette superstructure tend à opposer la région limoneuse hennuyère (à partir des sites au nord de la Haine), en rouge sur la Fig.6 avec le reste de la Wallonie, en bleu. Lorsque l’on considère un nombre plus élevé de sous-populations, cette superstructure se précise en différents clusters génétiques. Une carte des affiliations de chaque site est disponible en annexe 7.

2.2.2. Diversité génétique des deux clusters

	N	A	%	Ar	Ho	He	HWE	Fis	Fis_Low	Fis_High
Nord	119	69	73.53	7.83	0.47	0.61	0	0.2317	0.1827	0.2788
Sud	154	72	74.9	8.26	0.54	0.73	0	0.2583	0.215	0.3025

Tableau 2 : Paramètres de diversité génétique au sein des clusters quand K=2. Nord = Hainaut (nord de la Haine) ; Sud = Reste de la Wallonie. N = nombre d’individus ; A = nombre d’allèles ; % = pourcentage d’allèles total observé ; Ar = richesse allélique ; Ho = hétérozygotie observée ; He = hétérozygotie attendue ; HWE = adéquation à l’équilibre d’Hardy-Weinberg ; Fis = coefficient de consanguinité ; Fis_Low = valeur inférieure de l’intervalle de confiance du Fis ; Fis_High = valeur supérieure de l’intervalle de confiance du Fis.

Les effectifs, le nombre d'allèles, la richesse allélique et le pourcentage de richesse allélique totale sont similaires entre les deux clusters (cf. Tableau 2). Cependant, les hétérozygoties observée et espérée sont légèrement plus basses pour les individus du Nord. L'indice de consanguinité des tritons du Nord (0.2317, IC : 0.1827 ;0.2788) est plus faible que dans le Sud (0.2583, IC : 0.215 ;0.3025), bien que les intervalles de confiance se chevauchent, ce qui indique que cette différence n'est pas significative.

2.2.3. Différenciation génétique et flux de gènes entre les deux clusters

Les valeurs de différenciation génétique ($D_{\text{jost}} = 0.2726$, IC : 0.2393 ;0.3083) et de flux de gènes ($G^*_{\text{st}} = 0.3407$, IC : 0.3054 ;0.3782) sont relativement élevées, il y a donc une grande différenciation entre ces deux lignées majeures de Wallonie. Le tableau reprenant ces valeurs se trouve en annexe 8.

2.3. Séparation en huit groupes génétiques

2.3.1. Structuration génétique

Comme mentionné précédemment, huit groupes génétiques apparaissent au sein de ces deux lignées majeures. 27.25% des données sont assignées à minimum 90% à un des 8 clusters détectés, ce qui correspond à 121 individus sur 444. Parmi les groupes génétiques identifiés et représentés en Fig.7, 4 groupes sont localisés au nord du sillon Sambre-Meuse, 6 se trouvent au sud, et 2 sont présents de part et d'autre du fleuve. La composition des clusters avec des individus affiliés à plus 90% est la suivante :

Le cluster vert clair est formé par 2 individus de TEMa mais il rassemble 9 individus de TEMa, TEMb et PRZ qui y sont affiliés à plus de 80%.

Le cluster vert foncé est composé de 2 individus de VAU, 3 d'ORM, 2 de BELa, 1 de BELb et 1 de JON.

Le cluster bleu foncé contient 31 tritons crêtés de PRB affiliés à plus de 90%.

Le cluster noir est composé d'un individu de FUM, 2 de GQU et 4 de JOU.

Le cluster orange contient 17 animaux du CMM et 1 de SORb.

Le cluster rouge est formé de 13 individus de GQU, 2 de VSL et 6 de COM.

Le cluster de jaune compte 15 tritons crêtés du site de BAQ.

Le cluster de bleu clair reprend les 2 individus de NOB, 3 des 4 individus de PDMA et 13 des 20 de PDMb.

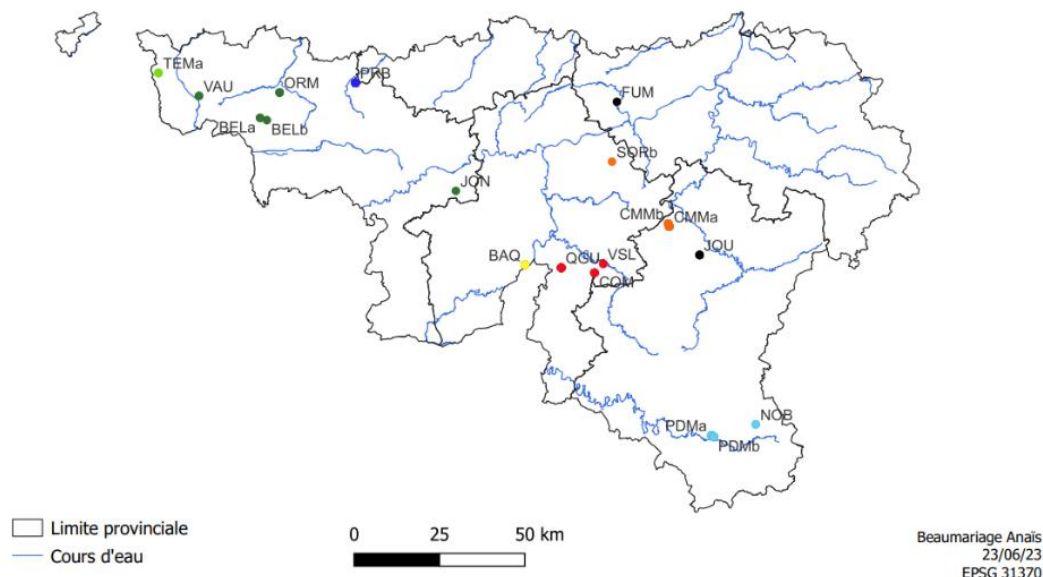


Fig.7 : Répartition des individus assignés à plus de 90% à chaque cluster pour K = 8.

Néanmoins, cette approche catégorique ne permet pas une interprétation complète de l'information pour une partie des sites échantillonnés. C'est pourquoi des analyses plus approfondies et nuancées ont été menées pour obtenir une compréhension plus fine des données.

Ces dernières ont d'abord confirmé l'existence de trois clusters distincts : PRB (N=43), la Famenne (N=70) et la Lorraine belge (N=26). Ensuite, CMMa (N=18) et CMMb (N=16) s'individualisent. Il n'y a aucune structuration génétique au sein des tritons habitant les mares qui composent ces deux sites, tout comme entre BELa (N=19) et BELb (N=15), au sein de GQU (N=44) (cf. Annexes 9 à 11) et entre TEMa (N=13) et TEMb (N=10). La zone du Condroz reste une zone présentant de l'admixture. La subtilité réside dans la structuration des individus du Hainaut, où des sous-populations apparaissent selon la zone étudiée et le nombre de lignées considéré. Les analyses à différentes échelles géographiques sont disponibles dans les annexes 12 à 17.

Comme visualisé sur la Fig.8, les deux clusters verts rassemblent la majorité des sites du Hainaut, à l'exception de PRB qui forme sa propre sous-population. En prenant en considération toutes les données et en se concentrant sur les sites situés au nord du sillon Sambre-Meuse, une implication possible de l'Escaut en tant que barrière semble apparaître, bien que cela ne soit pas clairement établi : d'un côté, il y a TEMa et TEMb, TBR (N=10) et PER (N=6). De l'autre, il y a BELa, BELb, ORM (N=11) et VAU (N=22). Dans tous les cas de figure, CHE (N=9), BEC (N=19) et ECA (N=3) ne sont pas associés à PRB malgré leur distance géographique réduite. Les individus de TBR et ORM ne sont assignés à aucun cluster de manière claire et ont tendance à se rapprocher dans certains niveaux d'analyses.

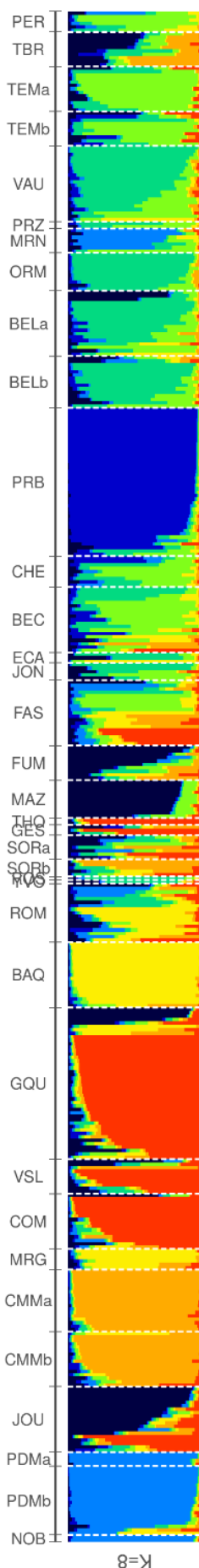


Fig.8 : Résultats de l’analyse STRUCTURE sur l’ensemble des génotypes de tritons collectés en Wallonie pour K=8. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d’appartenir à chacun des clusters.

Dans le Hainaut central, MRN (N=7) a une situation ambiguë. Ce site possède des allèles affiliés à la Lorraine belge bien que leurs génotypes restent mixtes (aucun individu n’y assigné à plus de 90%), tout comme ceux de FAS (N=19). Les deux sites sont d’ailleurs rassemblés dans un même cluster lorsqu’on analyse plus finement le Hainaut.

JON (N=5) possède un individu s’apparentant aux clusters du Hainaut bien qu’il soit situé en dessous de la Sambre et il n’est pas du tout affilié aux tritons des autres sites présents dans le sillon Sambre-Meuse. Ce triton présente 5 valeurs manquantes dans son génotype. Cette affiliation pourrait alors être induite par un manque de signal génétique. Les génotypes des individus sites de BEC, ECA, YVO (N=1), ROS (N=1), PRZ (N=2) et GES (N=3) présentent de l’admixture dans tous les niveaux d’analyses.

Dans le Condroz, les deux individus de THO sont assignés au cluster rouge à plus de 80%. Les individus de SORa (N=7) et de SORb (N=5) ne sont associés à aucun cluster à plus de 90% hormis un individu de SORb au cluster orange. Des individus de GQU en Famenne forment leur propre cluster avec ceux de VSL (N=10) et COM (N=16). Ces deux derniers forment un nouveau cluster, se séparant de GQU lorsque nous analysons les données des sites au sud du sillon.

Les positions de JOU (N=19), MAZ (N=11) et FUM (N=10) varient selon les données et la zone considérée. JOU possède trois individus affiliés à plus de 90% au cluster noir, FUM en possède un. Deux individus de GQU sont également assignés à ce cluster noir. JOU, MAZ et FUM possèdent en général de l’admixture.

MRG (N=6) conserve des génotypes mixés et aucun individu n’est assigné à plus de 90% à un cluster. En revanche, trois individus sont affiliés à plus de 87.8% au cluster formé par les individus de BAQ (N=19) lors de l’analyse sur les sites du sud du sillon Sambre-Meuse et ils sont nettement

associés lorsqu'on oppose le Hainaut face à tous les autres sites. Dans l'analyse globale, BAQ forme son propre cluster autour de Philippeville. ROM (N=17) a des génotypes mixés mais quelques allèles se raccordent à ce dernier quand on analyse que les sites du sillon. Ces deux sites étaient d'ailleurs affiliés au même cluster dans l'analyse préliminaire des données 2019.

Afin de mieux visualiser la répartition des différents clusters à travers la Wallonie, le pourcentage d'appartenance moyen aux différents clusters est calculé pour chaque site.

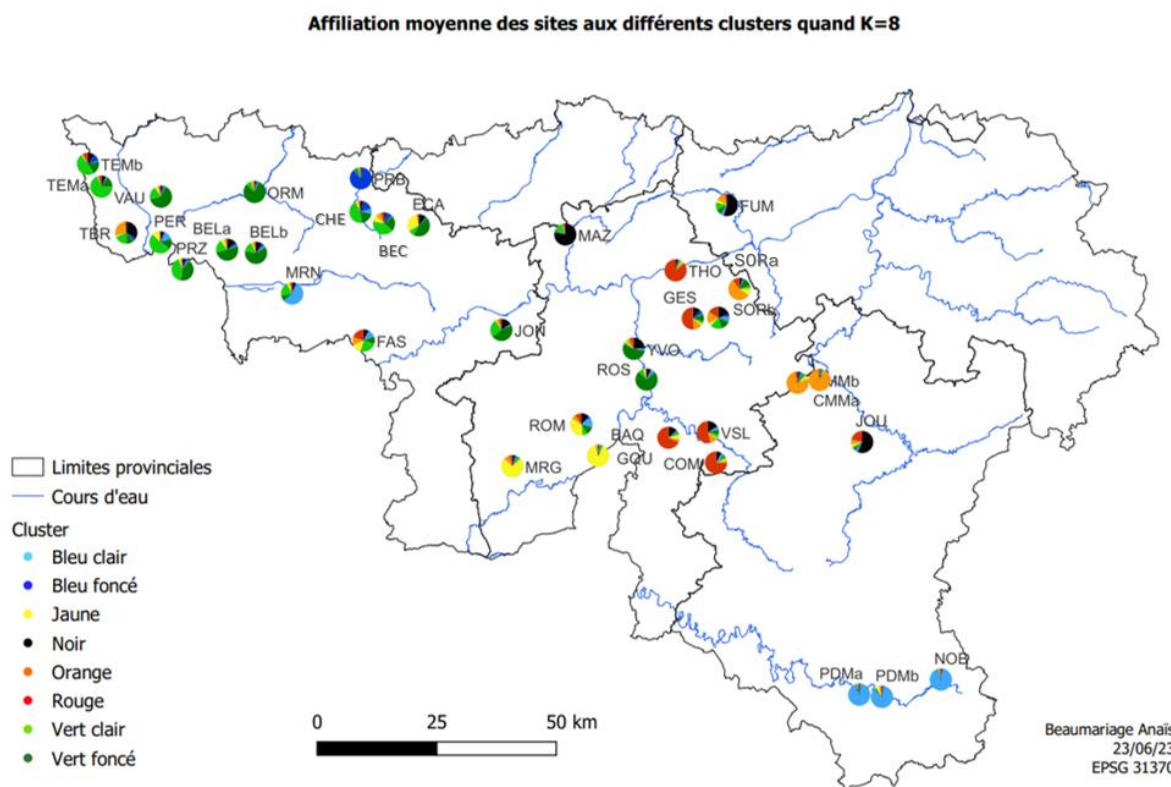


Fig.9 : Représentation de l'affiliation moyenne de chaque site à chacun des 8 clusters. Chaque camembert montre le pourcentage moyen d'appartenance aux différents clusters de tous les individus d'un site.

La Fig.9 offre une visualisation complète des affiliations des sites en exposant non seulement les individus affiliés à plus de 90% de la Fig.7 mais aussi en mettant en évidence les affiliations des sites où aucun individu n'est clairement attribué à un cluster spécifique à 90%. Il s'agit donc d'une représentation du brassage génétique moyen au sein de ces sites et non d'affiliations claires à plusieurs clusters distincts. Cela permet de visualiser les tendances des sites à se rapprocher ou pas d'un cluster particulier et permet de compléter le signal détecté en Fig.7. Les individus de FAS conservent un mélange entre tous les clusters. Les sites du Condroz possèdent des génotypes mélangés, tout comme TBR. ROM tend à se rapprocher du cluster jaune.

2.3.2. Diversité génétique des huit clusters

	N	A	%	Ar	Ho	He	HWE	Fis	Fis_Low	Fis_High
VertC	2	18	23.81	1.85	0.44	0.39	0.4762	-0.12	-0.5415	0.3385
VertF	9	32	45.64	2.06	0.48	0.6	0.1206	0.1892	0.0112	0.3059
BleuF	31	17	22.4	1.56	0.39	0.43	0.0801	0.3136	0.2176	0.4063
Jaune	15	27	38.41	2.08	0.53	0.52	0.766	-0.0081	-0.1373	0.1284
Noir	7	26	35.06	1.98	0.52	0.53	0.0405	0.014	-0.2647	0.2457
Rouge	21	33	46.37	1.95	0.4	0.57	0.0054	0.296	0.1541	0.4354
Orange	18	30	40.88	2.08	0.51	0.59	0.2237	0.1301	-0.0543	0.3148
BleuC	18	36	47.17	2.14	0.55	0.6	0.0086	0.0881	-0.0402	0.2328

Tableau 3 : Paramètres de diversité génétique au sein des clusters quand K=8. C = clair ; F = foncé ; N = nombre d'individus ; A = nombre d'allèles ; % = pourcentage d'allèles total observé ; Ar = richesse allélique ; Ho = hétérozygotie observée ; He = hétérozygotie attendue ; HWE = adéquation à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; Fis = coefficient de consanguinité ; Fis_Low = valeur inférieure de l'intervalle de confiance du Fis ; Fis_High = valeur supérieure de l'intervalle de confiance du Fis.

Tous les clusters ont été inclus dans cette analyse, même ceux qui comprennent moins de 10 individus avec une affiliation de plus de 90%. Il est important de noter que les résultats de diversité génétique extrêmes peuvent être influencés par de faibles effectifs. Par conséquent, il est recommandé de les interpréter avec prudence.

Comme représenté dans le tableau 3, les deux animaux de TEMa composant le cluster vert clair comprennent l'indice de consanguinité aux intervalles les plus larges (-0.5415 ; 0.3385). Ceux faisant partie du cluster bleu foncé (0.3136, IC : 0.2176 ; 0.4063) risquent les effets délétères de la consanguinité au vu de leur F_{is} élevé. Le cluster jaune (-0.0081, IC : -0.1373 ; 0.1284) présente des indices de consanguinité incitant peu à la méfiance. La richesse allélique la plus élevée se retrouve dans le cluster bleu clair (2.14), jaune (2.08), orange (2.08) et vert foncé (2.06) ; la plus faible dans le cluster bleu foncé (1.56). L'équilibre d'Hardy-Weinberg n'est pas respecté dans les clusters bleu foncé, noir, rouge et bleu clair.

2.3.3. Différenciation génétique et flux de gènes entre les huit clusters

Les flux de gènes les plus importants sont observés entre les clusters vert clair et vert foncé ($G'st = 0.2972$, IC : 0.1129 ; 0.4859) ainsi qu'entre le vert clair et le bleu foncé ($G'st = 0.252$, IC : 0.1371 ; 0.4797), qui sont les clusters voisins du Hainaut. Ces deux paires de clusters présentent logiquement la plus faible différenciation génétique ($D_{jost} = 0.1097$, IC : -0.038 ; 0.2925 pour vert clair et vert foncé ; $D_{jost} = 0.1314$, IC : 0.0696 ; 0.2441 pour vert clair et bleu foncé). En revanche, la différenciation génétique est la plus élevée dans les associations impliquant le cluster bleu clair, ce qui correspond également aux échanges de gènes les plus faibles entre ce cluster et les autres. Cependant, les intervalles de confiance indiquent que ces

différences ne sont pas toutes significatives. Cela signifie en outre que les compositions des clusters wallons ne sont pas fixées et que leurs flux de gènes ne sont pas totalement imperméables. Les tableaux détaillant les comparaisons et leurs intervalles de confiance se trouvent en annexe 18.

3. Échelle des sites échantillonnés

3.1. Diversité génétique des sites

Seuls les sites contenant minimum 10 individus ont été inclus dans cette partie de l'analyse, ce qui représente un total de 385 tritons provenant de 21 sites. Cette approche a été adoptée afin d'éviter les biais potentiels liés aux inégalités d'échantillonnage entre les sites. Dans l'ensemble, ces indices permettent de confirmer les tendances observées avec les clusters formés.

	N	A	%	Ar	Ho	He	HWE	Fis	IC FIS bas	IC FIS haut
TBR	10	20	21.51	2.29	0.44	0.39	0.4213	-0.1069	-0.3215	0.1012
TEMa	13	37	39.97	3.99	0.57	0.64	0.1399	0.1076	-0.0495	0.251
TEMb	10	33	35.02	3.56	0.26	0.63	1.00E-04	0.5811	0.3558	0.8097
VAU	22	40	43.49	3.81	0.5	0.61	4.00E-04	0.1863	0.0507	0.3202
ORM	11	21	22.87	2.52	0.43	0.44	0.1041	0.0286	-0.2047	0.1906
BELa	19	45	47.69	4.33	0.49	0.66	0.0071	0.2549	0.1082	0.403
BELb	15	41	42.51	4.12	0.6	0.61	0.1308	0.0231	-0.1138	0.1401
PRB	43	24	24.53	2.26	0.38	0.45	0	0.3512	0.2726	0.4301
BEC	19	43	44.95	4.16	0.57	0.63	0.6309	0.0909	-0.0248	0.1942
FAS	19	40	41.85	4.07	0.63	0.63	0.9821	-0.008	-0.1376	0.1144
FUM	10	29	30.73	3.34	0.41	0.64	0.0168	0.3573	0.1664	0.5301
MAZ	11	21	22.18	2.53	0.58	0.51	0.8482	-0.1362	-0.3657	0.0969
ROM	17	47	48.97	4.6	0.6	0.67	0.711	0.1056	-0.0253	0.2206
BAQ	19	29	30.66	3.16	0.52	0.54	0.8154	0.0366	-0.0634	0.1463
GQU	44	38	40.75	3.63	0.51	0.58	0	0.1241	0.0198	0.227
VSL	10	27	28.52	2.9	0.35	0.57	0.0191	0.3863	0.1096	0.6462
COM	16	33	35.09	3.22	0.27	0.58	0	0.5233	0.3165	0.7119
CMMa	18	33	35.97	3.53	0.56	0.58	0.7125	0.027	-0.1343	0.1851
CMMb	16	35	36.06	3.74	0.49	0.63	0.001	0.219	0.0577	0.3868
JOU	19	32	33.25	3.66	0.72	0.68	0.016	0.1171	0.0454	0.1782
PDMb	20	37	38.27	3.8	0.5	0.62	7.00E-04	0.188	0.028	0.3379

Tableau 4 : Paramètres de diversité génétique au sein des sites. N = nombre d'individus ; A = nombre d'allèles ; % = pourcentage d'allèles total observé ; Ar = richesse allélique ; Ho = hétérozygotie observée ; He = hétérozygotie attendue ; HWE = adéquation à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; Fis = coefficient de consanguinité ; IC Fis bas = valeur inférieure de l'intervalle de confiance du Fis ; IC Fis haut = valeur supérieure de l'intervalle de confiance du Fis.

Le nombre d'allèles le plus élevé se trouve dans les génotypes des sites de ROM (47) suivi de BELa et BELb (45 et 41 respectivement). Les tritons des sites possédant le plus grand nombre d'allèles différentes sont logiquement ceux correspondant au pourcentage de richesse allélique le plus élevé. L'inverse suit le même raisonnement : les sites ayant la richesse allélique la plus faible sont retrouvés à PRB (2.26), TBR (2.29), ORM (2.52). Le pourcentage d'allèle total observé est maximal chez les individus de ROM (48.97) et minimal TBR (21.51). Les sites

étant significativement déviés de l'équilibre d'Hardy-Weinberg sont : TEMb, VAU, BELa, PRB, FUM, GQU, VSL, COM, CMMb, JOU, PDMb (cf. Tableau 4).

