
Evaluation du succès de la mise en oeuvre des mares pionnières et des méthodes de quantification de l'effectif du crapaud calamite dans trois sites carriers participant au projet "LIFE in Quarries"

Auteur : Glaude, Elise

Promoteur(s) : Mahy, Grégory; Monty, Arnaud

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : gestion des forêts et des espaces naturels, à finalité spécialisée

Année académique : 2017-2018

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/5143>

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.

ÉVALUATION DU SUCCÈS DE LA MISE EN ŒUVRE DES MARES
PIONNIÈRES ET DES MÉTHODES DE QUANTIFICATION DE L’EFFECTIF
DU CRAPAUD CALAMITE DANS TROIS SITES CARRIERS PARTICIPANT
AU PROJET « LIFE IN QUARRIES ».

ELISE GLAUDE

**TRAVAIL DE FIN D’ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L’OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN GESTION DES FORÊTS ET DES ESPACES NATURELS**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2017-2018.

(CO)-PROMOTEUR(S): Pr Grégory MAHY et Dr. Arnaud MONTY

© Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech.

Le présent document n'engage que son auteur.

ÉVALUATION DU SUCCÈS DE LA MISE EN ŒUVRE DES MARES
PIONNIÈRES ET DES MÉTHODES DE QUANTIFICATION DE L’EFFECTIF
DU CRAPAUD CALAMITE DANS TROIS SITES CARRIERS PARTICIPANT
AU PROJET « LIFE IN QUARRIES ».

ELISE GLAUDE

**TRAVAIL DE FIN D’ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L’OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN GESTION DES FORÊTS ET DES ESPACES NATURELS**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2017-2018.

(CO)-PROMOTEUR(S): Pr Grégory MAHY et Dr. Arnaud MONTY

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier l'ensemble des professeurs, assistants, techniciens et employés de la Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech qui m'ont encadrée tout au long de mes études. Je remercie particulièrement mes co-promoteurs, Pr. Grégory Mahy et Dr. Arnaud Monty, pour leur encadrement, leurs conseils et leur présence du début à la fin de ce travail de fin d'études.

Je remercie les différents acteurs du projet *Life in Quarries* qui m'ont permis, de près ou de loin, de réaliser ce travail. Je tiens à remercier tout particulièrement Mr. Maxime Séleck pour ses conseils, son aide et sa disponibilité tout au long de ce travail. Merci à Mlle Kathleen Mercken pour ses nombreux coups de main sur le terrain et son soutien au cours de ces longs mois. Je remercie vivement Mr Christophe Heymans de la carrière de Bierghes ; Mr. Rémi Marchal, Mr Loïc Perros et Mr Fabian Castermant de la carrière du Clypot ; Mr et Mme Lannoy et Mme Marie-Madeleine Gigi de la sablière Lannoy ; ainsi que tout le personnel des carrières qui a pu m'aider ; pour l'opportunité qu'ils m'ont offerte en m'accueillant dans leur site, à toute heure du jour et de la nuit. Merci pour votre encadrement, votre motivation et votre aide sur le terrain !

Je remercie Thierry Kinet (Aves/Natagora), Aurélien Besnard (docteur en biologie au CEFÉ/CNRS de Montpellier) et Christophe Eggert (directeur de la société herpétologique de France) pour leurs conseils éclairés.

Ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide de nombreuses personnes, famille, amis – TFistes ou non - pour l'accompagnement sur le terrain, la logistique, la relecture, leur soutien et leurs encouragements, et bien plus encore : Annie Badot, Tom Baudoux, Carine Bonnet, Marine Bonnet, Stéphane Broset, Luca Covone, Dominique Déléhouzé, Dylan Delvaux, Pauline Dupret, Gauthier Deschamps, Benoît Glaude, Céline Glaude, Manon Jadin, Audrey Labonté, Elisabeth Mailleux, Sophie Meeûs, Julie Reniers, Claire Roelandt, Sophie Serusier, Hélène Sosnowski. Un énorme merci supplémentaire à mes parents et ma grande sœur, pour leur présence et leur soutien depuis le début de mes études ainsi que pour l'aide qu'ils m'ont apportée tout au long de ce long parcours semé d'embûches !