Les individus de PRB, BELa, FUM, VSL et CMMb ont une hétérozygotie observée nettement inférieure à l'hétérozygotie espérée, ce qui se traduit par un taux de consanguinité élevé. Les groupes de COM et TEMb détiennent les records des hétérozygoties les plus basses (0.27 et 0.26). En revanche, chez le site JOU ainsi que MAZ et TBR, l'hétérozygotie observée dépasse l'hétérozygotie espérée. Quant au site de FAS, il est le seul où l'hétérozygotie observée égale parfaitement l'hétérozygotie espérée.

L'indice de consanguinité F_{is} varie entre -0.1362 (IC : -0.3657 ; 0.0969) pour les animaux du site MAZ et 0.5811 (IC : 0.3558 ; 0.8097) pour ceux du site TEMb. La plupart des sites a un intervalle de confiance pour l'indice de consanguinité compris entre 0 et 0.15, ce qui indique un faible risque pour leurs populations. Certains sites (MAZ, TBR, FAS) présentent des valeurs de F_{is} proches de zéro ou légèrement négatives (MAZ : -0.1362, TBR : -0.1069 et FAS : -0.008), même si leur intervalle de confiance supérieur est positif (MAZ : -0.3657 ; 0.0969, TBR : -0.3215 ; 0.1012 et FAS : -0.1376 ; 0.1144). Les valeurs de F_{is} les plus élevées sont retrouvées dans les sites de TEMb (0.5811, IC : 0.3558 ; 0.8097), BELa (0.2549, IC : 0.1082 ; 0.403), PRB (0.3512, IC : 0.2726 ; 0.4301), FUM (0.3573, IC : 0.1664 ; 0.5301), VSL (0.3863, IC : 0.1096 ; 0.6462), COM (0.5233, IC : 0.3165 ; 0.7119). Cependant, les intervalles de confiance de BELa et BELb se chevauchent légèrement et les intervalles inférieurs de BELa (0.1082 ; 0.403), FUM (0.1664 ; 0.5301) et VSL (0.1096 ; 0.6462) sont moins inquiétants. La situation la plus critique est observée chez TEMb, COM et PRB, car il y a 95% de chances que leur F_{is} soit supérieur à 0.25.

3.2. Différenciation génétique et flux de gènes entre les sites

Les valeurs de $G'st$, indiquant l'intensité du flux de gènes, varient entre 0.0103 (BELa et BELb, IC : -0.059 ; 0.0994) et 0.7099 (TBR et COM, IC : 0.5936 ; 0.8098). Le D_{jost} , indiquant la différenciation génétique, varie entre 0.0006 (BELa et BELb, IC : -0.0298 ; 0.0528) et 0.4947 (TBR et PDMb, IC : 0.34 ; 0.6362). Les différenciations génétiques entre les tritons crêtés issus de sites au sein de mêmes clusters sont plus faibles que lorsque l'on compare des tritons classés dans des clusters différents, ce qui est cohérent puisqu'ils sont affiliés pour former des clusters selon leur proximité génétique.

Comme attendu, les sites ayant le D_{jost} le plus faible sont les sites qui ont une grande proximité géographique comme BELa et BELb (0.0006, IC : -0.0298 ; 0.0528), TEMa et TEMb (0.0016,

IC : -0.061 ;0.1283), CMMa et CMMb (0.0228, IC : -0.0175 ;0.0861). En général, les sites du Hainaut ont un D_{jost} faible (inférieur à 0.15) entre eux comparé à leurs comparses du sud du sillon Sambre-Meuse. TEMa et VAU ont un D_{jost} de 0.0422 (IC : -0.0141 ; 0.129). BELa et TEMa ont un D_{jost} de 0.0332 (IC : -0.0277 ;0.1247), VAU et BELa de 0.0073 (IC : -0.0342 ;0.0718), BELb et TEMa de 0.0439 (IC : -0.0155 ; 0.1371), BELb et VAU de 0.004 (IC : -0.0306 ; 0.0655), BEC et TEMa de 0.0459 (IC : -0.0155 ;0.1371), BEC et BELa de 0.0486 (IC : -0.002 ; 0.126), et BEC et BELb de 0.029 (IC : -0.0174 ;0.0908).

Les D_{jost} significativement élevés (supérieurs à 0.25) se retrouvent dans les comparaisons entre TBR et COM (0.4777, IC : 0.3534 ;0.6166), TBR et PDMb (0.4947, IC : 0.34 ;0.6362), TEMa et COM (0.4044, IC : 0.2683 ;0.5493), TEMb et COM (0.4314, IC : 0.295 ;0.5811), BELa et COM (0.3845, IC : 0.2528 ;0.525), PRB et COM (0.349, IC :0.2635 ;0.4345), BEC et COM (0.3991, IC : 0.2696 ;0.5376), MAZ et COM (0.432, IC : 0.2941 ;0.5658), BAQ et COM (0.4096, IC : 0.31 ;0.5293), BAQ et PDMb (0.4275, IC : 0.2906 ;0.5582) et CMMa et PDMb (0.3831, IC : 0.2814 ;0.488). Ainsi, le site de COM présente le plus grand nombre de D_{jost} supérieurs à 0.25, en particulier avec les sites du Hainaut. Le site PDMb présente également des D_{jost} assez élevés avec les sites du Hainaut et détient le D_{jost} le plus élevé avec TBR (0.4947, IC : 0.34 ; 0.6362), ce qui est logique car il s'agit des deux sites les plus éloignés géographiquement en Wallonie.

Les tritons de MAZ, FUM et BAQ ont tous les trois des D_{jost} relativement élevés avec des autres sites de Wallonie. FUM et JOU ont en revanche un D_{jost} de 0.013 (IC : -0.0307 ; 0.0862). JOU et BELb ont également un D_{jost} faible (0.04, IC : -1.00E-04 ;0.0912). JOU et GQU ont un D_{jost} de 0.0478 (IC : 0.0071 ;0.1067). BAQ et ROM échangent en effet quelques gènes puisque leur D_{jost} est de 0.0674 (IC : 0.0089 ;0.1489).

Les tendances observées pour le G'st sont similaires, mettant en évidence la proximité des individus de VAU avec BEL. Ces deux sites sont les seuls avec BELa et BELb à avoir un G'st inférieur à 0.05. Le G'st entre VAU et BELa est de 0.0393 (IC : -0.0218 ; 0.1242), tandis que le G'st entre VAU et BELb est de 0.0396 (IC : -0.0269 ; 0.1289). Cependant, les intervalles de confiance ne permettent pas de conclure de manière significative une différence entre ces résultats. Les seuls échanges de gènes significatifs (inférieurs à 0.1) sont observés entre les sites BELa et BELb, avec un G'st de 0.0103 (IC : -0.059 ; 0.0994). Les valeurs les plus élevées de G'st sont observées entre les sites les plus éloignés géographiquement, notamment COM, PDMb et TBR. Les tableaux avec les comparaisons réalisées se trouvent en annexe 19.

4. Échelle de la microgéographie, au sein des sites

Cette partie concerne une analyse fine au sein des sites qui comprennent plus de 5 mares échantillonnées : BEL, CMM et GQU. Ces résultats sont à considérer avec précaution et donnés à titre indicatif puisque certains groupes contiennent moins de 10 individus. Ces derniers ont été formés suivant la géographie, les caractéristiques du milieu et le nombre d'individus. Aucune structuration génétique n'a été détectée à l'échelle intrasite. Les analyses détaillées sont reprises dans les annexes 9 à 11.

À l'échelle de la mare, BELa2 (10 individus, $F_{is} = 0.2347$, IC : 0.0325 ; 0.4233) est le majeur responsable de l'indice de consanguinité élevé observé dans BELa. Les mares qui le composent sont des mares en lisières de la forêt domaniale de Beloeil. Sous cet angle, les populations ne sont plus déviées de l'équilibre d'Hardy-Weinberg. Les échanges de gènes sont inférieurs à 0.05 ($G'st$) sauf pour les comparaisons incluant BELa1, qui est la seule mare située en dehors de la forêt.

Pour le site du CMM, nous constatons encore une fois que les populations ne dévient plus de l'équilibre d'Hardy-Weinberg dans ce cas. L'échange de gènes est accru, il n'y a d'ailleurs aucune différenciation génétique entre CMMb1 et CMMb3.

En analysant finement la structuration de GQU, nous observons que ses individus n'ont pas de structuration génétique. GQU fonctionne également comme un réseau avec un échange de gènes accru.

5. Corrélation entre la distance géographique et génétique

À la suite de l'analyse du test de Mantel, une corrélation positive significative a été observée entre la distance génétique (mesurée par le G_{st} de Nei) et la distance géographique (en mètres), avec un coefficient de corrélation de 0.2483 et une p-valeur de 0.001. Lorsque le test a été répété en utilisant le logarithme de la distance géographique, une corrélation positive de 0.226 avec une p-valeur de 0.001 a été obtenue. Cela suggère que plus la distance géographique entre les individus augmente, plus leur distance génétique s'accroît. Il faut néanmoins garder à l'esprit les limitations potentielles de cette analyse, telles que l'influence des translocations et l'échantillonnage inégal, qui peuvent affecter les résultats.

VI. DISCUSSION

1. Réflexions générales

Nos résultats indiquent la présence de populations de tritons crêtés robustes semblant présenter un flux génique correct entre les sous-populations qui les constituent. Ce phénomène pourrait contribuer à maintenir une diversité génétique adéquate. Les cas de consanguinité sont peu fréquents et localisés parmi les sites étudiés. Nos résultats tendent également à proposer une structuration génétique hétérogène selon les grandes régions naturelles de Wallonie (cf. Annexe 20). Les lignées de la région limoneuse hennuyère apparaissent génétiquement séparées des autres populations wallonnes. Les cours d'eau pourraient également jouer un rôle de barrière entre les différentes sous-populations, notamment la Sambre et la Meuse.

De manière générale, les tritons peuplant les sites du Hainaut présentent des flux de gènes plus importants entre eux que le reste des sites de la Wallonie. Les indices de diversité génétique les plus encourageants s'y retrouvent également (à l'exception de PRB et TBR), malgré qu'il s'agisse de la zone la plus urbanisée de la région wallonne. Cela se traduit également par la difficulté de placer certains sites de manière unanime dans un cluster.

Certains sites isolés situés en Hesbaye, en Ardenne et dans le Hainaut (FUM, MAZ, JOU, JON) ou à effectifs faibles comme dans le Condroz (YVO, ROS, GES, THO), nécessitent un échantillonnage complémentaire dans leurs zones respectives afin de préciser leur position. Les flux de gènes de ces zones sont généralement limités, en particulier avec les populations géographiquement éloignées. La distance géographique semble jouer un rôle prépondérant dans la structuration, la diversité et les flux de gènes observés.

Au sein des sites eux-mêmes, nous confirmons que les flux de gènes sont importants lorsque les mares sont proches et forment un réseau. Ces résultats font ressortir la nécessité de la proximité géographique dans les échanges génétiques au sein des populations de tritons crêtés.

Au niveau des principales populations, plusieurs informations pertinentes se dégagent, lesquelles sont synthétisées dans les points suivants :

2. Le Hainaut occidental

Les indices de différenciation génétique (D_{jost}) entre les animaux peuplant les sites du Hainaut occidental sont faibles, ce qui pourrait s'expliquer par leur proximité géographique malgré le passage de l'Escaut entre certains sites. Selon cette hypothèse, le fleuve semblerait agir comme une barrière génétique relativement perméable, possiblement grâce à la traversée de ponts, comme c'est le cas pour le crapaud calamite (Thierry Kinet, Comm. Pers.), bien que cela reste une supposition. Une autre hypothèse est que ces populations seraient issues de lignées séparées depuis relativement peu de temps. Elles pourraient ainsi conserver certaines similarités génétiques.

L'indice de consanguinité (F_{is}) de TEMb est significativement plus élevé que celui de TEMa. Cependant, les animaux de ces sites possèdent un indice de différenciation génétique (D_{jost}) faible entre eux, suggérant un flux de gènes important entre les deux sites. Ces derniers ne semblent actuellement pas suffisants pour contrebalancer les effets de la dépression de consanguinité observé sur le site de TEMb. Ces tritons vivent dans un environnement agricole où l'éloignement des mares de 680 mètres et la présence d'obstacles tels que la route peuvent limiter les échanges génétiques et entraîner une fragmentation de la population de tritons crêtés. Il est néanmoins nécessaire de garder à l'esprit que ce résultat pourrait également être induit par un biais d'échantillonnage.

3. Beloeil, un réseau de mares avec une santé génétique favorable

Dans l'arrondissement d'Ath, BELa et BELb sont deux sites possédant quelques mares intermédiaires. Ils possèdent un indice de différenciation génétique (D_{jost}) assez faible et un nombre d'allèles élevé, ce qui indique généralement un signal de bonne santé génétique.

Les échanges génétiques entre les individus des mares de Beloeil sont fréquents, ce qui empêche toute structuration génétique au sein de ces sites bien que les mares extrêmes soient séparées de pratiquement trois kilomètres. Cet ensemble comprend, avec le site du CMM, le nombre le plus important de mares prospectées au sein d'un même site.

4. ORM et TBR : des sites isolés par leur environnement

Toujours en région limoneuse, les individus d'ORM et TBR sont caractérisés par des génotypes mixés et ont tendance à se distinguer des autres dans certaines analyses de structuration et de différenciation génétique. En effet, ces mares sont les plus petites et les plus isolées à cause de

facteurs abiotiques. TBR est une mare située dans un jardin, avec peu de possibilités de connexions avec d'autres sites et les tritons y vivant ont été introduits par les propriétaires (Annie Duhayon, Comm. Pers.). Les résultats pour ORM sont moins nets malgré le fait que cette mare soit emmurée, ce qui limite également les possibilités de dispersion pour les tritons. Il est plausible que l'origine de ces deux populations soit probablement anthropique. Leurs caractéristiques génétiques et leur isolement pourraient être expliqués par un effet fondateur et une dérive génétique résultant d'une introduction à partir d'un petit nombre d'individus.

5. PRB, une population menacée et génétiquement isolée

Situés à la limite du Brabant wallon, les individus du site de PRB forment leur propre cluster avec 31 tritons affiliés à plus 90% et ils se séparent du reste des échantillons à tous les niveaux d'analyses. L'isolement remarqué par le taux de consanguinité élevé, la faible diversité génétique et la présence d'un allèle unique et répandu uniquement à PRB renforce l'hypothèse que cette population proviendrait d'un nombre restreint d'individus fondateurs. Par ailleurs, les valeurs de différenciation génétique (D_{jost}) et de flux de gènes ($G'st$) sont importantes avec l'ensemble des autres populations, même avec celles situées à proximité comme à CHE, BEC et ECA. Ces dernières ne sont en outre pas associées au cluster de PRB. Les individus de PRB pourraient éventuellement provenir d'une réintroduction à partir de populations extérieures à la Wallonie. Les translocations officieuses semblent en effet plus répandues qu'on ne le pense (Éric Graitson, Comm. Pers.).

6. MRN et FAS : une zone de mélange entre Sambre et Haine

Le site de FAS est une réserve naturelle isolée en bord de Sambre. Il présente des tritons crêtés aux génotypes mixés et une bonne diversité génétique. Ses individus ne se raccordent d'ailleurs à aucun cluster connu de manière significative. Il serait possible qu'ils appartiennent à d'autres clusters génétiques n'ayant pas pu être mis en évidence dans cette étude. Il n'a pas été possible d'obtenir des informations précises concernant la diversité génétique des tritons crêtés du site MRN en raison du faible nombre d'échantillons disponibles pour ce site ($N=7$). En revanche, ils sont également caractérisés par un mix de génotypes différents, ce qui les distingue des autres clusters.

La variabilité génétique observée chez les individus de FAS est un indicateur positif de l'échange de gènes et de la préservation de la diversité génétique dans ces populations de tritons crêtés. Le nombre élevé d'individus inventoriés à FAS est également un indicateur de sa bonne

santé génétique. Ce site est un bon candidat potentiel pour d'éventuels projets de translocations puisque les individus le composant présentent des bons indices de diversité génétique, un indice de consanguinité faible et une diversité importante de génotypes.

7. JON, MAZ, FUM et JOU : des populations isolées par la géographie ?

Les tritons crêtés des sites de JON, MAZ et FUM possèdent des appartenances mixtes et variables avec les tritons des autres sites wallons. En effet, le site de MAZ en Hesbaye se situe à minimum 20 kilomètres de n'importe quel autre site échantillonné et sa population de tritons crêtés possède une grande variété de génotypes. Il peut être ainsi s'avérer complexe de la relier de manière univoque à un cluster précis. Le site a d'ailleurs tendance à s'isoler dans plusieurs analyses, notamment avec des différenciations génétiques (D_{jost}) relativement élevées avec les autres sites. Le raisonnement similaire s'observe chez les individus FUM, seul site échantillonné et conservé de la province de Liège.

JON se trouve isolé dans la région de l'entre Sambre et Meuse. Toutefois, le faible échantillonnage pour ce site ($N=5$) rend impossible toute conclusion définitive à propos de cette population. Une collecte de données supplémentaire dans ces zones respectives pourrait confirmer si les animaux de ces sites sont réellement isolés ou si cette situation découle d'un échantillonnage incomplet dans leurs zones en Wallonie.

Unique site en Ardenne, JOU se différencie génétiquement peu d'autres sites tels que BELb, FUM, et GQU. Cette situation est intéressante car ces sites sont géographiquement dispersés. Une hypothèse plausible est celle de potentielles réintroductions de tritons crêtés à JOU à partir de ces sites.

8. Le Condroz : des appartenances variées

Les individus des sites du Condroz, tels que SOR, YVO, ROS, GES et THO ne s'associent à aucun cluster connu et présentent un signal d'admixture important lors des analyses de clustering Structure. Il est possible que les individus condruziens appartiennent à d'autres clusters génétiques n'ayant pas pu être mis en évidence dans cette étude. Une autre possibilité serait que ces tritons présentent un mélange de gènes provenant des clusters voisins, favorisé par leur position centrale en Wallonie. Ces sites sont par ailleurs caractérisés par un faible échantillonnage. Il conviendrait ainsi d'approfondir leur étude par un nombre d'individus plus conséquent.

9. La Famenne préoccupante : COM, VSL et GQU

L'ensemble des tritons crêtés analysés pour les sites de VSL et COM présente globalement des indices de diversité et de différenciations génétiques (D_{jost}) préoccupants. Tous nos résultats montrent que les populations semblent échanger peu de gènes, ce qui se répercute sur un indice de consanguinité (F_{is}) important. Les indices de diversité et de différenciation génétiques du cluster (en rouge sur la Fig.9) reprenant ces sites sont assez médiocres, particulièrement pour COM. Ces individus possèdent des niveaux de différenciation génétique élevées par rapport à la majorité des autres sites, suggérant un isolement important.

L'historique de la zone peut contribuer à mieux comprendre l'état actuel des populations de Famenne et d'émettre plusieurs hypothèses expliquant ce résultat. Dans les années 2000, ces populations ont connu un déclin important (Thierry Kinet, Comm. Pers.). Malgré la mise en place de projets de restauration de l'habitat, comme le Projet Life Prairies Bocagères, il est probable que les effets de ces actions n'aient pas été suffisamment rapides pour stopper la perte de diversité génétique. Ce phénomène pourrait expliquer la faible diversité génétique et les degrés d'isolement observés dans ces populations. Il reste à espérer que les mesures prises auront des effets positifs et que la diversité génétique pourra se rétablir dans un futur proche.

Un scénario envisageable est donc que cette situation soit le résultat de dynamiques de disparition et de recolonisation, où les flux géniques n'ont pas encore eu suffisamment de temps pour restaurer la diversité génétique. Cela pourrait être dû à un nombre initial limité d'individus fondateurs lors de la recolonisation de la zone, expliquant l'excès d'homozygotes que nous détectons. Cette situation souligne l'importance de la conservation et de la gestion des populations de tritons crêtés dans cette région afin de prévenir une perte supplémentaire de diversité génétique.

GQU est une réserve naturelle proche présentant un réseau de mare et de bons flux de gènes en leur sein. Ses individus sont caractérisés par des indices de diversité génétique corrects et la santé de sa population se manifeste également en termes d'effectifs. Sa position stratégique proche de VSL et COM pourrait aider à améliorer la situation de la Famenne.

10. Un groupe génétique dans la Fagne : BAQ, ROM et MRG

Un groupe génétique dans l'arrondissement de Philippeville rassemble tous les individus du site de BAQ et une partie de ceux ROM, situés dans la région naturelle de la Fagne. Les individus de MRG, situé dans la région naturelle de la Calestienne, présentent également une

association avec ce cluster. BAQ est plus proche géographiquement du site de GQU que de MRG. Pourtant, les individus de GQU ne s'associent pas au même cluster. Cette observation suggère que la Meuse pourrait actuellement jouer un rôle de barrière pour les échanges génétiques à échelle plus fine, entre les populations de part et d'autre du fleuve, indiquant une limitation des flux de population malgré leur proximité géographique. ROM présente des animaux aux géotypes mixés. Toutefois, une faible différenciation génétique (D_{jost}) est observée entre ROM et BAQ, renforcée par la présence de quelques allèles communs. Ces similitudes conduisent à une proximité génétique de ces sites dans plusieurs niveaux d'analyses.

11. Le camp militaire de Marche-en-Famenne

Le camp militaire de Marche-en-Famenne se trouve dans la région naturelle de la Calestienne. Malgré que les mares des sites du camp militaire soient séparées par plus de deux kilomètres, leur proximité géographique et les caractéristiques génétiques des tritons qui s'y retrouvent permettent de les considérer comme un seul dème. Les échanges de gènes sont facilités par le vaste réseau de mares de la zone, encouragés par la dynamique imposée par le régime militaire qui produit des ornières et des mares temporaires, le tout favorisant ainsi la dispersion des tritons. Ce système s'avère concluant au vu des effectifs du site, observations également réalisées chez les sonneurs à ventre jaune. La gestion au sein du camp militaire semble globalement positive pour les amphibiens (Thierry Kinet, Comm. Pers.).

12. Le cas de la Lorraine belge

Dans toutes les analyses, les animaux des sites lorrains s'associent pour former un cluster génétique unique qui se différencie nettement des autres groupes wallons. Cette population lorraine apparaît globalement en bonne santé génétique. Les effectifs globaux de Lorraine belge obtenus lors de notre étude sont nettement inférieurs à ceux réalisés en 2014 par Zrak (2014). Cependant, ce résultat pourrait s'expliquer par la période d'échantillonnage qui a eu lieu mi-avril. Les tritons crêtés ont en effet tendance à commencer plus tardivement leur période aquatique dans cette partie de la Belgique. Un échantillonnage complémentaire serait ainsi intéressant afin d'estimer de manière plus précise l'évolution de cette population.

Tout comme en Famenne, des actions de conservation ont récemment été entreprises dans cette région de Wallonie, notamment via des creusements de mares. Dans ce cas, les mesures semblent avoir été prises à temps et ont permis aux populations de se maintenir. Les mares nouvellement (re)creusées comme à HAC sont rarement colonisées par les tritons crêtés les

premières années. Le triton crêté préférera les étendues d'eau plus anciennes avec un réseau trophique bien établi (Braconnier, 2015, Thierry Kinet, Comm. Pers.). Il serait donc intéressant d'inventorier l'évolution de ces mares plusieurs années après leur creusement. Des recreusements de mares ont manifestement eu lieu et certains ont pu occasionner des dégâts sur le court terme. Une approche de conservation plus prudente et réfléchie devrait être adoptée pour minimiser les impacts négatifs lors de la création ou de la restauration de mares destinées à accueillir les tritons crêtés.

13. Comparaisons avec la littérature

13.1. Diversité génétique et flux de gènes

Dans notre étude, nous observons que les valeurs de l'hétérozygotie espérée varient entre 0.39 (TBR) et 0.68 (JOU) en Wallonie. Les mêmes tendances se constatent dans d'autres régions européennes : elles oscillent entre 0.53 et 0.64 en Flandre (Schön et al., 2011), entre 0.49 et 0.65 pour l'ouest de la France (Jehle et al., 2005), entre 0.543 et 0.758 en Alsace (Vacher & Ursenbacher, 2014), entre 0.55 et 0.75 en Saxe (Meyer & Grosse, 2007), entre 0.34 et 0.59 en Autriche et Allemagne (Maletzky et al., 2009), entre 0.51 et 0.84 pour la République tchèque et le Slovaquie (Mikulíček et al., 2012). Cette hétérozygotie espérée s'élève à hauteur de 0.20 à 0.55 pour *Triturus marmoratus* (Jehle et al., 2005), de 0.58 à 0.65 pour les *Triturus carnifex* d'Autriche et Allemagne (Maletzky et al., 2009), de 0.464 à 0.760 pour les *Triturus carnifex* plus à l'est et de 0.589 à 0.920 pour les *Triturus dobrogicus* (Mikulíček et al., 2012). Les tendances sont donc semblables sur le continent européen et au travers du genre *Triturus*. En d'autres mots, il n'y a pas d'évidence forte de perte de diversité génétique de *Triturus cristatus* dans les zones étudiées en Flandre, France, République tchèque, Slovaquie et en Wallonie.

La richesse allélique varie entre 4.6 pour ROM et 2.26 pour PRB. Cette dernière s'avère fluctuer entre 3.86 et 2.61 (Schön et al., 2011), entre 3.40 et 2.0 (Maletzky et al., 2009) et entre 6.584 et 3.79 (Vacher & Ursenbacher, 2014), ce qui est similaire avec nos résultats. Une gamme légèrement plus petite, entre 3.75 et 2.93 s'observe chez *Triturus carnifex* en Autriche et Bavière (Maletzky et al., 2009), ce qui peut se justifier par la zone d'étude.

L'indice du risque de consanguinité (F_{is}) varie entre -0.1362 (MAZ) et 0.5811 (TEMb). Ce dernier fluctue entre 0.098 et 0.190 en Flandre (Schön et al., 2011), entre -0.014 et 0.105 en Alsace (Vacher & Ursenbacher, 2014), entre -0.060 et 0.228 pour *Triturus cristatus* et 0.006 et 0.255 pour *Triturus carnifex* en Allemagne et Autriche. Dans cette région, la rivière Salzach

représente une barrière à la migration, ce qui se reflète déjà dans la structure des populations (Maletzky et al., 2009). Le schéma similaire pourrait être observé en Wallonie avec les grands cours d'eau au vu de nos indices plus élevés que dans ces autres études.

Les résultats obtenus révèlent des variations significatives de l'indice de différenciation génétique (D_{jost}) entre les différentes populations de tritons crêtés en Wallonie. Les valeurs de cet indice varient de 0.4947 (entre les populations de TBR et PDMb) à 0.0006 (entre les populations de BELa et BELb). En Flandre, les valeurs de l'indice de différenciation génétique se situent entre 0.165 et 0.274 (Schön et al., 2011). Ces variations indiquent des différences marquées dans les flux de gènes au sein de nos populations belges. Il convient néanmoins de rester prudent quant à la comparaison des résultats provenant d'études différentes.

La corrélation entre la distance génétique et géographique s'est avérée significative pour le sud de la Belgique, les régions de l'Est étudiées par Mikulíček et al. (2012), l'ouest de la France (Jehle et al., 2005). Aucune corrélation significative du test de Mantel n'a pu être mise en évidence en Flandre (Schön et al., 2011) et en Alsace (Vacher & Ursenbacher, 2014).

13.2. Milieu de vie

Les exigences écologiques concernant l'habitat aquatique du triton crêté se sont montrées généralement plus souples que décrites dans la littérature. Contrairement à ce qui était attendu, les plus grands effectifs de tritons crêtés ne se sont pas retrouvés dans les mares aux plus grandes superficies, ensoleillées, profondes et sans poissons ou encore dans les eaux oligotrophes (Barbery, 2005; Ferrais, 2018; Goret, 2014; Jacob et al., 2007; Simon, 2000). Il faut souligner que ces observations ne sont pas prouvées scientifiquement et sont basées sur des impressions et des observations de terrain. Des études plus approfondies sont nécessaires pour confirmer ou infirmer ces constatations et mieux comprendre les exigences écologiques réelles du triton crêté en ce qui concerne son habitat aquatique. Cela étant dit, les sites de HAC, HER, ETA et PDMA correspondent à ces caractéristiques idéales et moins de quatre spécimens y ont été recensés. À l'inverse, des plans d'eau relativement petits, ombragés ou à eau trouble (FSA, VAU, BAQ, COM, TBR, CMM) n'ont pas à rougir de leurs effectifs.

Plusieurs hypothèses peuvent encore une fois démystifier ces différences et les raisonnements exprimés plus bas pour interpréter les effectifs peuvent s'appliquer ici. Globalement, les plus grands effectifs sont souvent trouvés dans les mares en fin de vie (Thierry Kinet, Comm. Pers.). L'entretien régulier et l'absence de prédateurs dans la mare de jardin de TBR peuvent expliquer cette démographie. Les plus petites mares de COM et CMM forment un vaste réseau qui

favorise les déplacements des tritons. Ce réseau de petites mares montre un succès reproducteur plus élevé que dans une plus grande mare isolée (Langton et al., 2001). FSA est une ancienne argillère formant un chapelet d'habitats aquatiques, appréciés du triton crêté malgré la turbidité procurée par les argiles. VAU et BAQ sont des milieux plus forestiers qui peuvent montrer des aspects écologiques intéressants pour l'urodèle. Les habitats forestiers méritent une attention particulière puisqu'ils fournissent des abris ombragés et de nombreuses cachettes pour l'hibernation (Denoël & Ficetola, 2008). Ils se retrouvent d'ailleurs à proximité de mares bien peuplées, comme à COM, FSA et CMM. Ces observations mettent néanmoins en lumière les capacités d'adaptations du triton crêté et une certaine résilience de l'espèce.

13.3. Effectifs

Nous avons trouvé des tritons crêtés dans 73% des mares visitées en 2023. Les effectifs de chaque mare pourraient néanmoins indiquer dans une certaine mesure une diminution des effectifs actuels des populations de tritons crêtés en Wallonie, en comparaison avec des études antérieures (Braconnier, 2015; Zrak, 2014) et aux informations de la banque de données Raîne. Les données de la banque doivent être interprétées avec prudence car elles peuvent provenir de différentes sources et ne reflètent que le nombre d'individus capturés lors d'une seule session de pose de nasses. Il ne s'agit donc pas d'une estimation de l'effectif mais plutôt du nombre minimum d'individus présents à un moment donné. Quant à nos propres observations, il serait nécessaire d'effectuer plusieurs visites avec un protocole rigoureux pour confirmer la présence ou l'absence de tritons crêtés dans une zone, d'autant plus qu'il est possible que certaines mares ne soient pas occupées chaque année (Thierry Kinet, Comm. Pers.).

Une supposition concerne la mortalité liée à la propagation de la chytridiomycose. Bien que nous n'ayons pas observé un grand nombre d'individus gravement atteints physiquement, cela ne signifie pas que la maladie n'était pas présente sur les sites. Étant donné que les stades précoces d'infection sont difficiles à détecter à l'œil nu, une analyse de la distribution de la maladie serait pertinente. Des études parasitaires utilisant des prélèvements cutanés sur le ventre et les flancs des tritons crêtés sont en cours et pourraient fournir des informations sur l'étendue de la propagation de la maladie en Wallonie. En effet, des foyers d'infection ont été détectés à Eupen en 2013, à Robertville en 2014, à Liège en 2015, à Dinant en 2016, à Olne en 2020 et se sont vraisemblablement récemment étendus à d'autres stations belges, notamment dans la vallée de la Vesdre (Castro Monzon et al., 2022; Rouffaer, 2020, Thierry Kinet, Comm. Pers.).

D'autres hypothèses peuvent fournir des informations sur ces effectifs. Tout d'abord, il est possible que les tritons n'aient pas encore commencé leur phase aquatique lors de nos échantillonnages, comme cela a pu être le cas en Lorraine belge. De plus, d'autres projets impliquant l'utilisation de pièges ont pu être menés simultanément (Éric Joiris, Comm. Pers.), ce qui aurait pu influencer le nombre de tritons collectés. Une amélioration de la communication aurait favorisé une collaboration entre les différents projets, permettant ainsi un échantillonnage plus vaste et bénéfique pour toutes les parties impliquées.

Enfin, il est également envisageable que les sécheresses des dernières années aient entraîné un changement de stratégie de reproduction pour les tritons en 2023. Il se peut en effet que certains aient retardé leur phase aquatique, voire qu'ils ne se soient pas reproduits en réponse aux sécheresses importantes des mares les étés derniers, comme cela semble être le cas pour certains tritons alpestres en Wallonie. Les sécheresses sont en effet connues pour entraîner une diminution du recrutement au sein des populations (Lliams, 2000). Globalement les amphibiens de Wallonie ne se portent pas très bien en raison des grandes sécheresses de ces dernières années, causant des diminutions (qui restent néanmoins à quantifier à l'échelle locale) des effectifs dans les populations. Pour résumer, les bouleversements climatiques (notamment les événements climatiques extrêmes et les sécheresses) sembleraient se présenter comme des facteurs de vulnérabilité pour les amphibiens, particulièrement lors développement des têtards et de leur métamorphose (Thierry Kinet, Comm. Pers.).

Il est important de souligner que si cette tendance se maintient, cela pourrait refléter un potentiel déclin des populations de tritons crêtés. Cependant, il est essentiel de mener une surveillance rigoureuse des effectifs avant de tirer de telles conclusions. Il convient également de noter qu'il existe des fluctuations annuelles dans la dynamique des populations adultes en raison notamment du recrutement et de la variabilité environnementale. De nombreux facteurs peuvent donc influencer simultanément les effectifs des tritons crêtés, ce qui rend la métapopulation très dynamique (J. Arntzen & Teunis, 1993; Bell, 1979; Hartel et al., 2010). Dans toutes les circonstances, des mesures de gestion peuvent être envisagées dès maintenant pour améliorer l'état des populations et prévenir toute conséquence néfaste à long terme.

14. Recommandations de gestion

Au vu de la durée de vie de l'espèce et du temps de la mise en place des réseaux trophiques dans les mares, toute mesure de gestion est conseillée d'avoir effet sur le long terme pour en garantir les résultats. La conservation a déjà été abordée en partie dans le point 5 de la présentation de l'espèce. C'est pourquoi nous nous concentrerons ici sur trois grands axes applicables aux sites échantillonnés : l'entretien, la création d'un réseau de mares et les translocations.

14.1. Entretien de l'habitat aquatique et terrestre et de l'écologie du paysage

Il est important de laisser les perturbations naturelles jouer leurs rôles. Cependant, la dynamique des mares peut mener à terme à leur comblement. Leur entretien est dès lors un aspect essentiel pour le maintien des populations de tritons crêtés. L'excès de matières organiques peut causer diminution de l'oxygénation de l'eau (Denoël & Ficetola, 2008). Cela pourrait être un des facteurs du changement du nombre minimal de tritons crêtés comme à TEMb (39 individus en 2019 et 23 en 2023) où des graines du champ à proximité ont germé dans la mare et à VAU (95 individus en 2019 et 17 en 2023), selon les effectifs de la base de données Raïnne. Il est recommandé de contrôler l'atterrissement et l'envasement via des curages ou une élimination partielle de la végétation de la mare et de ses berges. Dans certains cas (PDMa, ETA, NOB), un reprofilage de la mare peut avoir lieu ainsi que l'enlèvement du limon (Baker et al., 2011). Le retrait des poissons devrait être envisagé en priorité (Barbery, 2005), notamment dans les sites de VSL et THO afin de diminuer la prédation. L'équilibre entre les exigences du triton crêté qui préfère les vieilles mares et la nécessité d'éviter leur comblement est un enjeu crucial. Il est essentiel de surveiller attentivement les mares âgées pour prévenir le déclin des effectifs dû à la dynamique naturelle, tout en suivant de près la colonisation des mares nouvellement creusées.

La conservation des habitats terrestres est tout aussi primordiale puisque les amphibiens en subissent directement les répercussions (Gustafson et al., 2011). C'est pour cette raison qu'une zone tampon de 25 à 60 mètres entourant la mare est recommandée pour protéger le noyau de l'habitat aquatique (D GARNE/DNF, s. d.; Murcia, 1995). Le cas échéant, la mise en œuvre de pratiques agricoles extensives aux abords du plan d'eau est vivement conseillée. Ces mesures concernent surtout les mares agricoles (TEMa, TEMb, THO, VSL, FUM, CHE, PDMb) et peuvent s'inscrire dans le cadre de méthodes agroenvironnementales et climatiques (Graitson

et al., 2009). Les MAEC offrent aux agriculteurs wallons des contrats de cinq années financées par la Région wallonne et l'Union européenne dans le cadre du Programme de Développement rural (Natagriwal, s. d.; Portail de l'agriculture wallonne, 2023). En outre, la coupe d'arbres garantit un accès à la lumière, élément à la base de la dynamique des réseaux trophiques. Le pâturage peut s'avérer être une bonne alternative pour conserver un milieu ouvert, comme c'est déjà le cas à TEMa, TEMb, VSL et THO. Une ressource utile pour les propriétaires privés (TBR, ORM, HAC) est la fiche conseil sur les mares naturelles et leur entretien, publiée par Natagora (Natagora & Bruxelles environnement, 2021). Pour les travaux de plus grande ampleur, une évaluation des risques et de l'état de la population avant travaux sont conseillées pour minimiser les éventuels dommages pouvant survenir à cause de l'entretien de la mare (Williams & J Biggs, M Whitfield, A Thorne, S Bryant, G Fox, P Nicolet, 2010).

14.2. Réseaux de mares

Il existe un consensus concernant le maintien du réseau écologique via le maillage de mares (Baker et al., 2011; Barbery, 2005; DGARNE/DNF, s. d.; Jacob et al., 2007). Généralement, les tritons crêtés vivent en métapopulations. Il y a donc une nécessité de maintenir le flux de gènes via la dispersion et la connexion entre les sites de reproduction, d'où l'intérêt de la création de réseaux de mares (Jehle, 2000; Miaud, 1990). De plus, la multiplication des points de reproduction offre aux tritons plusieurs options en cas d'assèchement d'une mare, problème se rencontrant de plus en plus fréquemment en Belgique. Cette diversification des habitats de reproduction contribue donc à renforcer leur résilience face aux fluctuations environnementales. Des illustrations du succès de cette méthode sont trouvées dans les sites de BEL, GQU et CMM, où de nombreux échanges existent entre les tritons des différentes mares qu'ils abritent. Le renouvellement des populations est d'ailleurs directement corrélé avec la proximité entre les habitats aquatiques (Werner et al., 2007), notamment puisque la dispersion représente un coût énergétique. Sans cette connexion, chaque plan d'eau fonctionne comme une unité populationnelle distincte, comme à ORM.

Bien que le recreusement des mares soit le plus répandu, la construction d'une nouvelle mare à proximité d'une autre en cours de comblement est privilégiée à son recreusement car cela diminue les dommages et le risque d'extinction des populations (Thierry Kinet, Comm. Pers.). À titre d'exemple, une mare semble avoir été recreusée à HAC et a connu une diminution drastique de ses effectifs, passant de 464 en 2016 à 2 en 2023. Il reste à espérer que cette situation soit provisoire et que la population puisse se rétablir d'ici quelques années le retour

de caractéristiques environnementales plus adéquates pour le triton crêté. Tout en prenant en considération ce risque, la situation des nouvelles mares doit être choisie pour favoriser au maximum la recolonisation naturelle des tritons (Baker et al., 2011).

La création du réseau peut être envisagée sur tous les sites, avec une attention pour les sites isolés autant géographiquement (JON, MAZ, FUM et JOU) qu'à la suite de facteurs abiotiques (ORM, TBR). Il faut rappeler qu'un permis d'urbanisme est nécessaire pour creuser des étendues d'eau puisque une modification du relief du sol a lieu (Halford, 2022; SPW Territoire, Logement, Patrimoine, Énergie., 2022). Encore une fois, une analyse pragmatique est recommandée afin de sélectionner la localisation de la mare la plus favorable aux tritons crêtés.

Différents scénarios peuvent être envisagés pour la création et l'extension du réseau de mares. Si le site se situe dans une réserve naturelle, est classé en tant que site Natura 2000 ou appartient à la région wallonne, il est possible de proposer la mise en œuvre d'un projet visant à créer de nouvelles étendues d'eau, en conformité avec le plan de gestion établi. Ensuite, si le terrain appartient à un agriculteur, des primes sont disponibles pour financer le projet. Depuis 2023, la MBI.c qui correspondait à la MAEC 'maintien et à entretien des mares' s'inscrit dans l'éco-régime 'maillage écologique' à la suite de la nouvelle PAC. Elle porte maintenant sur une seule année. Les agriculteurs/trices volontaires perçoivent une rémunération pour le service environnemental rendu (Natagriwal, s. d.; Portail de l'agriculture wallonne, 2023). Enfin, si le terrain non agricole appartient à un propriétaire privé, aucune aide financière n'est disponible et la décision d'entreprendre une telle démarche repose entièrement sur la volonté du propriétaire. Dans ce cas, la sensibilisation et l'éducation jouent un rôle clé pour promouvoir l'importance de la conservation.

14.3. Réintroductions et translocations

Les translocations d'individus s'avèrent être des mesures de gestion efficaces dans le cas de populations en mauvais état de santé génétique ou en substitution lorsque la migration naturelle n'est pas possible, même lorsque les caractéristiques de l'habitat semblent idéales. Des exemples de succès de translocations de tritons crêtés ont été documentés en Angleterre (Edgar et al., 2005), un programme de réintroduction de la rainette verte est en cours en Wallonie (Natagora, 2022) et le projet Life in Quarries a récemment mené des opérations de réintroduction de tritons crêtés dans des carrières wallonnes (Taymans, 2021).

Ces initiatives sont néanmoins à envisager en dernier recours étant donné les risques qu'elles comportent. En effet, les individus transloqués peuvent ne pas être entièrement adaptés à leur nouvel environnement, diminuant le taux de succès de la translocation. Il peut y avoir des risques de transfert de plantes envahissantes ou de transmission de maladies, dont la préoccupante chytridiomycose. Les translocations dans les mares nouvellement creusées sont à éviter puisque les communautés animales et végétales n'ont pas encore eu le temps de se mettre en place. Il est donc préférable d'améliorer en priorité le statut des populations existantes.

Cela étant dit, le choix de la population source demeure crucial pour éviter de mettre en danger la santé génétique de la population et éviter d'introduire des individus consanguins susceptibles de conduire à l'extinction (Langton et al., 2001). Il est préférable d'opter pour des populations sources de différentes origines afin d'accroître la diversité génétique de base et d'éviter d'utiliser des populations consanguines comme sources. Dans cette optique, nous déconseillons l'utilisation d'individus de TEMb, COM et PRB comme populations sources pour les translocations, et recommandons un suivi attentif des sites de réintroduction s'ils ont été utilisés dans le passé.

De plus, il est essentiel de prendre en compte la zone ciblée par la translocation ou la réintroduction afin d'éviter d'introduire des individus génétiquement trop divergents. Par exemple, les individus de FSA et BEL pourraient être envisagés pour les translocations dans le Hainaut (comme à TEMb), tandis que les individus de CMM pourraient être utilisés pour les sites plus au sud du pays, comme certaines carrières visées par le projet Life in Quarries. En ce qui concerne la Famenne, GQU pourrait être une bonne alternative pour améliorer la situation de COM car il possède déjà un réseau de mares propice à la dispersion des tritons. Soulignons que ces sites sources sont tous des sites où il existe un réseau de mares favorisant la dispersion de proche en proche et les flux génétiques à plus large échelle. Lorsque toutes les précautions sont prises, les réintroductions doivent avoir lieu trois années consécutives pour augmenter le succès et établir une population structurée, d'âges différents.

La mise en place d'un protocole rigoureux, tel que celui utilisé dans le projet Life in Quarries (Taymans, 2021) est essentielle pour éviter la transmission de maladies lors des translocations. Une analyse pathogène doit être réalisée pour assurer la santé des individus concernés. Comme observé dans ce projet et d'autres études (Baker et al., 2011; Langton et al., 2001), les stades précoces tels que les œufs et les têtards sont plus adaptés aux translocations. Ils permettent en outre de diminuer les risques liés à la dispersion d'exotiques et de pathogènes et d'éviter de puiser dans les effectifs des adultes reproducteurs (Thierry Kinet, Comm. Pers.).

Bien que l'état de santé génétique des populations n'ait pas été pris en compte dans le Life in Quarries, les localisations des populations sources et réceptrices ont tenté de respecter une cohérence géographique, ce qui est un bon point de départ puisque nous avons constaté sa corrélation avec la distance génétique. Toutefois, deux mares situées à Petit-Roeulx-lez-Braine ont été utilisées pour transloquer des individus dans les carrières de Quenast, Bierghes et Clypot. Or, nous avons observé des indicateurs génétiques invitant à la prudence malgré les effectifs élevés de cette population. Une surveillance de ces populations est vivement conseillée afin de prendre les meilleures mesures de gestion. À l'avenir, une analyse génétique des populations d'individus transloqués devrait toujours être indispensable avant l'introduction dans le nouvel habitat afin d'éviter la disparition des populations. Enfin, à l'instar du projet Life in Quarries, nous insistons également sur l'importance de documenter ces actions afin de garantir un monitoring qualitatif et d'évaluer de manière précise les mesures de gestion mises en place. Cette approche permettra de mesurer l'impact de ces actions sur les populations de tritons créés en Wallonie et d'ajuster les stratégies de conservation si nécessaire.