Je souhaite enfin remercier toutes les personnes que j'aurais pu oublier et qui m'ont aidée dans la réalisation de ce mémoire.

Résumé

Alors que les carrières actives sont souvent perçues comme des milieux hostiles à toute forme de vie, elles recèlent en réalité des habitats et des espèces tout à fait exceptionnels. L'activité extractive constitue une source de perturbations importantes, modifiant profondément le paysage et créant des milieux devenus rares à l'échelle du territoire, qui pourront être colonisés par une faune et une flore particulière. Le projet *Life in Quarries* a pour but de promouvoir la biodiversité au sein des carrières, en identifiant et en diffusant des actions pertinentes et efficaces en faveur de celle-ci. Ce projet entreprend de fournir aux carriers les outils nécessaires pour gérer la biodiversité présente sur leur site de façon responsable et autonome. Il démontre ainsi que la biodiversité en carrière peut constituer un cas concret de développement durable. Le crapaud calamite (*Epidalea calamita* (Laurenti, 1768)) représente un exemple d'espèce menacée en Wallonie qui profite de la création, lors de l'exploitation des carrières, de milieux pionniers indispensables à son développement. L'objectif de ce travail de fin d'études est de caractériser les mares pionnières de trois carrières wallonnes fréquentées par cette espèce afin d'identifier les paramètres déterminants pour le creusement des mares et d'évaluer les méthodes de dénombrement proposées aux carriers dans le cadre du suivi des actions favorables au crapaud calamite. Il critique enfin la faisabilité d'une étude de capture-marquage-recapture et de l'applicabilité de la photo-identification au crapaud calamite.

Mots-clés : Crapaud calamite, Mares pionnières, *Life in Quarries*, Capture-Marquage-Recapture

Abstract

Whereas active quarries are often looked upon as harsh environment for any form of life, in truth they hold some utterly remarkable habitats and species. The mining activity causes substantial disturbances that deeply alter the landscape and create habitats that have become rare throughout the territory which in turn could be colonized by a specific fauna and flora. The *Life in Quarries* project identifies and publicizes relevant and effective actions to promote biodiversity within the quarries. This project undertakes to supply the necessary tools to quarry workers in order to responsibly and autonomously manage onsite biodiversity. This project thus shows that biodiversity in quarries can be a concrete case of sustainable development. The natterjack toad (*Epidalea calamita* (Laurenti, 1768)) is an example of such threatened species in Wallonia which benefits from mining as this activity creates pioneer habitats essential to the species' development. The aim of this end-of-studies work is to characterize the pioneer ponds of three Walloon quarries visited by this species in order to identify the key factors for pond excavation and to evaluate the counting methods suggested to quarry workers in the framework of the monitoring of actions beneficial for the natterjack toad. Finally, it criticizes the feasibility of a capture-mark-recapture study and the relevance of the photo-identification practical use for the natterjack toad.

Keywords: Natterjack toad, Pioneer ponds, *Life in Quarries*, Capture-Mark-Recapture