Pour être complète, une liste non exhaustive des critères à prendre en considération lors de l'entretien et de la construction d'une mare est disponible en annexe 21. De plus amples informations sont disponibles dans ce livre : Langton, T., Beckett, C., & Foster, J. (2001). *Great Crested Newt Conservation Handbook* (Froglife, Suffolk.). De manière générale, il sera plus intéressant au niveau de la conservation de restaurer un habitat favorable dans un nombre plus petit de mares plutôt que de creuser ou maintenir un grand nombre de plans d'eau ayant des caractéristiques environnementales moins idéales (Denoël & Ficetola, 2008). L'accent devrait être placé sur le secours des populations isolées (JON, ORM, TBR, PRB, possiblement MAZ, FUM et JOU), aux mauvais indices de diversité génétique (COM, FUM, TEMb) et aux plus petits effectifs (YVO, ROS, GES, THO, PDMA, ETA, HAC), qui sont plus sujettes aux phénomènes stochastiques et ont un risque d'extinction plus importants (Liams, 2000). Dans tous les cas, la documentation rigoureuse de ces actions ainsi que la participation des experts, des gestionnaires des espaces naturels et des parties prenantes locales sont essentielles pour assurer la réussite de ces actions de conservation sur le long terme.

15. Perspectives

Il est important de rappeler que les données de cette étude doivent être interprétées avec prudence en raison de certaines limitations. Plusieurs facteurs peuvent rendre certaines données inexploitable, tels que des biais liés à l'échantillonnage, des fluctuations dues à des conditions météorologiques défavorables affectant le séchage des écouvillons et encourageant la prolifération bactérienne qui peut perturber les extractions d'ADN. Cependant, des mesures ont été prises pour minimiser ces biais et les résultats obtenus fournissent des informations suffisantes pour des conclusions régionales.

Il est également essentiel de reconnaître que les populations sont dynamiques et que les résultats peuvent fluctuer dans le temps en réponse à différents facteurs. Pour pallier ces limites, des solutions telles que des passages multiples au génotypage, la combinaison avec d'autres marqueurs génétiques et une campagne d'échantillonnage plus longue peuvent être envisagées.

Des études focalisées sur des pressions d'observation plus locales pourraient fournir des informations plus détaillées sur l'état des populations de tritons crêtés dans des zones spécifiques. C'est le cas des méthodes de CMR, qui bien que coûteuses, permettraient de mieux cibler les mesures de gestion à plus petite échelle. Des études supplémentaires pourraient également se concentrer sur les populations fragmentées du Pays de Herve et de l'Ardenne, ainsi que sur les éventuelles connexions avec les populations limitrophes, afin d'avoir une vision plus complète de la distribution et de la dynamique génétique de l'espèce à une échelle plus globale.

L'intégration des données environnementales, telles que l'historique des creusements de mares et d'autres aménagements des habitats est essentielle pour comprendre comment ces facteurs influencent la dispersion et la structuration génétique des populations de tritons crêtés. De même, le suivi à long terme des populations et des effets des mesures de gestion, y compris des réintroductions, est crucial pour évaluer l'efficacité de ces actions dans le temps. Enfin, toutes ces données seraient intéressantes à explorer chez d'autres espèces d'amphibiens afin de cerner au mieux les enjeux liés à l'herpétologie en Wallonie. En résumé, le suivi à long terme, la prise en considération de l'aspect génétique et la documentation des actions réalisées sont des piliers pour améliorer la conservation des espèces en Wallonie.

VII. CONCLUSIONS

Les objectifs de ce travail étaient d'analyser la structuration génétique des populations de tritons crêtés en Wallonie, évaluer leur diversité génétique, étudier les flux géniques entre les populations, détecter les risques de consanguinité et identifier les populations potentiellement isolées. De plus, cette recherche visait à contribuer à l'amélioration des mesures de conservation déjà en place.

Les résultats de cette première étude mettent en évidence une situation non alarmante pour le triton crêté en Wallonie. Une partie des populations étudiées montre des caractéristiques génétiques prometteuses, notamment un bon flux génique qui favorise une diversité génétique. Toutefois, ces résultats soulignent l'importance de continuer les efforts de conservation pour assurer un avenir durable aux populations de tritons crêtés, ainsi qu'à d'autres espèces d'amphibiens. La distance géographique apparaît comme un facteur déterminant dans la structuration génétique des populations, soulignant l'importance des échanges de gènes facilités par la proximité des mares.

La préservation des habitats, la facilitation des échanges génétiques entre les populations et le suivi régulier des populations sont des éléments essentiels pour assurer la conservation à long terme de cette espèce. Il convient également de tenir compte de l'interconnectivité des écosystèmes et de prendre en considération les impacts potentiels des mesures de gestion sur d'autres espèces. Pour améliorer la conservation du triton crêté en Wallonie, les mesures de gestion peuvent se concentrer sur l'entretien des habitats, la densification du réseau de mares et les translocations d'individus.

En conclusion, ces résultats soulignent l'importance de prendre en compte la structure génétique et les flux de gènes dans la gestion et la conservation du triton crêté en Wallonie, tout en tenant compte du contexte dynamique des écosystèmes. La conservation du triton crêté en Wallonie est un défi important qui nécessite la poursuite d'une approche proactive et coordonnée, afin de préserver cette espèce emblématique et de maintenir la biodiversité de la région.

VIII. BIBLIOGRAPHIE

A propos du Life BNIP. (s. d.). *LIFE Belgian Nature Integrated Project*. Consulté 14 février 2023, à l'adresse <https://www.life-bnip.be/fr/sur-bnip/background/>

Allendorf, F. W., Funk, W. C., Aitken, S. N., Byrne, M., Luikart, G., Antunes, A., Allendorf, F. W., Funk, W. C., Aitken, S. N., Byrne, M., Luikart, G., & Antunes, A. (2022). *Conservation and the Genomics of Populations* (Third Edition, Third Edition). Oxford University Press.

Andrews, C. (2010). The Hardy-Weinberg Principle. *Nature Education Knowledge*, 3(10):65.

Angelone, S. (2010). Are differences in fitness traits related to genetic clusters? An empirical test on the European tree frog. *Biological Conservation*, 143(2), 471-478. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.11.014>

Arntzen, J., & Teunis, S. (1993). A six year study on the population dynamics of the crested newt *Triturus cristatus* following the colonization of a newly created pond. *The Herpetological Journal*, 3.

Arntzen, J. W., & Gerats, A. G. M. (1976). Une étude écologique des amphibiens du Nord-Ouest de la France avec un accent sur les préférences biotopiques et les relations de prédation. *M.Sc. Thesis, Institut de zoologie taxonomique*.

Arntzen, J. W., Kuzmin, S., Jehle, R., Beebee, T., Tarkhnishvili, D., Ishchenko, V., Ananjeva, N., Orlov, N., Tuniyev, B., Denoël, M., Nyström, P., Anthony, B., Schmidt, B., & Ogradowczyk, A. (2008). IUCN Red List of Threatened Species : *Triturus cristatus*. *IUCN Red List of Threatened Species*. <https://www.iucnredlist.org/en>

Arntzen, J. W., Themudo, G. E., & Wielstra, B. (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 centre of origin. *Contributions to Zoology*, 76(4), 261-278. <https://doi.org/10.1163/18759866-07604005>

Avery, R. A. (1968). Food and Feeding Relations of Three Species of *Triturus* (Amphibia Urodela) during the Aquatic Phases. *Oikos*, 19(2), 408-412. <https://doi.org/10.2307/3565028>

Babik, W., Branicki, W., Crnobrnja-Isailović, J., Cogălniceanu, D., Sas, I., Olgun, K., Poyarkov, N. A., Garcia-París, M., & Arntzen, J. W. (2005). Phylogeography of two European newt species—Discordance between mtDNA and morphology. *Molecular Ecology*, 14(8), 2475-2491. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02605.x>

Bailon, S. (1991). *Amphibiens et reptiles du pliocène et du quaternaire de France et d'Espagne : Mise en place et évolution des faunes* [These de doctorat, Paris 7]. <https://www.theses.fr/1991PA077130>

Baker, J., Beebee, T., Buckley, J., Gent, T., & Orchard, D. (2011). *Amphibian Habitat Management Handbook*.

Barbery, J. (2005). *Fiche espèce – Le Triton crêté (Triturus cristatus, Laurenti 1768)*. 9.

- Beebee, T. J. C., & Griffiths, R. A. (2005). The amphibian decline crisis : A watershed for conservation biology? *Biological Conservation*, 125(3), 271-285. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.04.009>
- Bell, G. (1979). Populations of Crested Newts, *Triturus cristatus*, in Oxfordshire, England. *Copeia*, 1979(2), 350-353. <https://doi.org/10.2307/1443426>
- Besnier, F., & Glover, K. A. (2013). ParallelStructure : A R Package to Distribute Parallel Runs of the Population Genetics Program STRUCTURE on Multi-Core Computers. *PLoS ONE*, 8(7), e70651. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070651>
- Blab, J. (1981). Analyses quantitatives sur la phénologie, l'abondance et la dynamique de populations d'urodèles dans le Kottenforst, près de Bonn. *Inst. Naturschutz Tierökol./Bonn 5300/DEU*.
- Blain, H.-A. (2005). *Contribution de la paléoherpétofaune (Amphibia Squamata) à la connaissance de l'évolution du climat et du paysage du pliocène supérieur au pléistocène moyen d'Espagne* [These de doctorat, Paris, Muséum national d'histoire naturelle]. <https://www.theses.fr/2005MNHN0040>
- Blankenship, S. M., May, B., & Hedgecock, D. (2002). Evolution of a Perfect Simple Sequence Repeat Locus in the Context of Its Flanking Sequence. *Molecular Biology and Evolution*, 19(11), 1943-1951. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004018>
- Braconnier, M. (2015). *Établissement et proposition d'amélioration du réseau écologique lié au triton crêté (Triturus cristatus) en Lorraine belge*. Faculté de Gembloux Agro-Bio-Tech.
- Broquet, T., Ménard, N., & Petit, E. (2007). Noninvasive population genetics : A review of sample source, diet, fragment length and microsatellite motif effects on amplification success and genotyping error rates. *Conservation Genetics*, 8(1), 249-260. <https://doi.org/10.1007/s10592-006-9146-5>
- Castro Monzon, F., Rödel, M.-O., Ruland, F., Parra-Olea, G., & Jeschke, J. M. (2022). Batrachochytrium salamandrivorans' Amphibian Host Species and Invasion Range. *EcoHealth*, 19(4), 475-486. <https://doi.org/10.1007/s10393-022-01620-9>
- Chapman, A. D. (2009). Numbers of living species in Australia and the world. *Australian Biodiversity Information Services Toowoomba, Australia*.
- Cheptou, P.-O. (2020). Biodiversité en crise et adaptation: *Annales des Mines - Responsabilité et environnement*, N° 100(4), 19-22. <https://doi.org/10.3917/re1.100.0019>
- CIPRES – Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research. (s. d.). *The CIPRES Science Gateway*. <https://www.phylo.org/index.php>
- Clavel, J. (2007). *Spécialistes et généralistes face aux changements globaux : Approches comportementales et évolutives* [These de doctorat, Paris 6]. <https://www.theses.fr/2007PA066408>
- Convention relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe, DNK, GRC, ITA, TUR, AUT, FIN, NLD, CHE, DEU, NOR, LIE, EEC, FRA, SWE, BEL, PRT, ESP, LUX, GBR, IRL, 038 OJ L (1979). <http://data.europa.eu/eli/convention/1982/72/oj/fra>
- Conseil de l'Union européenne. (1992). *The Habitats Directive—Environment—European Commission*. https://ec.europa.eu/environment/nature/legislation/habitatsdirective/index_en.htm

- Courchamp, F., Clutton-Brock, T., & Grenfell, B. (1999). Inverse density dependence and the Allee effect. *Trends in Ecology & Evolution*, 14(10), 405-410. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01683-3](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01683-3)
- Cutter, A. D. (2013). Integrating phylogenetics, phylogeography and population genetics through genomes and evolutionary theory. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69(3), 1172-1185. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.06.006>
- Dejean, T., Miaud, C., & Ouellet, M. (2007). *Proposition d'un protocole d'hygiène pour réduire les risques de dissémination d'agents infectieux et parasitaires chez les amphibiens lors d'intervention sur le terrain*. Bulletin de la Société Herpétologique de France. <https://www.documentation.eauetbiodiversite.fr/notice/00000000174212d853787221de337f7>
- DEMNA. (s. d.). *Note de précaution pour les inventaires faunistiques*. <http://biodiversite.wallonie.be/>
- Denoël, M., & Ficetola, G. F. (2008). Conservation of newt guilds in an agricultural landscape of Belgium : The importance of aquatic and terrestrial habitats. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 18(5), 714-728. <https://doi.org/10.1002/aqc.853>
- Denoël, M., & Lehmann, A. (2006). Multi-scale effect of landscape processes and habitat quality on newt abundance : Implications for conservation. *Biological Conservation*, 130(4), 495-504. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.01.009>
- de Wavrin, H. (2003). Habitats préférentiels des tritons en Moyenne-Belgique. *Les Naturalistes Belges*, 84, 1-14.
- DGARNE/DNF. (s. d.). *Catalogue des espèces et habitats des sites Natura2000 de la région Wallonne, Fiche 1166*. <http://biodiversite.wallonie.be/fr/liste-des-especes-de-la-directive-habitats-en-wallonie.html?IDD=1671&IDC=832>
- Earl, Dent A., & vonHoldt, Bridgett M. (2012). *STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method.*: Vol. 4 (2). Conservation Genetics Resources.
- 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(1), 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2004.05.022>
- Eisen J., E. J. (1999). Weisrock. *Microsatellites : Evolution and Applications*, 34-48.
- Ellegren, H. (2000). Heterogeneous mutation processes in human microsatellite DNA sequences. *Nature Genetics*, 24(4), Article 4. <https://doi.org/10.1038/74249>
- Estoup, A., Jarne, P., & Cornuet, J.-M. (2002). Homoplasmy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Molecular Ecology*, 11(9), 1591-1604. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01576.x>
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE : A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611-2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>

- Feldmann, R. (1981). Die Amphibien und Reptilien Westfalens. *Landesmuseum für Naturkunde zu Münster*.
- Ferrais, L. (2018). *Monitoring de la qualité de l'habitat de reproduction du triton crêté et de l'abondance de cette espèce dans des sites nouvellement créés ou restaurés en Fagne-Famenne dans le cadre du projet LIFE Prairies bocagères*. (Stage. École de Biologie Université catholique de Louvain).
- Francillon, H., & Rage, J.-C. (s. d.). « Urodèles », *Encyclopædia Universalis [en ligne]*, consulté le 6 février 2023. <https://www.universalis.fr/encyclopedie/urodeles/>
- Francis, R. M. (2017). pophelper : An R package and web app to analyse and visualize population structure. *Molecular Ecology Resources*, 17(1), 27-32. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12509>
- Frankham, R., Ballou, J. D., & Briscoe, D. A. (2010). *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press.
- Gasc, J. P. (1997). Atlas of Amphibians and Reptiles in Europe. *Societas Europaea Herpetologica & Museum national d'Histoire naturelle, Paris*.
- Gent, T. (2001). The Conservation of the Great Crested Newt *Triturus cristatus* in the UK. *RANA*, 295-305.
- Gilbert, K. J. (2016). Identifying the number of population clusters with structure : Problems and solutions. *Molecular Ecology Resources*, 16(3), 601-603. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12521>
- Gilpin, M., & Soulé, M. (1986). Minimum Viable Populations : Processes of Species Extinction. *Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer, Sunderland, Mass., 19-34.
- Goret, T. (2014). Le triton crêté, le roi des mares. *Magazine Natagora* 60, 12-14.
- Goret, T. (2020). *Le projet Life Prairies Bocagères : Bilan de 8 années d'actions en faveur de la biodiversité des prairies de Fagne Famenne*. <https://www.lifeprairiesbocageres.eu/>.
- Graitson E., Goffart Ph. & A. Weiserbs,. (2021). La liste rouge relative aux Amphibiens des Wallonie. *Natagora*.
- Graitson, E., Morelle, K., & Feremans, N. (2009). *La Vie des mares de nos campagnes*. (Service public de Wallonie | Direction générale de l'Agriculture, des Ressources naturelles et de l'Environnement).
- Griffiths, R. A., & Mylotte, V. J. (1987). Microhabitat selection and feeding relations of smooth and warty newts, *Triturus vulgaris* and *T. cristatus*, at an upland pond in mid-Wales. *Ecography*, 10(1), 1-7. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.1987.tb00731.x>
- Grossenbacher, K. (1977). Die amphibien des kantons Bern. *Mitt. naturf. Ges. Bern.*, 34: 3-64.
- Gustafson, D. H., Malmgren, J. C., & Mikusiński, G. (2011). Terrestrial Habitat Predicts use of Aquatic Habitat for Breeding Purposes—A Study on the Great Crested Newt (*Triturus cristatus*). *Annales Zoologici Fennici*, 48(5), 295-307. <https://doi.org/10.5735/086.048.0504>
- Halford, M. (2022). *La restauration écologique en Natura 2000 : Permis d'urbanisme & procédures administratives | Natagriwal asbl*.

- Hardy, G. H. (1908). Mendelian Proportions in a Mixed Population. *Science*, 28(706), 49-50.
<https://doi.org/10.1126/science.28.706.49>
- 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.
<https://doi.org/10.1017/S037689291000055X>
- Houlahan, J. E., Findlay, C. S., Schmidt, B. R., Meyer, A. H., & Kuzmin, S. L. (2000). Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*, 404(6779), Article 6779.
<https://doi.org/10.1038/35008052>
- IUCN. (2022). *The IUCN Red List of Threatened Species*. IUCN Red List of Threatened Species.
<https://www.iucnredlist.org/en>
- Ivanović, A., Džukić, G., & Kalezić, M. (2012). A Phenotypic Point of View of the Adaptive Radiation of Crested Newts (*Triturus cristatus* Superspecies, Caudata, Amphibia). *International Journal of Evolutionary Biology*, 2012, 740605. <https://doi.org/10.1155/2012/740605>
- Jacob, J.-P., Percsy, C., de Wavrin, H., Graitson, E., Kinet, T., Denoël, M., Paquay, M., Percsy, N., & Remacle, A. (2007). Amphibiens et Reptiles de Wallonie. *Aves – Raîne et Centre de Recherche de la Nature, des Forêts et du Bois (MRW - DGRNE)*, 384 pp.
- Janes, J. K., Miller, J. M., Dupuis, J. R., Malenfant, R. M., Gorrell, J. C., Cullingham, C. I., & Andrew, R. L. (2017). The K = 2 conundrum. *Molecular Ecology*, 26(14), 3594-3602. <https://doi.org/10.1111/mec.14187>
- Jehle, R. (2000). The terrestrial summer habitat of ratio-tracked great crested newts (*Triturus cristatus*) and marble newts (*T. marmoratus*). *Herpetological Journal*, 10, 137-142.
- Jehle, R., Wilson, G. A., Arntzen, J. W., & Burke, T. (2005). Contemporary gene flow and the spatio-temporal genetic structure of subdivided newt populations (*Triturus cristatus*, *T. marmoratus*). *Journal of Evolutionary Biology*, 18(3), 619-628. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2004.00864.x>
- Jost, L., Archer, F., Flanagan, S., Gaggiotti, O., Hoban, S., & Latch, E. (2018). Differentiation measures for conservation genetics. *Evolutionary Applications*, 11(7), 1139-1148. <https://doi.org/10.1111/eva.12590>
- Keenan, K., McGinnity, P., Cross, T. F., Crozier, W. W., & Prodöhl, P. A. (2013). diveRsity : An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(8), 782-788. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12067>
- Keller, L. F., & Waller, D. M. (2002). Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(5), 230-241. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02489-8](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02489-8)
- Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A., & Mayrose, I. (2015). Clumpak : A program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15(5), 1179-1191. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>
- Krupa, A. P., Jehle, R., Dawson, D. A., Gentle, L. K., Gibbs, M., Arntzen, J. W., & Burke, T. (2002). Microsatellite loci in the crested newt (*Triturus cristatus*) and their utility in other newt taxa. *Conservation Genetics*, 3, 87-89.

- Kupfer, A., & Kneitz, S. (2000). Population ecology of Great Crested Newts (*Triturus cristatus*) in an agricultural landscape : Dynamics, pond fidelity and dispersal. *Herpetological Journal*, 10, 165-172.
- Lande, R. (1988). Genetics and Demography in Biological Conservation. *Science*, 241(4872), 1455-1460. <https://doi.org/10.1126/science.3420403>
- Langton, T., Beckett, C., & Foster, J. (2001). *Great Crested Newt Conservation Handbook* (Froglife, Suffolk.).
- Llams, C. W. (2000). Modelling population dynamics of great crested newts (*Triturus cristatus*) : A population viability analysis. *Herpetological Journal*, 10, 157-163.
- Lonsinger, R. C., & Waits, L. P. (2015). ConGenR : Rapid determination of consensus genotypes and estimates of genotyping errors from replicated genetic samples. *Conservation Genetics Resources*, 7(4), 841-843. <https://doi.org/10.1007/s12686-015-0506-7>
- Maletzky, A., Kaiser, R., & Mikulíček, P. (2009). Conservation Genetics of Crested Newt Species *Triturus cristatus* and *T. carnifex* within a Contact Zone in Central Europe : Impact of Interspecific Introgression and Gene Flow. *Diversity*, 2(1), 28-46. <https://doi.org/10.3390/d2010028>
- Mantel, N. (1967). The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach. *Cancer Research*, 27(2_Part_1), 209-220.
- Maris, V. (2011). De la nature aux services écosystémiques : Une commodification de la biodiversité. *Ecorev*, 38.
- Mathevet, R. (2010). Dossier « Le réveil du dodo III » - Peut-on faire de la biologie de la conservation sans les sciences de l'homme et de la société? État des lieux. *Natures Sciences Sociétés*, 18(4), 441-445. <https://doi.org/10.1051/nss/2011008>
- Mayo, O. (2008). A Century of Hardy–Weinberg Equilibrium. *Twin Research and Human Genetics*, 11(3), 249-256. <https://doi.org/10.1375/twin.11.3.249>
- Meyer, S., & Grosse, W.-R. (2007). *Populationsgröße, Altersstruktur und genetische Diversität einer Metapopulation des Kammmolches (Triturus cristatus) in der Kulturlandschaft Sachsen-Anhalts*.
- Miaud, C. (1990). *La dynamique des populations subdivisées : Étude comparative chez trois amphibiens urodèles (Triturus alpestris, T. helveticus et T. cristatus)* [PhD Thesis]. <http://www.theses.fr/1990LYO10029>
- Mikulíček, P., Horák, A., Zavadil, V., Kautman, J., & Piálek, J. (2012). Hybridization between three crested newt species (*Triturus cristatus* superspecies) in the Czech Republic and Slovakia : Comparison of nuclear markers and mitochondrial DNA. *Folia Zoologica*, 61(3–4), 202-218. <https://doi.org/10.25225/fozo.v61.i3.a4.2012>
- Miller, H. C. (2006). Cloacal and buccal swabs are a reliable source of DNA for microsatellite genotyping of reptiles. *Conservation Genetics*, 7(6), 1001-1003. <https://doi.org/10.1007/s10592-006-9120-2>
- Morand, A. (2018). Les amphibiens à la loupe, 60 clés pour comprendre. *Editions Quae*.
- Murcia, C. (1995). Edge effects in fragmented forests : Implications for conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 10(2), 58-62. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)88977-6](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)88977-6)

- Natagora. (2022). La rainette verte de retour en Wallonie. *Natagora*. <https://www.natagora.be/news/la-rainette-verte-de-retour-en-wallonie>
- Natagora, & Bruxelles environnement. (2021). *Fiches jardin naturel : La mare naturelle*. <https://reseaunature.natagora.be/mare-naturelle>
- Natagriwal. (s. d.). *Méthodes Agro-Environnementales et Climatiques*. Consulté 12 juin 2022, à l'adresse <https://www.natagriwal.be/maec/>
- Orizaola, G., Quintela, M., & Laurila, A. (2010). Climatic adaptation in an isolated and genetically impoverished amphibian population. *Ecography*, 33(4), 730-737. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2009.06033.x>
- Pimm, S. L., Russell, G. J., Gittleman, J. L., & Brooks, T. M. (1995). The Future of Biodiversity. *Science*, 269(5222), 347-350. <https://doi.org/10.1126/science.269.5222.347>
- Portail de l'agriculture wallonne. (2023, avril 21). *Eco-régime maillage écologique*. <https://agriculture.wallonie.be/eco-regime-maillage-ecologique>
- Portail wallonie. (s. d.). *Quelles sont les actions prévues pour les amphibiens? | Habitats et espèces concernés | LIFE Intégré | La biodiversité en Wallonie*. Consulté 14 février 2023, à l'adresse <http://biodiversite.wallonie.be/fr/actions-amphibiens.html?IDC=6189>
- Primack, R. B. (2012). *A Primer of Conservation Biology*. Sinauer Associates, Incorporated Publishers. <https://books.google.be/books?id=vHp5twAACAAJ>
- Pritchard, J. K., & Wen, W. (2003). *Structure Software for Population Genetics Inference : V1.0*. University of Chicago Press. http://web.stanford.edu/group/pritchardlab/software/structure2_1.html
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155(2), 945-959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- Pritchard, J. K., Wen, X., & Falush, D. (2010). *Documentation for structure software : Version 2.3*.
- Projet LIFE Prairies bocagères, & Natagora asbl. (2015). *Les mares agricoles à triton crêté*.
- Reed, D. H., & Frankham, R. (2003). Correlation between Fitness and Genetic Diversity. *Conservation Biology*, 17(1), 230-237. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2003.01236.x>
- Régions naturelles de Belgique. (2023). In *Wikipédia*. https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=R%C3%Agions_naturelles_de_Belgique&oldid=205561084
- Renson, S. (2017). Les amphibiens et reptiles. *Cercles des Naturalistes de Belgique asbl*.
- Rouffaer, L. (2020). *De salamander-etende schimmel : Een update*. <https://www.natuurpunt.be/nieuws/de-salamander-etende-schimmel-een-update-20200828>
- Schlötterer, C. (2000). Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109(6), 365-371. <https://doi.org/10.1007/s004120000089>

- Schön, I., Raepsaet, A., Goddeeris, B., Bauwens, D., Mergeay, J., Vanoverbeke, J., & Martens, K. (2011). High genetic diversity but limited gene flow in Flemish populations of the crested newt, *Triturus cristatus*. *Belgian Journal Of Zoology*, *141*(1), 3-13.
- Selkoe, K. A., & Toonen, R. J. (2006). Microsatellites for ecologists : A practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, *9*(5), 615-629. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00889.x>
- Senge, T., Madea, B., Junge, A., Rothschild, M. A., & Schneider, P. M. (2011). STRs, mini STRs and SNPs – A comparative study for typing degraded DNA. *Legal Medicine*, *13*(2), 68-74. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2010.12.001>
- Simon, B. (2000). *Distribution, habitats et problématique de la conservation du Triton crêté (Triturus cristatus) en Wallonie*. (Mémoire de graduat en agronomie, année académique 1999-2000, Haute école Rennequin Sualem de la province de Liège, Département agronomique, La Reid.).
- Sodhi, N. S., Bickford, D., Diesmos, A. C., Lee, T. M., Koh, L. P., Brook, B. W., Sekercioglu, C. H., & Bradshaw, C. J. A. (2008). Measuring the Meltdown : Drivers of Global Amphibian Extinction and Decline. *PLoS ONE*, *3*(2), e1636. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001636>
- SPW Agriculture, Ressources Naturelles et Environnement (SPWARNE). (s. d.). [Http://biodiversite.wallonie.be](http://biodiversite.wallonie.be). *Biodiversité Wallonie*. Consulté 9 juin 2023, à l'adresse <http://biodiversite.wallonie.be>
- SPW Territoire, Logement, Patrimoine, Énergie. (2022). *Code du Développement territorial*.
- Stevens, V. M., & Bagnette, M. (2008). Importance of Habitat Quality and Landscape Connectivity for the Persistence of Endangered Natterjack Toads. *Conservation Biology*, *22*(5), 1194-1204. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.00990.x>
- Taberlet, P., Waits, L. P., & Luikart, G. (1999). Noninvasive genetic sampling : Look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution*, *14*(8), 323-327. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01637-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01637-7)
- Taymans, J. (2021). *Bilan des réintroductions du Triton crêté dans plusieurs carrières du projet LIFE in Quarries (LIFE14 NAT/BE/000364) à partir de populations sources préalablement étudiées*. Natagora.
- Vacher, J.-P., & Ursenbacher, S. (2014). *Structuration et diversité génétiques du Triton crêté, Triturus cristatus, en Alsace*.
- Wallace, H. (1987). Abortive development in the crested newt *Triturus cristatus*. *Development*, *100*(1), 65-72. <https://doi.org/10.1242/dev.100.1.65>
- Weinberg, W. (1908). *Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen*. <http://archive.org/details/b30613000>
- Weisrock, D. W., Papenfuss, T. J., Macey, J. R., Litvinchuk, S. N., Polymeni, R., Ugurtas, I. H., Zhao, E., Jowkar, H., & Larson, A. (2006). A molecular assessment of phylogenetic relationships and lineage accumulation rates within the family Salamandridae (Amphibia, Caudata). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *41*(2), 368-383. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.05.008>

- Werner, E. E., Yurewicz, K. L., Skelly, D. K., & Relyea, R. A. (2007). Turnover in an amphibian metacommunity : The role of local and regional factors. *Oikos*, *116*(10), 1713-1725.
<https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2007.16039.x>
- Wielstra, B., & Arntzen, J. W. (2011). Unraveling the rapid radiation of crested newts (*Triturus cristatus* superspecies) using complete mitogenomic sequences. *BMC Evolutionary Biology*, *11*(1), 162.
<https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-162>
- Wielstra, B., Baird, A. B., & Arntzen, J. W. (2013). A multimarker phylogeography of crested newts (*Triturus cristatus* superspecies) reveals cryptic species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *67*(1), 167-175. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.01.009>
- Williams, P., & J Biggs, M Whitfield, A Thorne, S Bryant, G Fox, P Nicolet. (2010). *The Pond Book : A Guide to the Management and Creation of Ponds* (The Ponds Conservation Trust).
- Zrak, E. (2014). *Estimation de la taille et dynamique des populations de Triton crêté (Triturus cristatus) Wallonne (Belgique) : Les recommandations pour la conservation de l'espèce.* (Mémoire de stage de Master deuxième année). Université de Bourgogne - Master STS – ETE Spécialité Biologie des Organismes et des Populations.

IX. ANNEXES

Annexe 1 : Législation

(Braconnier, 2015; Convention relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe, 1979; Conseil de l'Union européenne, 1992; SPW Agriculture, Ressources Naturelles et Environnement (SPWARNE), s. d.)

1. Convention internationale : Convention de Berne (9 septembre 1886), annexe 2

Sont notamment interdits :

- a) toute forme de capture intentionnelle, de détention et de mise à mort intentionnelle ;
- b) la détérioration ou la destruction intentionnelles des sites de reproduction ou des aires de repos ;
- c) la perturbation intentionnelle de la faune sauvage, notamment durant la période de reproduction, de dépendance et d'hibernation, pour autant que la perturbation ait un effet significatif eu égard aux objectifs de la présente Convention ;
- d) la destruction ou le ramassage intentionnels des œufs dans nature ou leur détention, même vides ;
- e) la détention et le commerce interne de ces animaux, vivants ou morts, y compris des animaux naturalisés, et de toute partie ou de tout produit, facilement identifiables, obtenus à partir de l'animal, lorsque cette mesure contribue à l'efficacité des dispositions de cet article.

2. Directives européennes

CE/92/43 (Directive Faune-Flore-Habitat) - Annexe 2 : espèce dont l'habitat doit être protégé.

CE/92/43 (Directive Faune-Flore-Habitat) - Annexe 4 : espèce strictement protégée, la capture et la mise à mort intentionnelle est interdite tout comme la perturbation des phases critiques du cycle vital et la destruction de leurs aires de repos et de leurs sites de reproduction.

1. Loi de la Conservation de la Nature :

Annexe 9 du décret du 6 décembre 2001 modifiant la Loi du 12 juillet 1973 de la Conservation de la Nature qui indique (Article 25) que cette espèce est une des espèces de référence pour la définition de sites Natura2000.

Annexe 2a : du décret du 6 décembre 2001 modifiant la Loi du 12 juillet 1973 de la Conservation de la Nature qui indique (Article 2) que cette espèce est intégralement protégée (espèce strictement protégées) en vertu de l'annexe IVa de la Directive 92/43/CEE et de l'annexe II de la Convention de Berne). Cette protection implique l'interdiction :

1° de capturer et de mettre à mort intentionnellement de spécimens de ces espèces dans la nature;

2° de perturber intentionnellement ces espèces, notamment durant la période de reproduction, de dépendance, d'hibernation et de migration ;

3° de détruire ou de ramasser intentionnellement dans la nature ou de détenir des œufs de ces espèces ;

4° de détériorer ou de détruire les sites de reproduction, les aires de repos ou tout habitat naturel où vivent ces espèces à un des stades de leur cycle biologique ;

5° de naturaliser, de collectionner ou de vendre les spécimens qui seraient trouvés blessés, malades ou morts ;

6° de détenir, transporter, échanger, vendre ou acheter, offrir aux fins de vente ou d'échange, céder à titre gratuit les spécimens de ces espèces prélevés dans la nature, y compris les animaux naturalisés, à l'exception de ceux qui auraient été prélevés légalement avant la date d'entrée en vigueur de la présente disposition ainsi qu'à l'exception de celles de ces opérations qui sont constitutives d'une importation, d'une exportation ou d'un transit d'espèces animales non indigènes et de leurs dépouilles ;

7° d'exposer dans des lieux publics les spécimens.

Les interdictions visées aux points 1°, 2°, 5°, 6° et 7° de l'alinéa précédent s'appliquent à tous les stades de la vie des espèces animales visées par le présent article, y compris les œufs, nids ou parties de ceux-ci ou des spécimens.

Les Articles 5 et 5bis définissent les modalités de dérogations aux mesures de protection des espèces animales et végétales. Voir l'AGW du 20 novembre 2003 relatif à l'octroi de dérogations aux mesures de protection des espèces animales et végétales (M.B. 20.01.2004).

Annexe 2 : Sites prospectés

Province	Région naturelle	Site	Code site	Nbr mares	N éch. 2019	N éch. 2023	N éch. Tot.	N génotypes > 5 marqueurs	X	Y
HAINAUT										
<i>Hainaut</i>	<i>Région limoneuse hennuyère</i>	<i>Peronnes</i>	<i>PER</i>	1	7	0	7	6	84204	138123
Hainaut	Région limoneuse hennuyère	Taintignies-Brunehaut	TBR	1	8	9	17	10	77053	135516
Hainaut	Région limoneuse hennuyère	Templeuve a	TEMa	1	8	7	15	13	72415	149746
Hainaut	Région limoneuse hennuyère	Templeuve b	TEMb	1	0	23	23	10	73075	149906
Hainaut	Région limoneuse hennuyère	Vaulx	VAU	1	12	17	29	22	84301	143042
<i>Hainaut</i>	<i>Région limoneuse hennuyère</i>	<i>Peruwelz</i>	<i>PRZ</i>	2	2	0	2	2	88817	132447
<i>Hainaut</i>	<i>Région limoneuse hennuyère</i>	<i>Marionville</i>	<i>MRN</i>	1	0	7	7	7	111727	127446
Hainaut	Région limoneuse hennuyère	Ormegnies	ORM	1	0	11	11	11	107906	144018
Hainaut	Région limoneuse hennuyère	Beloëil a	BELa	6	22	0	22	19	102182	136590
Hainaut	Région limoneuse hennuyère	Beloëil b	BELb	4	15	0	15	15	104169	135927
Hainaut	Région limoneuse hennuyère	Petit-Roeulx-Lez-Braine	PRB	2	45	0	45	43	130135	146868
<i>Hainaut</i>	<i>Région limoneuse hennuyère</i>	<i>Chemin d'Horrués</i>	<i>CHE</i>	1	0	20	20	9	130057	144497
Hainaut	Région limoneuse hennuyère	Barrière d'Ecaussines	BEC	1	19	0	19	19	133251	142071
<i>Hainaut</i>	<i>Région limoneuse hennuyère</i>	<i>Ecaussines</i>	<i>ECA</i>	1	4	0	4	3	138216	141672
<i>Hainaut</i>	<i>Condroz</i>	<i>Joncret</i>	<i>JON</i>	1	5	0	5	5	159523	115222
Hainaut	Région limoneuse hennuyère	Fosse aux Sables	FAS	3	0	20	20	19	130735	113010
LIEGE										
Liège	Hesbaye	Fumal	FUM	1	0	12	12	10	206684	141298
<i>Liège</i>	<i>Versant Sambre-Mosan</i>	<i>Hermalle</i>	<i>HER</i>	2	0	3	3	0	219918	140996
NAMUR										
Namur	Hesbaye	Mazy (Gembloux)	MAZ	4	13	0	13	11	172882	135159
<i>Namur</i>	<i>Condroz</i>	<i>Rostenne</i>	<i>ROS</i>	1	1	0	1	1	185831	107154
<i>Namur</i>	<i>Condroz</i>	<i>Yvoir</i>	<i>YVO</i>	1	1	0	1	1	187207	111278
<i>Namur</i>	<i>Condroz</i>	<i>Thon</i>	<i>THO</i>	1	0	2	2	2	195947	127653
<i>Namur</i>	<i>Condroz</i>	<i>Gesves</i>	<i>GES</i>	1	4	0	4	3	199547	122242
Namur	Condroz	<i>Sorée ouest</i>	SORa	3	0	10	10	7	203158	122400
Namur	Condroz	<i>Sorée est</i>	SORb	2	0	10	10	5	205264	123779
Namur	Fagne-Famenne	Romedenne	ROM	2	18	0	18	17	172204	95504
Namur	Fagne-Famenne	Baquet	BAQ	1	12	7	19	19	179758	93574
Namur	Fagne-Famenne	Grand Quarti	GQU	5	9	37	46	44	190406	92715
Namur	Fagne-Famenne	Comogne	COM	3	0	20	20	16	200354	91577
<i>Namur</i>	<i>Fagne-Famenne</i>	<i>Villers sur Lesse</i>	<i>VSL</i>	1	0	20	20	10	202705	93881
<i>Namur</i>	<i>Calestienne</i>	<i>Winenne</i>	<i>WIN</i>	1	0	0	0	0	188441	89273
<i>Namur</i>	<i>Calestienne</i>	<i>Mariembourg</i>	<i>MRG</i>	2	0	8	8	6	161833	86786
Namur	Calestienne	Camp militaire de Marche	CMM	>6	0	41	41	34	222023	104782
LUXEMBOURG										
Luxembourg	Ardenne	Journal (la Roche)	JOU	1	19	0	19	19	230915	96456
<i>Luxembourg</i>	<i>Lorraine</i>	<i>Hachy</i>	<i>HAC</i>	2	0	2	2	0	244276	44225
<i>Luxembourg</i>	<i>Lorraine</i>	<i>Etalle</i>	<i>ETA</i>	2	0	0	0	0	244276	44225
<i>Luxembourg</i>	<i>Lorraine</i>	<i>Plate Dessous les Monts 1</i>	<i>PDMa</i>	2	3	1	4	4	234341	43721
Luxembourg	Lorraine	Plate Dessous les Monts 2	PDMb	4	0	20	20	20	235038	43252
<i>Luxembourg</i>	<i>Lorraine</i>	<i>Nobressart</i>	<i>NOB</i>	3	0	6	6	2	247363	46871

Tableau : Détail des différents sites prospectés. Nbr mares = nombre de mares échantillonnées ; N éch 2019 = nombre d'échantillon récolté en 2019 ; N éch 2023 = nombre d'échantillons récoltés en 2023 ; N éch Tot = nombre d'échantillon total récolté ; N génotypes >5 marqueurs = Nombre d'échantillons dont le génotype contient plus de 5 marqueurs détecté (contenant donc moins de 6 valeurs manquantes) ; X = longitude ; Y = latitude.

Les sites écrits en italique n'ont pas été retenus pour l'analyse de diversité génétique à l'échelle des sous-populations.

Annexe 3 : Protocole d'échantillonnage

Protocole d'échantillonnage ADN des tritons crêtés**Documents :**

- [Planning d'échantillonnage et liste des sites](#)
- [Points GPS des mares à échantillonner](#)
- [Fiche d'encodage à compléter par site](#)

1. Matériel à emporter

- Écouvillons (1 sachet annoté/site + sachet d'écouvillons de secours)
- Ciseaux
- Gants en latex
- (Gel hydroalcoolique)
- Tubes 2ml (une boîte d'un 20aine de tubes/site)
- Marqueurs fins et crayons
- Nasses
- Bouteilles en plastique (flotteurs)
- Bâtonnets pour attacher la ficelle des nasses
- Ficelle
- Spray de Virkon
- Bottes en caoutchouc
- Jerrican d'eau
- Seaux
- Sacs poubelles
- Grand bac pour stocker les nasses sales
- Objet plat (cuillère, canif...)
- Pq
- Points GPS des mares
- Fiche d'encodage sur papier ou téléphone/tablette (1 fiche à remplir/site)
- Dérogation/papiers d'autorisation/n° des personnes à prévenir

☐ Étiquettes explicative du projet à placer sur la ficelle des nasses

1. Avant l'échantillonnage

- Préparer le matériel
- Contacter les personnes à prévenir (voir dans le listing)
- Pré-remplir la fiche d'encodage (Date, Code du site et de la mare, Coordonnées)

2. Placement des nasses

- En fin de journée
- Prévoir 3-4 mares/jour maximum
- Équiper la nasse d'une ou deux bouteilles en plastique (fermée) comme flotteur pour éviter que les tritons ne se noient
- Placer une étiquette explicative par mare
- Saturer la mare en nasses
 - 1 nasse/10m le long des berges des grandes mares
 - 3 à 4 nasses dans petites mares (1 nasse/2-3m de berge favorable)
- Attacher la ficelle de la nasse à la végétation ou planter un bâtonnet dans le sol pour l'y attacher si végétation insuffisante
- ➔ Si sur place on se rend compte que les mares prévues ne sont pas accessibles/sont asséchées, se rendre à une autre mare proche et bien noter les coordonnées !

3. Retrait des nasses et échantillonnage

- Le lendemain matin (ne pas attendre plus de 24h ! Plus on attend, plus les tritons risquent de mourir/se blesser)
- Collecter les individus dans un seau (pas au soleil), une nasse à la fois
- Séparer les tritons crêtés des autres espèces dans des seaux différents
- Prendre note des autres espèces observées, les encoder sur Observations.be et les relâcher
- Manipuler vite mais délicatement les tritons !
- Écouvillonner le triton :
 - Pour ouvrir la bouche du triton : insérer un petit objet plat à la commissure des lèvres (manche de cuillère, pointe émoussée d'un crayon...) → ouverture par réflexe, en profiter pour insérer l'écouvillon → tourner 3-4 secondes doucement (+ simple à 2 : un tient et fait ouvrir la gueule, l'autre insère l'écouvillon)
 - Laisser sécher l'écouvillon

Placer dans le tube stérile ou dans un tube de 2ml si écouvillons sans tube et

- couper la tige aux ciseaux → frotter les ciseaux à la javel entre chaque
- Annoter le tube avec un code unique : **CodeMare_xx** → par exemple le 3ème échantillon de la 2ème mare du site Baquet sera annoté "BAQ2_03" (bien vérifier le code de la mare sur la carte)
- Stocker tous les échantillons d'un même site dans un sachet/une boîte préalablement annotée avec le code du site
- Remplir les champs "Code de l'échantillon" et "Sexe" de la fiche d'échantillonnage pour chaque échantillon collecté
- Remettre le triton dans la mare à l'endroit où se trouvait la nasse (dès qu'un triton a été échantillonné, il peut être relâché)
- Vider le seau dans la mare à l'endroit où la nasse se trouvait

L'idéal serait d'avoir 20 échantillons/site

- Si un nombre de 20 est atteint en une session, on s'arrête là (on peut compter le nombre de tritons restant mais ne pas les échantillonner !)
- Si <20 individus en une session → remettre les nasses pour une seconde nuit ou essayer d'autres mares à <1km

1. Précautions et nettoyage pour éviter contamination au pathogène *Batrachochytrium salamandrivorans*

- Bien séparer les nasses propres des nasses utilisées dans des bacs séparés !
- Entre chaque mare :
 - Désinfection du matériel en contact avec la mare (bottes, seau) en pulvérisant au Virkon (0,5-1%)
 - Rincer à l'eau claire
 - Désinfecter des mains au gel hydroalcoolique/changer de gants
- Chaque semaine :
 - Nettoyer les nasses utilisées au Virkon 1% : immerger 30min toutes les nasses dans un bac → bien rincer → laisser égoutter et sécher au soleil idéalement
 - Nettoyer tout le matériel à la Javel 10%

Préparation de solution de Virkon :

- Virkon 0,5-1% entre chaque site : 1/2 cuillère à café de poudre de virkon dans 500ml d'eau dans vaporisateur
- Virkon 1% chaque semaine : 5 cuillères à café dans 5L d'eau

Annexe 4 : Protocole d'extraction d'ADN

L'extraction d'ADN a été réalisée avec le QIAGEN DNeasy Blood and Tissue Kit, avec un protocole recommandé par le fabricant et adapté aux échantillons salivaires.

PROTOCOLE D'EXTRACTION SWAB

• Étapes

1. Découper le bout de l'écouvillon dans un tube de 2ml
2. Stériliser les ciseaux et pinces en trempant la lame dans un falcon d'éthanol -> passer à la flamme -> mettre dans un falcon d'eau (à faire entre chaque échantillon)
3. Ajouter **500µl** de **PBS** (dépend de la taille de l'écouvillon et de son degré d'absorption -> gros écouvillon = gros volume)
4. Ajouter **500µl** de **Buffer AL** (même volume que PBS ; secouer avant utilisation) et **20µl** de **Protéinase K**
5. Vortexer immédiatement 15sec
6. Incuber 10min minimum à 56°C, vitesse 350
7. Centrifuger quelques secondes pour faire tomber les gouttelettes du capuchon
8. Ajouter **500µl** d'**éthanol** (96-100%)
9. Vortexer 15sec et centrifuger quelques secondes
10. Ajouter **700µl** du tube d'échantillon à la colonne prudemment, sans mouiller le rebord
11. Centrifuger à 6000g (9000rpm) pendant 1min
12. Vider le tube de collection dans l'évier et le jeter, placer la colonne dans un nouveau tube (à répéter après chaque centrifugation**)
13. Répéter les étapes 9 à 11 jusqu'à ce que tout l'échantillon ait été chargé sur la colonne
14. Ajouter **500µl** de **AW1**
15. Centrifuger à 6000g (9000rpm) pendant 1min**
16. Ajouter **500µl** de **AW2**
17. Centrifuger au max pendant 3min**
18. Centrifuger au max pendant 1min pour bien enlever tous l'éthanol de la membrane**
19. Placer la colonne dans un tube de 1,5ml
20. Ajouter **80µl** de **AE** (évite de trop diluer l'ADN mais donne suffisamment d'éluat)
21. Incuber 3min à 56°C (ou t° ambiante)
22. Centrifuger à 6000g (9000rpm) pendant 1min
23. Jeter la colonne, conserver l'éluat
24. Conserver au congélateur

Annexe 5 : Protocole PCR

1. Préparer les 3 mix multiplex : 10 μ l d'amorce forward, 10 μ l d'amorce reverse pour chaque microsatellite.
2. Porter à 500 μ l avec de l'eau.
3. Préparer dans un microtube une solution contenant 500 μ l de Mastermix, 100 μ l du mix (1 ou 2 ou 3) et 300 μ l d'eau. Répéter cette étape pour les 3 mix différents.
4. Vortexer 10 secondes et centrifuger pour éliminer les gouttelettes.
5. Déposer sur une plaque 96 puits 9 μ l d'un des mix (1 ou 2 ou 3) avec la pipette dispensatoire et 2 μ l de l'ADN extrait d'un individu à l'aide de la multipipette en pipetant plusieurs fois afin de bien mélanger la solution. Un individu correspond à un puits. Cette étape est à réaliser 3 fois pour les 3 mix différents (une plaque par mix) en respectant un même ordre des individus. Un contrôle négatif est réalisé avec un puits contenant tous les réactifs à l'exception de l'ADN.
6. Mettre le couvercle en silicone et déposer la plaque dans le thermocycleur du GeCoLAB selon le programme décrit.
7. Enlever le couvercle en silicone, mettre un film en aluminium et entreposer la plaque au congélateur.

Annexe 6 : Analyse structure sur les données globales, selon différents K

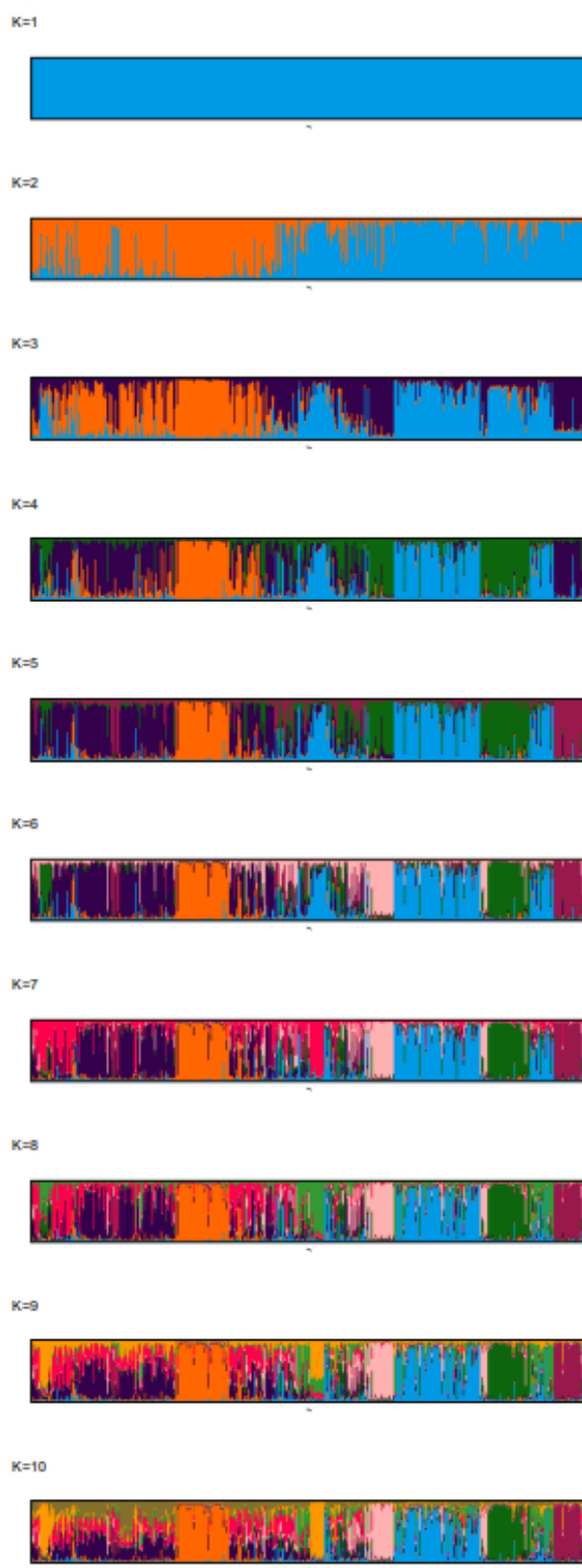


Figure : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des génotypes de tritons collectés en Wallonie pour chaque K. Chaque bâtonnet correspond à la probabilité de chaque génotype d'appartenir à chacun des clusters.

Annexe 7 : Répartition des affiliations quand K=2

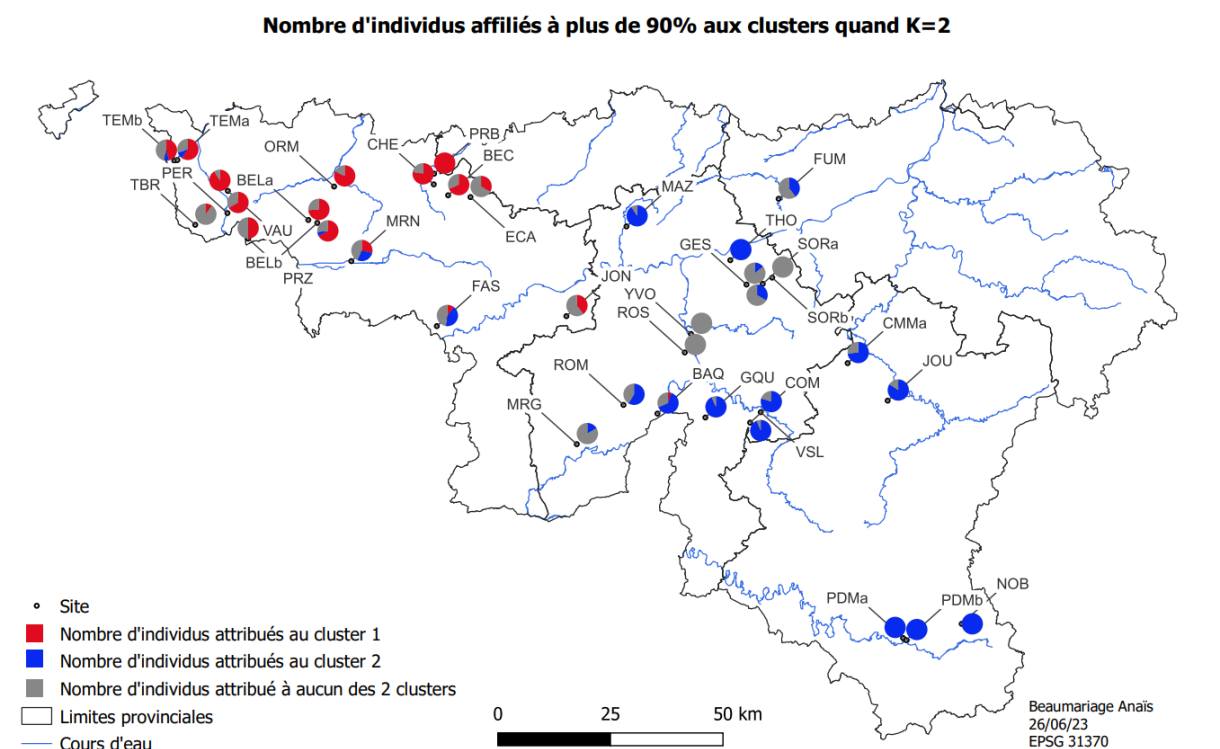


Figure : Carte de répartition des individus au sein des clusters (K=2) par sites. Chaque camembert représente, par site, la proportion d'individus assignés au cluster 1 à 90% ou plus (Nord, en rouge) ; au cluster 2 à 90% ou plus (Sud, en bleu) et assignés à aucun des deux clusters à 90% ou plus (en gris).

Annexe 8 : Différenciation génétique et flux de gènes entre les clusters quand K=2

	Nord	Sud
Nord		0.2726
Sud	0.3407	

Tableau : Valeurs de différenciation génétique et flux de gènes entre clusters. Nord= Hainaut (nord de la Haine) ; Sud = Reste de la Wallonie. Moitié supérieure = Djost ; moitié inférieure = G'st.

	BC_mean	BC_Lower_95%CI	BC_Upper_95%CI
Djost	0.2726	0.2393	0.3083
G'st	0.3407	0.3054	0.3782

Tableau : Valeurs de différenciation et flux de gènes entre les clusters. BC_mean = Moyenne ; BC_Lower_95%CI = intervalle de confiance inférieur ; BC_Upper_95%CI = intervalle de confiance supérieur.

Annexe 9 : Analyse de BEL à l'échelle de la mare

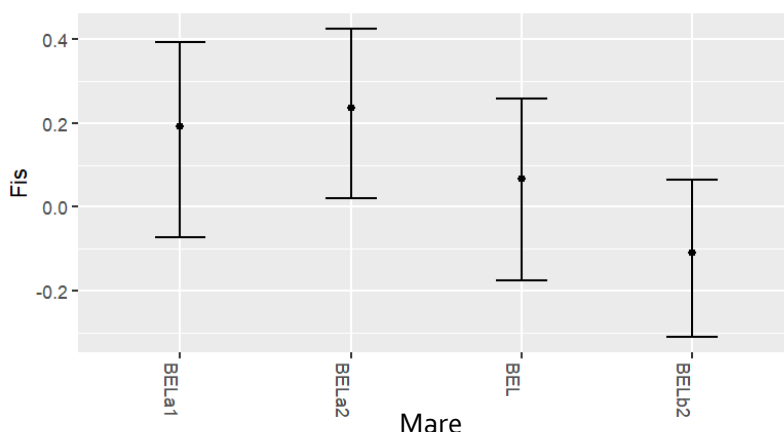
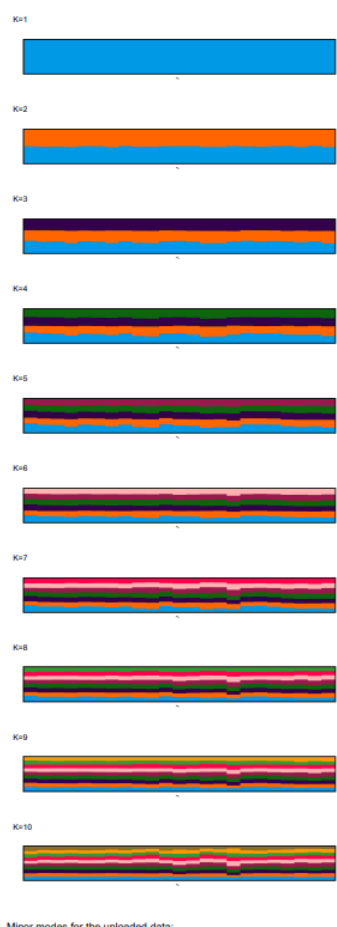


Figure : Graphique représentant les valeurs de Fis et leurs intervalles de confiance pour chaque mare.

Figure : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur les génotypes de tritons collectés à BEL, selon différents K.

Divergence génétique :

	BELa1	BELa2	BELb1	BELb2
BELa1		0.0731	0.0275	0.0199
BELa2	0.1133		0.0013	0.0048
BELb1	0.099	0.0312		0.0017
BELb2	0.0742	0.0387	0.059	

Tableau : Valeurs de différenciation et flux de gènes entre mares.

Moitié supérieure = D_{jost} ; moitié inférieure = G'_{st} .

Diversité génétique :

	N	A	%	Ar	Ho	He	HWE	Fis	Fis_Low	Fis_High
BELa1	8.38	35	70.23	3.66	0.54	0.67	0.1026	0.192	-0.0388	0.3881
BELa2	8.5	34	68.46	3.27	0.45	0.58	0.4137	0.2347	0.0325	0.4233
BELb1	6.88	31	64.25	3.31	0.53	0.57	0.5466	0.0667	-0.1918	0.2456
BELb2	8	37	74.32	3.65	0.66	0.59	0.6117	-0.1089	-0.3208	0.0609

Tableau : Paramètres de diversité génétique au sein des mares. N = nombre d'individus ; A = nombre d'allèles ; % = pourcentage d'allèles total observé ; Ar = richesse allélique ; Ho = hétérozygotie observée ; He = hétérozygotie attendue ; HWE = adéquation à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; Fis = coefficient de consanguinité ; Fis_Low = valeur inférieure de l'intervalle de confiance du Fis ; Fis_High = valeur supérieure de l'intervalle de confiance du Fis.

Annexe 10 : Analyse de CMM à l'échelle de la mare

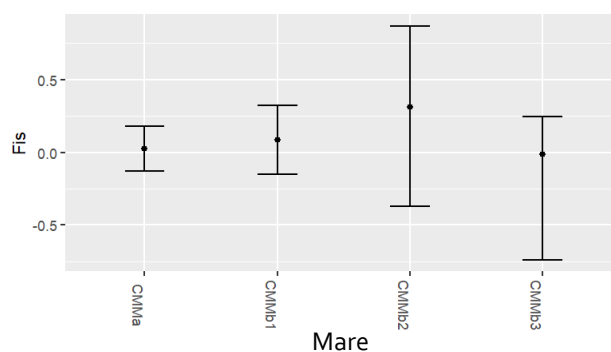
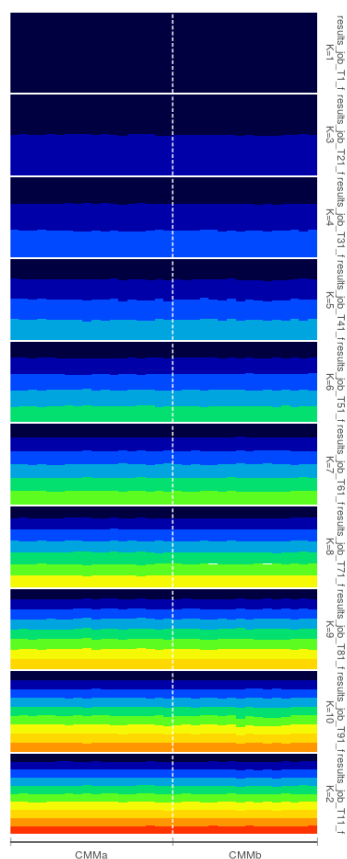


Figure : Graphique représentant les valeurs de Fis et leurs intervalles de confiance pour chaque mare.

Figure : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur les génotypes de tritons collectés au CMM, selon différents K.

Diversité génétique :

	N	A	%	Ar	Ho	He	HWE	Fis	Fis_Low	Fis_High
CMMa	16.62	33	83.85	2.53	0.56	0.58	0.7125	0.027	-0.1267	0.179
CMMb1	8.12	32	76.88	2.49	0.54	0.59	0.751	0.0877	-0.1362	0.3068
CMMb2	3.5	21	54.27	1.96	0.3	0.44	0.1384	0.3143	-0.3727	0.8665
CMMb3	3	22	55.52	2.37	0.54	0.53	0.5184	-0.013	-0.7434	0.2436

Tableau : Paramètres de diversité génétique au sein des mares. N = nombre d'individus ; A = nombre d'allèles ; % = pourcentage d'allèles total observé ; Ar = richesse allélique ; Ho = hétérozygotie observée ; He = hétérozygotie attendue ; HWE = adéquation à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; Fis = coefficient de consanguinité ; Fis_Low = valeur inférieure de l'intervalle de confiance du Fis ; Fis_High = valeur supérieure de l'intervalle de confiance du Fis.

Divergence génétique :

	CMMa	CMMb1	CMMb2	CMMb3
CMMa		0.0104	0.0823	0.0021
CMMb1	0.0894		0.0349	0
CMMb2	0.3212	0.1234		0.134
CMMb3	0.1053	0.139	0.5159	

Tableau : Valeurs de différenciation et flux de gènes entre mares. Moitié supérieure = D_{jost} ; moitié inférieure = G'_{st}.

Annexe 11 : Analyse de GQU à l'échelle de la mare

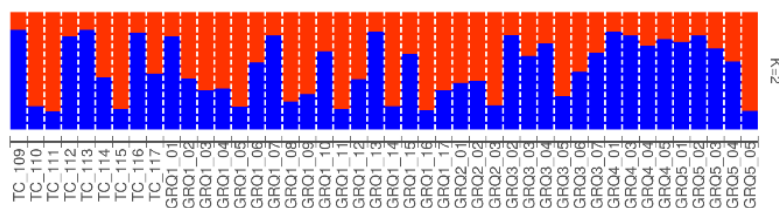


Figure : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur les génotypes de tritons collectés à GQU, K=2.

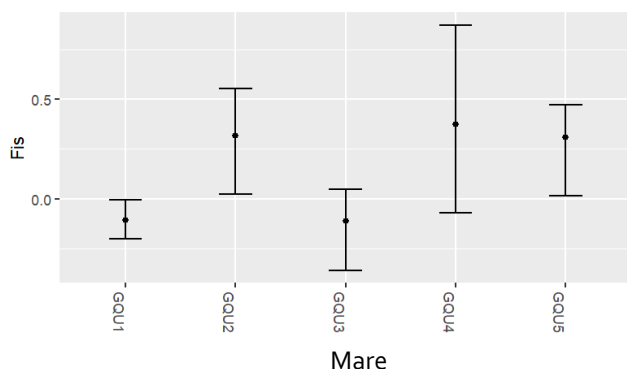


Figure : Graphique représentant les valeurs de Fis et leurs intervalles de confiance pour chaque mare.

Divergence génétique :

	GQU4	GQU1	GQU3	GQU5	GQU2
GQU4		0.0035	-0.0011	-2.00E-04	-0.0192
GQU1	0.0418		0.046	0.016	1.00E-04
GQU3	0.0132	0.1604		0.0037	-0.0034
GQU5	0.002	0.1137	0.1178		-4.00E-04
GQU2	-0.0611	0.017	-0.0174	-0.0074	

Tableau : Valeurs de différenciation et flux de gènes entre mares. Moitié supérieure = D_{jost} ; moitié inférieure = G'_{st}.

Diversité génétique :

	N	A	%	Ar	Ho	He	HWE	Fis	Fis_Low	Fis_High
GQU1	18.25	27	71.43	2.61	0.58	0.53	0.9968	-0.1059	-0.2093	-0.0126
GQU2	6.62	29	76.55	2.43	0.37	0.54	0.0776	0.3178	0.0417	0.5503
GQU3	5.38	27	74.23	2.7	0.65	0.58	0.5987	-0.1104	-0.3625	0.0574
GQU4	2.75	20	55.15	2.01	NaN	0.58	0.6044	0.3745	-0.0748	0.8713
GQU5	5	25	65.27	2.29	0.35	0.51	0.0065	0.3108	-0.0111	0.4733

Tableau : Paramètres de diversité génétique au sein des mares. N = nombre d'individus ; A = nombre d'allèles ; % = pourcentage d'allèles total observé ; Ar = richesse allélique ; Ho = hétérozygotie observée ; He = hétérozygotie attendue ; HWE = adéquation à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; Fis = coefficient de consanguinité ; Fis_Low = valeur inférieure de l'intervalle de confiance du Fis ; Fis_High = valeur supérieure de l'intervalle de confiance du Fis.

Annexe 12 : Analyse structure sur les données du Nord su sillon Sambre-Meuse

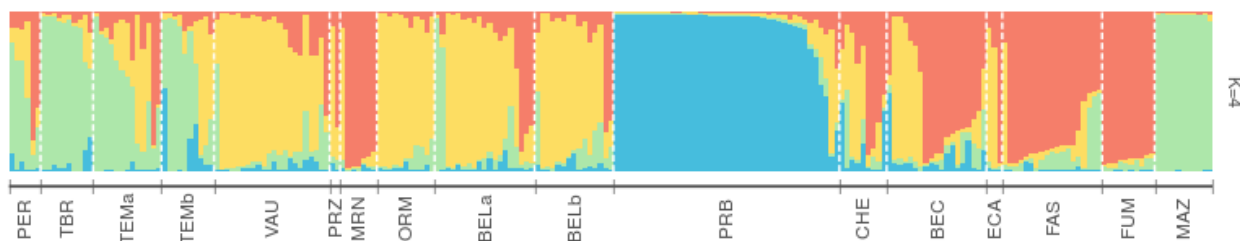


Figure : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur les génotypes de tritons collectés au nord du sillon Sambre-Meuse.

Annexe 13 : Analyse structure sur les données du Sud su sillon Sambre-Meuse

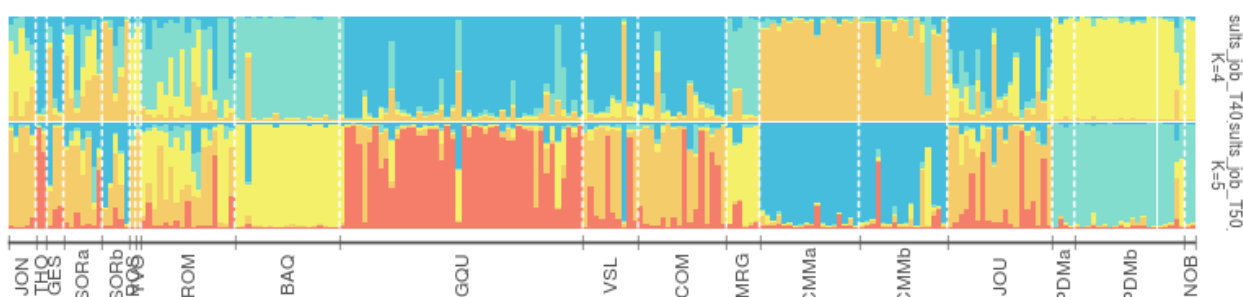


Figure : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur les génotypes de tritons collectés au sud du sillon Sambre-Meuse.

Annexe 14 : Analyse structure sur le Hainaut

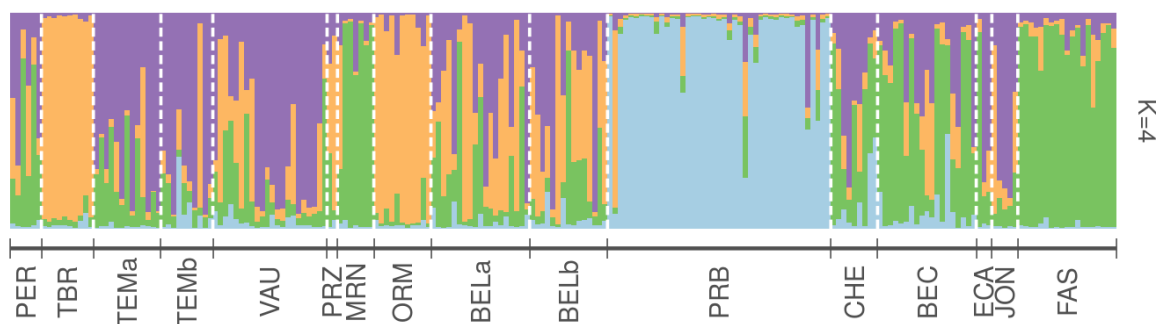


Figure : Résultats de l'analyse STRUCTURE sur les génotypes de tritons collectés dans le Hainaut.

Annexe 15 : Analyses structure sur les données du sillon Sambre-Meuse

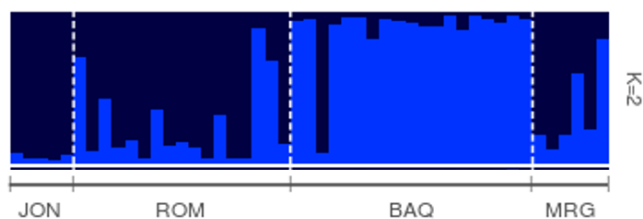


Figure : Résultats de l’analyse STRUCTURE sur les génotypes de tritons collectés dans les sites du sillon Sambre-Meuse.

Annexe 16 : Analyses structure sur les données de 2023 uniquement

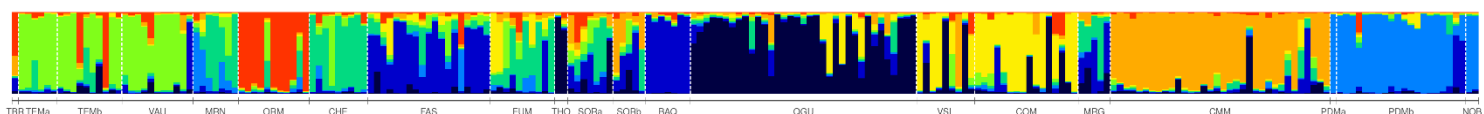


Figure : Résultats de l’analyse STRUCTURE sur l’ensemble des génotypes de tritons collectés en 2023.

Annexe 17 : Analyses structure sur les données de 2019 uniquement

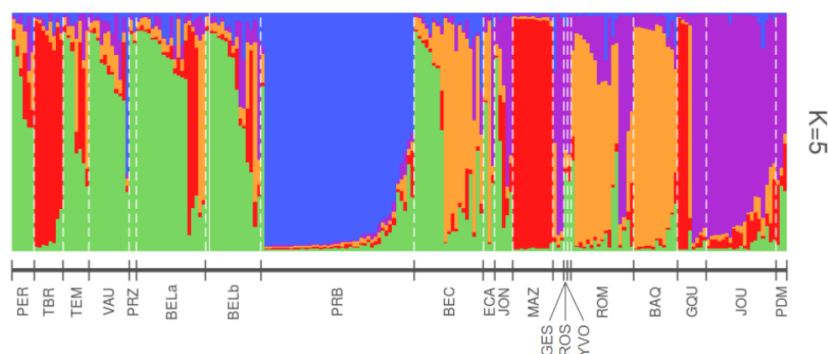


Figure : Résultats de l’analyse STRUCTURE sur l’ensemble des génotypes de tritons collectés en 2019.

Annexe 18 : Différenciation génétique et flux de gènes entre les clusters quand K=8

	VertC	VertF	BleuF	Jaune	Noir	Rouge	Orange	BleuC
VertC		0.1097	0.1314	0.1964	0.1984	0.1653	0.1938	0.2156
VertF	0.2972		0.1764	0.2698	0.4409	0.3943	0.1685	0.2644
BleuF	0.252	0.3268		0.2602	0.437	0.4266	0.2267	0.3097
Jaune	0.4425	0.4913	0.474		0.3544	0.2984	0.2456	0.5232
Noir	0.7027	0.7543	0.6487	0.7327		0.2153	0.4781	0.375
Rouge	0.6163	0.6204	0.5866	0.5791	0.5094		0.1768	0.3891
Orange	0.3967	0.4358	0.4278	0.4631	0.6969	0.4184		0.4752
BleuC	0.5592	0.4638	0.5008	0.6997	0.6296	0.6229	0.6966	

Tableau : Valeurs de différenciation génétique et flux génétique entre clusters. Moitié supérieure = D_{jost} ; moitié inférieure = G’_{st}.

G'st	BC_mean	BC_Lower_95%CI	BC_Upper_95%CI
VertC vs. VertF	0.2972	0.1129	0.4859
VertC vs. BleuF	0.252	0.1371	0.4797
VertC vs. Jaune	0.4425	0.3004	0.577
VertC vs. Noir	0.7027	0.619	0.849
VertC vs. Rouge	0.6163	0.5213	0.7431
VertC vs. Orange	0.3967	0.2471	0.5485
VertC vs. BleuC	0.5592	0.4516	0.6772
VertF vs. BleuF	0.3268	0.2439	0.4646
VertF vs. Jaune	0.4913	0.4192	0.581
VertF vs. Noir	0.7543	0.669	0.8291
VertF vs. Rouge	0.6204	0.527	0.7145
VertF vs. Orange	0.4358	0.3512	0.5296
VertF vs. BleuC	0.4638	0.3824	0.5562
BleuF vs. Jaune	0.474	0.4166	0.543
BleuF vs. Noir	0.6487	0.5972	0.7263
BleuF vs. Rouge	0.5866	0.5207	0.6556
BleuF vs. Orange	0.4278	0.3815	0.4836
BleuF vs. BleuC	0.5008	0.435	0.567
Jaune vs. Noir	0.7327	0.6715	0.7942
Jaune vs. Rouge	0.5791	0.4863	0.6734
Jaune vs. Orange	0.4631	0.3999	0.5366
Jaune vs. BleuC	0.6997	0.6154	0.7812
Noir vs. Rouge	0.5094	0.3909	0.6131
Noir vs. Orange	0.6969	0.6152	0.783
Noir vs. BleuC	0.6296	0.5559	0.7109
Rouge vs. Orange	0.4184	0.3321	0.5209
Rouge vs. BleuC	0.6229	0.53	0.7108
Orange vs. BleuC	0.6966	0.6283	0.7574

Tableau : Valeurs de flux de gènes entre les clusters. BC_mean = Moyenne ; BC_Lower_95%CI = intervalle de confiance inférieur ; BC_Upper_95%CI = intervalle de confiance supérieur.

Djost	BC_mean	BC_Lower_95%CI	BC_Upper_95%CI
VertC vs. VertF	0.1097	-0.038	0.2925
VertC vs. BleuF	0.1314	0.0696	0.2441
VertC vs. Jaune	0.1964	0.0667	0.3341
VertC vs. Noir	0.1984	-0.0096	0.5243
VertC vs. Rouge	0.1653	-0.0179	0.374
VertC vs. Orange	0.1938	0.0786	0.3653
VertC vs. BleuC	0.2156	0.059	0.4513
VertF vs. BleuF	0.1764	0.1062	0.3009

VertF vs. Jaune	0.2698	0.1804	0.3976
VertF vs. Noir	0.4409	0.2843	0.6053
VertF vs. Rouge	0.3943	0.2856	0.5265
VertF vs. Orange	0.1685	0.0984	0.2702
VertF vs. BleuC	0.2644	0.183	0.361
BleuF vs. Jaune	0.2602	0.201	0.325
BleuF vs. Noir	0.437	0.3586	0.5346
BleuF vs. Rouge	0.4266	0.3604	0.4979
BleuF vs. Orange	0.2267	0.1964	0.2715
BleuF vs. BleuC	0.3097	0.2491	0.372
Jaune vs. Noir	0.3544	0.2501	0.5052
Jaune vs. Rouge	0.2984	0.1958	0.4119
Jaune vs. Orange	0.2456	0.1665	0.339
Jaune vs. BleuC	0.5232	0.4193	0.6466
Noir vs. Rouge	0.2153	0.1258	0.3305
Noir vs. Orange	0.4781	0.3614	0.622
Noir vs. BleuC	0.375	0.2746	0.4911
Rouge vs. Orange	0.1768	0.1083	0.2727
Rouge vs. BleuC	0.3891	0.28	0.5061
Orange vs. BleuC	0.4752	0.3874	0.5649

Tableau : Valeurs de différenciation génétique entre les clusters. BC_mean = Moyenne ; BC_Lower_95%CI = intervalle de confiance inférieur ; BC_Upper_95%CI = intervalle de confiance supérieur.

Annexe 19 : Différenciation génétique et flux de gènes entre les sites

	TBR	TEMa	TEMb	VAU	ORM	BELa	BELb	PRB	BEC	FAS	FUM	MAZ	ROM	BAQ	GQU	VSL	COM	CMMa	CMMb	JOU	PDMb
TBR		0.1393	0.1665	0.1347	0.15	0.0996	0.0984	0.1843	0.1011	0.1022	0.1564	0.0949	0.2486	0.2645	0.1642	0.3514	0.4777	0.2048	0.1748	0.1525	0.4947
TEMa	0.3657		0.0016	0.0422	0.1846	0.0332	0.0439	0.1701	0.0459	0.1155	0.0509	0.0965	0.2326	0.2366	0.2182	0.2323	0.4044	0.2731	0.2096	0.0745	0.2714
TEMb	0.351	0.0377		0.0616	0.1741	0.0715	0.0553	0.1343	0.0697	0.123	0.1571	0.1498	0.2272	0.3317	0.2589	0.3226	0.4314	0.3169	0.2024	0.1293	0.31
VAU	0.354	0.1085	0.1917		0.1789	0.0073	0.004	0.1396	0.0729	0.0646	0.1037	0.2519	0.2183	0.2665	0.2712	0.223	0.3505	0.2057	0.1776	0.1191	0.184
ORM	0.3961	0.3394	0.362	0.2712		0.1137	0.0984	0.1494	0.1149	0.1734	0.2379	0.293	0.2144	0.2135	0.2852	0.1998	0.3653	0.1532	0.1451	0.13	0.2146
BELa	0.3027	0.0911	0.1808	0.0393	0.242		6.00E-04	0.136	0.0486	0.0958	0.0672	0.175	0.1729	0.2242	0.2531	0.218	0.3845	0.1774	0.1479	0.0805	0.1833
BELb	0.3084	0.113	0.1996	0.0396	0.2149	0.0103		0.0785	0.029	0.0556	0.0744	0.1338	0.1272	0.2031	0.1815	0.1483	0.3253	0.1658	0.1452	0.04	0.146
PRB	0.4476	0.3081	0.2691	0.2564	0.3207	0.2598	0.2083		0.0795	0.1354	0.2937	0.2684	0.2264	0.2196	0.2989	0.3205	0.349	0.2316	0.1676	0.2531	0.2382
BEC	0.2892	0.1732	0.186	0.1598	0.2567	0.1131	0.0805	0.1726		0.0687	0.1155	0.189	0.1009	0.1588	0.2458	0.3251	0.3991	0.2396	0.1611	0.1105	0.2849
FAS	0.3075	0.2057	0.2555	0.1673	0.3276	0.168	0.1461	0.2915	0.1491		0.1149	0.2132	0.0587	0.1328	0.1508	0.1388	0.253	0.1808	0.0919	0.1161	0.2122
FUM	0.4163	0.2243	0.3123	0.2692	0.4392	0.2014	0.2055	0.432	0.2464	0.269		0.1017	0.2251	0.3121	0.1206	0.2015	0.2797	0.2348	0.2657	0.013	0.2589
MAZ	0.3069	0.2085	0.2625	0.3645	0.5588	0.3063	0.2965	0.4968	0.3766	0.3383	0.3343		0.261	0.3144	0.1499	0.2886	0.432	0.2846	0.1866	0.0881	0.302
ROM	0.4268	0.35	0.3279	0.2981	0.3765	0.2899	0.224	0.3437	0.1817	0.1186	0.3503	0.3903		0.0674	0.1488	0.1	0.2272	0.116	0.0787	0.0998	0.2121
BAQ	0.4909	0.3926	0.4708	0.3981	0.4619	0.3658	0.3469	0.4022	0.2747	0.2418	0.5126	0.5519	0.154		0.2352	0.2691	0.4096	0.2209	0.1807	0.1229	0.4275
GQU	0.4358	0.3682	0.4432	0.4124	0.5191	0.3925	0.3484	0.512	0.3843	0.3345	0.328	0.3525	0.2733	0.427		0.0917	0.1058	0.1495	0.2081	0.0478	0.2837
VSL	0.6348	0.4754	0.5705	0.4559	0.5399	0.4793	0.4128	0.4712	0.4847	0.3637	0.4444	0.5934	0.2891	0.5073	0.2446		0.0451	0.1326	0.2189	0.0725	0.2584
COM	0.7099	0.5974	0.6122	0.5763	0.6468	0.5961	0.5253	0.5277	0.5435	0.4275	0.5067	0.6531	0.4249	0.6174	0.4077	0.2323		0.2754	0.2559	0.122	0.2514
CMMa	0.4691	0.4758	0.4761	0.4009	0.455	0.3961	0.4114	0.4298	0.4051	0.3733	0.4068	0.5465	0.2935	0.4326	0.299	0.3192	0.5129		0.0228	0.1539	0.3831
CMMb	0.356	0.3317	0.3059	0.2841	0.407	0.254	0.2773	0.3143	0.2571	0.2	0.328	0.3475	0.1873	0.3636	0.3236	0.403	0.4757	0.1034		0.1471	0.303
JOU	0.3422	0.1713	0.269	0.2141	0.2992	0.1633	0.1025	0.4098	0.2009	0.1726	0.0696	0.1932	0.1461	0.2698	0.1165	0.1463	0.296	0.2302	0.2018		0.1402
PDMb	0.6625	0.4739	0.5521	0.3978	0.4345	0.3945	0.3395	0.4122	0.4225	0.3815	0.4556	0.5929	0.3802	0.5878	0.5606	0.5545	0.4722	0.6574	0.5416	0.2777	

Tableau : Valeurs de différenciation et flux de gènes entre sites. Moitié supérieure = D_{jost} ; moitié inférieure = G'_{st} .

G'_{st}	BC_mean	BC_Lower_95%CI	BC_Upper_95%CI
TBR vs. TEMa	0.3657	0.2666	0.4752
TBR vs. TEMb	0.351	0.253	0.49
TBR vs. VAU	0.354	0.2542	0.4598
TBR vs. ORM	0.3961	0.2878	0.5131
TBR vs. BELa	0.3027	0.2123	0.4044
TBR vs. BELb	0.3084	0.2213	0.4069
TBR vs. PRB	0.4476	0.3657	0.535
TBR vs. BEC	0.2892	0.2022	0.3962
TBR vs. FAS	0.3075	0.2222	0.4021
TBR vs. FUM	0.4163	0.2586	0.5772
TBR vs. MAZ	0.3069	0.2217	0.4131
TBR vs. ROM	0.4268	0.3409	0.5184
TBR vs. BAQ	0.4909	0.4048	0.5754
TBR vs. GQU	0.4358	0.3573	0.5296
TBR vs. VSL	0.6348	0.5049	0.7624
TBR vs. COM	0.7099	0.5936	0.8098
TBR vs. CMMa	0.4691	0.3804	0.5594
TBR vs. CMMb	0.356	0.2607	0.4672
TBR vs. JOU	0.3422	0.2511	0.439
TBR vs. PDMb	0.6625	0.5492	0.7695
TEMa vs. TEMb	0.0377	-0.0904	0.221
TEMa vs. VAU	0.1085	0.0301	0.2228
TEMa vs. ORM	0.3394	0.1829	0.4992

TEMa vs. BELa	0.0911	0.0013	0.201
TEMa vs. BELb	0.113	0.0268	0.2213
TEMa vs. PRB	0.3081	0.2313	0.3974
TEMa vs. BEC	0.1732	0.094	0.2685
TEMa vs. FAS	0.2057	0.1244	0.3026
TEMa vs. FUM	0.2243	0.1172	0.3714
TEMa vs. MAZ	0.2085	0.0995	0.3696
TEMa vs. ROM	0.35	0.2548	0.4542
TEMa vs. BAQ	0.3926	0.3088	0.4878
TEMa vs. GQU	0.3682	0.2835	0.4817
TEMa vs. VSL	0.4754	0.279	0.6588
TEMa vs. COM	0.5974	0.473	0.7152
TEMa vs. CMMa	0.4758	0.3851	0.5743
TEMa vs. CMMb	0.3317	0.2245	0.4454
TEMa vs. JOU	0.1713	0.095	0.2627
TEMa vs. PDMb	0.4739	0.3803	0.584
TEMb vs. VAU	0.1917	0.0841	0.3514
TEMb vs. ORM	0.362	0.1796	0.5625
TEMb vs. BELa	0.1808	0.0438	0.355
TEMb vs. BELb	0.1996	0.0645	0.364
TEMb vs. PRB	0.2691	0.132	0.4715
TEMb vs. BEC	0.186	0.0439	0.3627
TEMb vs. FAS	0.2555	0.1673	0.375
TEMb vs. FUM	0.3123	0.1139	0.5206
TEMb vs. MAZ	0.2625	0.1344	0.4241
TEMb vs. ROM	0.3279	0.2026	0.4593
TEMb vs. BAQ	0.4708	0.3633	0.6046
TEMb vs. GQU	0.4432	0.2705	0.6239
TEMb vs. VSL	0.5705	0.3884	0.7122
TEMb vs. COM	0.6122	0.4946	0.7264
TEMb vs. CMMa	0.4761	0.3551	0.6168
TEMb vs. CMMb	0.3059	0.1909	0.439
TEMb vs. JOU	0.269	0.148	0.4207
TEMb vs. PDMb	0.5521	0.448	0.6652
VAU vs. ORM	0.2712	0.111	0.4243
VAU vs. BELa	0.0393	-0.0218	0.1242
VAU vs. BELb	0.0396	-0.0269	0.1289
VAU vs. PRB	0.2564	0.1877	0.3386
VAU vs. BEC	0.1598	0.0724	0.2651
VAU vs. FAS	0.1673	0.0864	0.2649
VAU vs. FUM	0.2692	0.1569	0.4008
VAU vs. MAZ	0.3645	0.2643	0.4726
VAU vs. ROM	0.2981	0.1982	0.4164
VAU vs. BAQ	0.3981	0.3	0.4968
VAU vs. GQU	0.4124	0.3339	0.4985
VAU vs. VSL	0.4559	0.3079	0.5996

VAU vs. COM	0.5763	0.4649	0.6782
VAU vs. CMMa	0.4009	0.3097	0.4955
VAU vs. CMMb	0.2841	0.1957	0.3904
VAU vs. JOU	0.2141	0.1444	0.2953
VAU vs. PDMb	0.3978	0.3119	0.4862
ORM vs. BELa	0.242	0.104	0.3853
ORM vs. BELb	0.2149	0.0638	0.3848
ORM vs. PRB	0.3207	0.2459	0.4074
ORM vs. BEC	0.2567	0.1632	0.3586
ORM vs. FAS	0.3276	0.209	0.4485
ORM vs. FUM	0.4392	0.2617	0.6087
ORM vs. MAZ	0.5588	0.3411	0.7597
ORM vs. ROM	0.3765	0.2579	0.5018
ORM vs. BAQ	0.4619	0.381	0.5407
ORM vs. GQU	0.5191	0.4145	0.6202
ORM vs. VSL	0.5399	0.3852	0.7156
ORM vs. COM	0.6468	0.5402	0.7594
ORM vs. CMMa	0.455	0.3587	0.5485
ORM vs. CMMb	0.407	0.2766	0.5156
ORM vs. JOU	0.2992	0.18	0.4288
ORM vs. PDMb	0.4345	0.3224	0.5494
BELa vs. BELb	0.0103	-0.059	0.0994
BELa vs. PRB	0.2598	0.1896	0.329
BELa vs. BEC	0.1131	0.0411	0.2088
BELa vs. FAS	0.168	0.0877	0.2639
BELa vs. FUM	0.2014	0.0799	0.3529
BELa vs. MAZ	0.3063	0.211	0.4231
BELa vs. ROM	0.2899	0.1858	0.3981
BELa vs. BAQ	0.3658	0.2669	0.4742
BELa vs. GQU	0.3925	0.3028	0.4878
BELa vs. VSL	0.4793	0.3212	0.6421
BELa vs. COM	0.5961	0.4829	0.7027
BELa vs. CMMa	0.3961	0.3127	0.4899
BELa vs. CMMb	0.254	0.1582	0.3679
BELa vs. JOU	0.1633	0.0956	0.2519
BELa vs. PDMb	0.3945	0.2906	0.5013
BELb vs. PRB	0.2083	0.1512	0.2665
BELb vs. BEC	0.0805	0.0123	0.1656
BELb vs. FAS	0.1461	0.0686	0.2391
BELb vs. FUM	0.2055	0.0793	0.3445
BELb vs. MAZ	0.2965	0.1985	0.4199
BELb vs. ROM	0.224	0.1269	0.3254
BELb vs. BAQ	0.3469	0.2638	0.4355
BELb vs. GQU	0.3484	0.284	0.4226
BELb vs. VSL	0.4128	0.2736	0.5676
BELb vs. COM	0.5253	0.4019	0.6391

BELb vs. CMMa	0.4114	0.3353	0.4892
BELb vs. CMMb	0.2773	0.1892	0.3784
BELb vs. JOU	0.1025	0.0383	0.1763
BELb vs. PDMb	0.3395	0.2491	0.4313
PRB vs. BEC	0.1726	0.1218	0.2301
PRB vs. FAS	0.2915	0.2488	0.3405
PRB vs. FUM	0.432	0.3265	0.5398
PRB vs. MAZ	0.4968	0.4313	0.5767
PRB vs. ROM	0.3437	0.2785	0.4175
PRB vs. BAQ	0.4022	0.3318	0.4768
PRB vs. GQU	0.512	0.4585	0.5654
PRB vs. VSL	0.4712	0.3462	0.5824
PRB vs. COM	0.5277	0.4434	0.6216
PRB vs. CMMa	0.4298	0.3643	0.4971
PRB vs. CMMb	0.3143	0.253	0.3866
PRB vs. JOU	0.4098	0.3482	0.474
PRB vs. PDMb	0.4122	0.3482	0.4841
BEC vs. FAS	0.1491	0.0784	0.233
BEC vs. FUM	0.2464	0.1059	0.4145
BEC vs. MAZ	0.3766	0.2704	0.4961
BEC vs. ROM	0.1817	0.0929	0.2834
BEC vs. BAQ	0.2747	0.1797	0.3806
BEC vs. GQU	0.3843	0.2907	0.4878
BEC vs. VSL	0.4847	0.3421	0.6177
BEC vs. COM	0.5435	0.4359	0.6553
BEC vs. CMMa	0.4051	0.3158	0.5046
BEC vs. CMMb	0.2571	0.1545	0.3605
BEC vs. JOU	0.2009	0.1319	0.284
BEC vs. PDMb	0.4225	0.3174	0.5438
FAS vs. FUM	0.269	0.1226	0.4291
FAS vs. MAZ	0.3383	0.2392	0.4518
FAS vs. ROM	0.1186	0.0379	0.2115
FAS vs. BAQ	0.2418	0.1581	0.3378
FAS vs. GQU	0.3345	0.261	0.4154
FAS vs. VSL	0.3637	0.2275	0.51
FAS vs. COM	0.4275	0.3117	0.5498
FAS vs. CMMa	0.3733	0.2818	0.469
FAS vs. CMMb	0.2	0.0982	0.311
FAS vs. JOU	0.1726	0.0963	0.2642
FAS vs. PDMb	0.3815	0.2722	0.496
FUM vs. MAZ	0.3343	0.2256	0.4942
FUM vs. ROM	0.3503	0.2	0.5095
FUM vs. BAQ	0.5126	0.3719	0.6544
FUM vs. GQU	0.328	0.2289	0.4627
FUM vs. VSL	0.4444	0.2676	0.611
FUM vs. COM	0.5067	0.3772	0.6356

FUM vs. CMMa	0.4068	0.2849	0.5488
FUM vs. CMMb	0.328	0.196	0.4876
FUM vs. JOU	0.0696	-0.0146	0.1933
FUM vs. PDMb	0.4556	0.3348	0.5813
MAZ vs. ROM	0.3903	0.2582	0.5296
MAZ vs. BAQ	0.5519	0.3946	0.6889
MAZ vs. GQU	0.3525	0.2191	0.464
MAZ vs. VSL	0.5934	0.3839	0.786
MAZ vs. COM	0.6531	0.486	0.7797
MAZ vs. CMMa	0.5465	0.3652	0.6928
MAZ vs. CMMb	0.3475	0.2371	0.462
MAZ vs. JOU	0.1932	0.1236	0.2821
MAZ vs. PDMb	0.5929	0.4126	0.7352
ROM vs. BAQ	0.154	0.0677	0.2665
ROM vs. GQU	0.2733	0.1889	0.3614
ROM vs. VSL	0.2891	0.1586	0.4368
ROM vs. COM	0.4249	0.3013	0.5573
ROM vs. CMMa	0.2935	0.2212	0.3882
ROM vs. CMMb	0.1873	0.093	0.2952
ROM vs. JOU	0.1461	0.0719	0.2349
ROM vs. PDMb	0.3802	0.2531	0.5167
BAQ vs. GQU	0.427	0.3454	0.5124
BAQ vs. VSL	0.5073	0.3614	0.6462
BAQ vs. COM	0.6174	0.517	0.7099
BAQ vs. CMMa	0.4326	0.3652	0.5039
BAQ vs. CMMb	0.3636	0.2603	0.4755
BAQ vs. JOU	0.2698	0.1972	0.3536
BAQ vs. PDMb	0.5878	0.471	0.6935
GQU vs. VSL	0.2446	0.109	0.4501
GQU vs. COM	0.4077	0.3367	0.5094
GQU vs. CMMa	0.299	0.2276	0.3934
GQU vs. CMMb	0.3236	0.212	0.4581
GQU vs. JOU	0.1165	0.0569	0.1875
GQU vs. PDMb	0.5606	0.4851	0.6357
VSL vs. COM	0.2323	0.0773	0.3948
VSL vs. CMMa	0.3192	0.2049	0.4894
VSL vs. CMMb	0.403	0.2771	0.5412
VSL vs. JOU	0.1463	0.005	0.3208
VSL vs. PDMb	0.5545	0.3821	0.6679
COM vs. CMMa	0.5129	0.4144	0.6278
COM vs. CMMb	0.4757	0.3491	0.6153
COM vs. JOU	0.296	0.2217	0.3765
COM vs. PDMb	0.4722	0.3549	0.5928
CMMa vs. CMMb	0.1034	0.0126	0.2353
CMMa vs. JOU	0.2302	0.1599	0.3118
CMMa vs. PDMb	0.6574	0.574	0.7293

CMMb vs. JOU	0.2018	0.1219	0.3047
CMMb vs. PDMb	0.5416	0.4495	0.6325
JOU vs. PDMb	0.2777	0.2171	0.3568

Tableau : Valeurs de flux de gènes entre les sites. BC_mean = Moyenne ; BC_Lower_95%CI = intervalle de confiance inférieur ; BC_Upper_95%CI = intervalle de confiance supérieur.

Djost	BC_mean	BC_Lower_95%CI	BC_Upper_95%CI
TBR vs. TEMa	0.1393	0.0555	0.2667
TBR vs. TEMb	0.1665	0.0874	0.3017
TBR vs. VAU	0.1347	0.0565	0.2353
TBR vs. ORM	0.15	0.0978	0.2097
TBR vs. BELa	0.0996	0.0363	0.1944
TBR vs. BELb	0.0984	0.0407	0.1771
TBR vs. PRB	0.1843	0.1392	0.2386
TBR vs. BEC	0.1011	0.0416	0.184
TBR vs. FAS	0.1022	0.0439	0.1761
TBR vs. FUM	0.1564	0.0279	0.3206
TBR vs. MAZ	0.0949	0.0477	0.1547
TBR vs. ROM	0.2486	0.1705	0.3236
TBR vs. BAQ	0.2645	0.1975	0.3276
TBR vs. GQU	0.1642	0.1042	0.2398
TBR vs. VSL	0.3514	0.2221	0.4978
TBR vs. COM	0.4777	0.3534	0.6166
TBR vs. CMMa	0.2048	0.1298	0.2993
TBR vs. CMMb	0.1748	0.0884	0.2779
TBR vs. JOU	0.1525	0.092	0.2285
TBR vs. PDMb	0.4947	0.34	0.6362
TEMa vs. TEMb	0.0016	-0.061	0.1283
TEMa vs. VAU	0.0422	-0.0141	0.129
TEMa vs. ORM	0.1846	0.0767	0.3122
TEMa vs. BELa	0.0332	-0.0277	0.1247
TEMa vs. BELb	0.0439	-0.0155	0.1371
TEMa vs. PRB	0.1701	0.1136	0.2362
TEMa vs. BEC	0.0459	-0.0125	0.124
TEMa vs. FAS	0.1155	0.0487	0.2
TEMa vs. FUM	0.0509	-0.041	0.1885
TEMa vs. MAZ	0.0965	0.0176	0.2162
TEMa vs. ROM	0.2326	0.144	0.34
TEMa vs. BAQ	0.2366	0.1523	0.3273
TEMa vs. GQU	0.2182	0.1389	0.33
TEMa vs. VSL	0.2323	0.0753	0.3927
TEMa vs. COM	0.4044	0.2683	0.5493
TEMa vs. CMMa	0.2731	0.1826	0.383
TEMa vs. CMMb	0.2096	0.1188	0.3181
TEMa vs. JOU	0.0745	0.0148	0.1602
TEMa vs. PDMb	0.2714	0.1667	0.4021

TEMb vs. VAU	0.0616	-0.0251	0.1926
TEMb vs. ORM	0.1741	0.0386	0.3607
TEMb vs. BELa	0.0715	-0.0253	0.1994
TEMb vs. BELb	0.0553	-0.0412	0.2008
TEMb vs. PRB	0.1343	0.0269	0.3257
TEMb vs. BEC	0.0697	-0.0392	0.2404
TEMb vs. FAS	0.123	0.0422	0.2507
TEMb vs. FUM	0.1571	-0.0088	0.3742
TEMb vs. MAZ	0.1498	0.0468	0.2736
TEMb vs. ROM	0.2272	0.1061	0.3542
TEMb vs. BAQ	0.3317	0.2316	0.4675
TEMb vs. GQU	0.2589	0.1446	0.4208
TEMb vs. VSL	0.3226	0.1403	0.4998
TEMb vs. COM	0.4314	0.295	0.5811
TEMb vs. CMMa	0.3169	0.2099	0.4413
TEMb vs. CMMb	0.2024	0.1115	0.335
TEMb vs. JOU	0.1293	0.0355	0.2593
TEMb vs. PDMb	0.31	0.1874	0.4593
VAU vs. ORM	0.1789	0.0715	0.2951
VAU vs. BELa	0.0073	-0.0342	0.0718
VAU vs. BELb	0.004	-0.0306	0.0655
VAU vs. PRB	0.1396	0.0878	0.2015
VAU vs. BEC	0.0729	0.0072	0.1597
VAU vs. FAS	0.0646	0.0108	0.1364
VAU vs. FUM	0.1037	0.0108	0.2307
VAU vs. MAZ	0.2519	0.1625	0.3578
VAU vs. ROM	0.2183	0.1264	0.3331
VAU vs. BAQ	0.2665	0.1687	0.3619
VAU vs. GQU	0.2712	0.1894	0.3607
VAU vs. VSL	0.223	0.0981	0.3566
VAU vs. COM	0.3505	0.2152	0.4948
VAU vs. CMMa	0.2057	0.1293	0.2941
VAU vs. CMMb	0.1776	0.0861	0.2808
VAU vs. JOU	0.1191	0.0572	0.1964
VAU vs. PDMb	0.184	0.0948	0.2853
ORM vs. BELa	0.1137	0.0321	0.2279
ORM vs. BELb	0.0984	0.0139	0.2122
ORM vs. PRB	0.1494	0.0972	0.2174
ORM vs. BEC	0.1149	0.0565	0.1852
ORM vs. FAS	0.1734	0.0919	0.2796
ORM vs. FUM	0.2379	0.0884	0.4023
ORM vs. MAZ	0.293	0.1616	0.4529
ORM vs. ROM	0.2144	0.1166	0.3344
ORM vs. BAQ	0.2135	0.1617	0.2887
ORM vs. GQU	0.2852	0.2108	0.3822
ORM vs. VSL	0.1998	0.075	0.3974

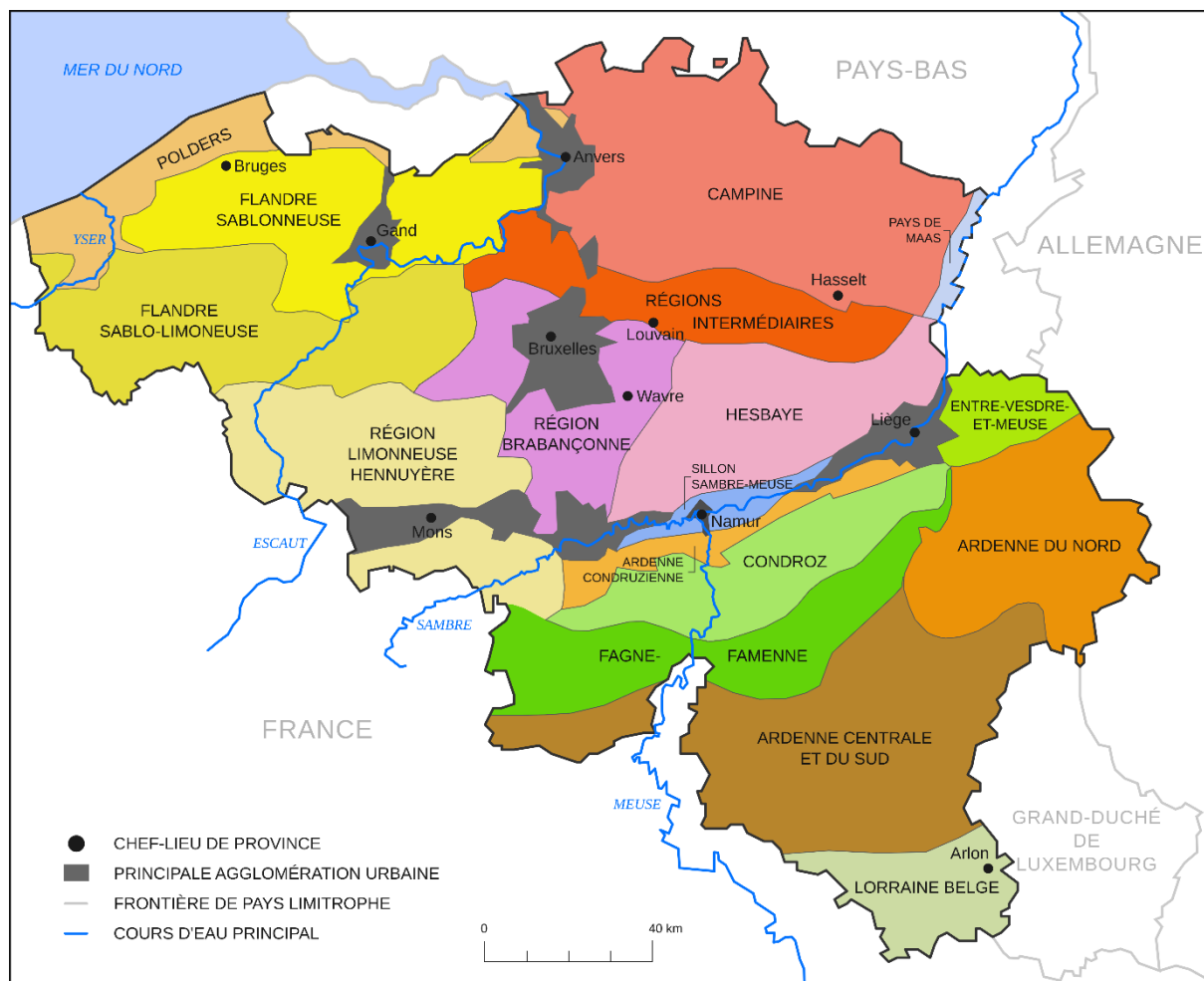
ORM vs. COM	0.3653	0.2307	0.5035
ORM vs. CMMa	0.1532	0.0903	0.234
ORM vs. CMMb	0.1451	0.0805	0.2193
ORM vs. JOU	0.13	0.0481	0.2283
ORM vs. PDMb	0.2146	0.0998	0.343
BELa vs. BELb	6.00E-04	-0.0298	0.0528
BELa vs. PRB	0.136	0.0849	0.1969
BELa vs. BEC	0.0486	-0.002	0.126
BELa vs. FAS	0.0958	0.0418	0.1758
BELa vs. FUM	0.0672	-0.0263	0.2027
BELa vs. MAZ	0.175	0.1081	0.2672
BELa vs. ROM	0.1729	0.0963	0.268
BELa vs. BAQ	0.2242	0.1444	0.315
BELa vs. GQU	0.2531	0.1653	0.3585
BELa vs. VSL	0.218	0.0675	0.3951
BELa vs. COM	0.3845	0.2528	0.525
BELa vs. CMMa	0.1774	0.1059	0.2769
BELa vs. CMMb	0.1479	0.0731	0.2483
BELa vs. JOU	0.0805	0.0276	0.1577
BELa vs. PDMb	0.1833	0.0941	0.2844
BELb vs. PRB	0.0785	0.0437	0.1194
BELb vs. BEC	0.029	-0.0174	0.0908
BELb vs. FAS	0.0556	0.0138	0.1152
BELb vs. FUM	0.0744	-0.0148	0.1828
BELb vs. MAZ	0.1338	0.0654	0.2276
BELb vs. ROM	0.1272	0.0499	0.2163
BELb vs. BAQ	0.2031	0.1356	0.2786
BELb vs. GQU	0.1815	0.1216	0.2541
BELb vs. VSL	0.1483	0.0373	0.2892
BELb vs. COM	0.3253	0.2038	0.4591
BELb vs. CMMa	0.1658	0.1118	0.2305
BELb vs. CMMb	0.1452	0.0745	0.2354
BELb vs. JOU	0.04	-1.00E-04	0.0912
BELb vs. PDMb	0.146	0.0658	0.239
PRB vs. BEC	0.0795	0.0546	0.1094
PRB vs. FAS	0.1354	0.1023	0.1754
PRB vs. FUM	0.2937	0.2097	0.369
PRB vs. MAZ	0.2684	0.2038	0.3473
PRB vs. ROM	0.2264	0.1662	0.2916
PRB vs. BAQ	0.2196	0.1633	0.2824
PRB vs. GQU	0.2989	0.2362	0.3626
PRB vs. VSL	0.3205	0.1869	0.4267
PRB vs. COM	0.349	0.2635	0.4345
PRB vs. CMMa	0.2316	0.191	0.2816
PRB vs. CMMb	0.1676	0.1261	0.2195
PRB vs. JOU	0.2531	0.1802	0.3244

PRB vs. PDMb	0.2382	0.1729	0.3113
BEC vs. FAS	0.0687	0.021	0.1294
BEC vs. FUM	0.1155	0.0158	0.2378
BEC vs. MAZ	0.189	0.111	0.2892
BEC vs. ROM	0.1009	0.0334	0.1841
BEC vs. BAQ	0.1588	0.0911	0.2405
BEC vs. GQU	0.2458	0.1644	0.3437
BEC vs. VSL	0.3251	0.1888	0.4526
BEC vs. COM	0.3991	0.2696	0.5376
BEC vs. CMMa	0.2396	0.1719	0.3239
BEC vs. CMMb	0.1611	0.0815	0.2468
BEC vs. JOU	0.1105	0.0561	0.1785
BEC vs. PDMb	0.2849	0.1756	0.4065
FAS vs. FUM	0.1149	0.0108	0.2505
FAS vs. MAZ	0.2132	0.1352	0.3159
FAS vs. ROM	0.0587	-0.0013	0.1373
FAS vs. BAQ	0.1328	0.068	0.2111
FAS vs. GQU	0.1508	0.0791	0.2438
FAS vs. VSL	0.1388	0.0124	0.3082
FAS vs. COM	0.253	0.1461	0.3689
FAS vs. CMMa	0.1808	0.1119	0.2577
FAS vs. CMMb	0.0919	0.0199	0.1878
FAS vs. JOU	0.1161	0.0492	0.1871
FAS vs. PDMb	0.2122	0.1025	0.3414
FUM vs. MAZ	0.1017	0.0169	0.2369
FUM vs. ROM	0.2251	0.0987	0.3681
FUM vs. BAQ	0.3121	0.2005	0.4657
FUM vs. GQU	0.1206	0.0549	0.2164
FUM vs. VSL	0.2015	0.046	0.3846
FUM vs. COM	0.2797	0.153	0.4211
FUM vs. CMMa	0.2348	0.1345	0.3601
FUM vs. CMMb	0.2657	0.1379	0.4117
FUM vs. JOU	0.013	-0.0307	0.0862
FUM vs. PDMb	0.2589	0.1619	0.3811
MAZ vs. ROM	0.261	0.161	0.3707
MAZ vs. BAQ	0.3144	0.1996	0.4304
MAZ vs. GQU	0.1499	0.0892	0.2257
MAZ vs. VSL	0.2886	0.1678	0.4345
MAZ vs. COM	0.432	0.2941	0.5658
MAZ vs. CMMa	0.2846	0.155	0.4074
MAZ vs. CMMb	0.1866	0.1009	0.2862
MAZ vs. JOU	0.0881	0.0339	0.1587
MAZ vs. PDMb	0.302	0.1844	0.421
ROM vs. BAQ	0.0674	0.0089	0.1489
ROM vs. GQU	0.1488	0.0831	0.2235
ROM vs. VSL	0.1	-0.0166	0.2286

ROM vs. COM	0.2272	0.1129	0.3682
ROM vs. CMMa	0.116	0.0487	0.2036
ROM vs. CMMb	0.0787	0.0092	0.1778
ROM vs. JOU	0.0998	0.0384	0.1801
ROM vs. PDMb	0.2121	0.1056	0.3409
BAQ vs. GQU	0.2352	0.155	0.3368
BAQ vs. VSL	0.2691	0.1083	0.4079
BAQ vs. COM	0.4096	0.31	0.5293
BAQ vs. CMMa	0.2209	0.1567	0.2929
BAQ vs. CMMb	0.1807	0.0995	0.2881
BAQ vs. JOU	0.1229	0.0779	0.1781
BAQ vs. PDMb	0.4275	0.2906	0.5582
GQU vs. VSL	0.0917	0.0208	0.19
GQU vs. COM	0.1058	0.0449	0.1991
GQU vs. CMMa	0.1495	0.0832	0.2459
GQU vs. CMMb	0.2081	0.1139	0.314
GQU vs. JOU	0.0478	0.0071	0.1067
GQU vs. PDMb	0.2837	0.1921	0.3926
VSL vs. COM	0.0451	-0.0268	0.1603
VSL vs. CMMa	0.1326	0.0424	0.2341
VSL vs. CMMb	0.2189	0.1082	0.3432
VSL vs. JOU	0.0725	-0.0099	0.1688
VSL vs. PDMb	0.2584	0.1266	0.3856
COM vs. CMMa	0.2754	0.1697	0.4215
COM vs. CMMb	0.2559	0.1534	0.4139
COM vs. JOU	0.122	0.0637	0.2005
COM vs. PDMb	0.2514	0.1306	0.3861
CMMa vs. CMMb	0.0228	-0.0175	0.0861
CMMa vs. JOU	0.1539	0.0869	0.2386
CMMa vs. PDMb	0.3831	0.2814	0.488
CMMb vs. JOU	0.1471	0.0802	0.232
CMMb vs. PDMb	0.303	0.1998	0.4267
JOU vs. PDMb	0.1402	0.0791	0.2261

Tableau : Valeurs de différenciation génétique entre les sites. BC_mean = Moyenne ; BC_Lower_95%CI = intervalle de confiance inférieur ; BC_Upper_95%CI = intervalle de confiance supérieur.

Annexe 20 : Régions naturelles de Belgique (« Régions naturelles de Belgique », 2023)



Annexe 21 : Facteurs à prendre en compte lors de la création et de l'entretien d'une mare

Inspiré par (Baker et al., 2011; Halford, 2022; Langton et al., 2001; SPW Territoire, Logement, Patrimoine, Énergie., 2022).

Facteur à vérifier	Restauration	Construction
<i>Conservation d'autres espèces</i>	Prendre en considération toute la faune et flore présente	Vérifier la faune et flore à excaver
<i>Autorisations</i>	Permis d'urbanisme rare	Permis d'urbanisme
<i>Choix du site</i>	Fixé	Le plus approprié
<i>Qualité de l'eau</i>	À conserver/optimiser	À évaluer
<i>Approvisionnement en eau</i>	Habituellement existant et adéquat	Nécessite une enquête minutieuse pour assurer l'approvisionnement
<i>Perméabilité du sol</i>	Généralement imperméable	Nécessite une étude/doublure si sol imperméable
<i>Excavation</i>	Le limon peut être éliminé dans de la terre végétale contrôlée	Le sol et le sous-sol peut nécessiter un aménagement paysager
<i>Pollution</i>	Certains limons et débris peuvent avoir besoin d'être retirés	Vérifier la gestion et l'assainissement des sols
<i>Forme et taille</i>	Habituellement défini. Peut être modifié	Forme et taille à déterminer
<i>Période de travail</i>	Effectuée de préférence en automne/début de l'hiver	À tout moment de l'année
<i>Accès au public</i>	Fixé	À minimiser
<i>Populations de tritons crêtés avoisinantes</i>	Évaluation	Évaluation : à favoriser
<i>Inondabilité</i>	À minimiser	À minimiser
<i>Connexions/distances avec d'autres mares</i>	Fixé	À favoriser
<i>Fonctionnalités de la mare</i>	Fixé/à (ré)évaluer	À évaluer
<i>Obstacles à la dispersion</i>	À minimiser	À minimiser