Table des matières

Introduction	1
I. Crapaud calamite (<i>E. calamita</i>).....	2
1. Présentation générale.....	2
2. Écologie et habitat	2
3. Biologie	5
4. Menaces et protection.....	6
II. Biodiversité et carrières.....	10
1. La biodiversité en carrière.....	10
2. « Life in Quarries »	12
III. Méthodes de suivi des amphibiens	14
1. Diverses méthodes d’inventaire	14
2. Plaques refuges.....	15
3. Capture-marquage-recapture	16
Matériels & Méthodes.....	19
I. Objectifs	19
II. Zone d’étude.....	20
1. Sites carriers	20
2. Sélection des mares	21
III. Chapitre 1 : Caractérisation des mares temporaires	21
1. Questions ciblées.....	21
2. Terrain	22
3. Paramètres et variables.....	25
4. Analyses	26
IV. Chapitre 2 : Évaluation des méthodes de dénombrement.....	28
1. Questions ciblées.....	28
2. Terrain	28
3. Paramètres et variables.....	31
4. Analyses	31
V. Chapitre 3 : Critique de l’utilisation des programmes de reconnaissance photographique appliquée au crapaud calamite.	32
1. Questions ciblées.....	32
2. Capture-Marquage-Recapture	32
3. Photo-identification informatisée.....	34
4. Analyses	35
Résultats	38
I. Transformation de données	38

II. Chapitre 1 : Caractérisation des mares temporaires	38
1. Partie 1 : Étude de la variabilité des paramètres caractérisant les mares.....	38
2. Partie 2 : Étude des paramètres influençant la présence de preuves de reproduction et l'abondance des pontes.....	46
III. Chapitre 2 : Évaluation des méthodes de dénombrement.....	48
IV. Chapitre 3 : Critique de l'utilisation des programmes de reconnaissance photographique appliquée au crapaud calamite	51
1. Capture-Marquage-Recapture	51
2. Photo-identification informatisée	52
Discussion	54
I. Chapitre 1 : Caractérisation des mares temporaires	54
1. Limites du protocole.....	54
2. Partie 1 : Étude de la variabilité des paramètres caractérisant les mares.....	55
3. Partie 2 : Étude des paramètres influençant la présence de preuves de reproduction et l'abondance des pontes.....	57
4. Application concrète.....	60
II. Chapitre 2 : Évaluation des méthodes de dénombrement.....	61
1. Limites du protocole.....	61
2. Évaluation des méthodes de dénombrement	63
3. Application concrète.....	64
III. Chapitre 3 : Critique de l'utilisation des programmes de reconnaissance photographique appliquée au crapaud calamite	65
1. Capture-Marquage-Recapture	65
2. Photo-identification informatisée	67
3. Application concrète.....	71
Conclusion.....	72
Annexes.....	74
Bibliographie	89

Introduction

Un nombre impressionnant d'ouvrages et d'articles traitent de l'état de la biodiversité et tentent d'évaluer son érosion actuelle. Nous assistons actuellement à la sixième extinction de masse (Eldredge, 1999; Pimm et al., 2000; IUCN, 2007). Alors que la disparition d'espèces est un phénomène naturel, le taux d'extinction auquel nous faisons face actuellement est beaucoup plus rapide, environ 1000 à 10000 fois l'équivalent du taux d'extinction « normal », sans impact humain (Eldredge, 1999; IUCN, 2007). D'après l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN), les activités humaines sont à l'origine de plus de 800 extinctions sur les 500 dernières années (IUCN, 2007). La conversion, la dégradation des terres ainsi que la pollution sont des causes majeures de ce déclin (Newbold et al., 2015).

Les amphibiens constituent un défi majeur dans le monde de la conservation. Pour ne donner que quelques chiffres : environ 40% des espèces d'amphibiens sont en danger d'extinction (Bishop et al., 2012) ; en Europe, 25% des espèces d'amphibiens sont menacées et 17% sont quasi menacés ... (Temple et al., 2009). En Wallonie, les espèces indigènes font également face à la même tendance ; trois espèces d'amphibiens sur les 14 présentes sur le territoire sont menacées, dont une en danger critique (Jacob, 2006; Jacob et al., 2007). De plus, deux autres espèces de cette classe se sont déjà éteintes : la rainette verte et le pélobate brun (Jacob, 2006; Jacob et al., 2007). Une liste rouge des espèces menacées a été établie pour les espèces indigènes de la région, basée sur les critères de l'UICN, afin d'évaluer le statut de conservation des espèces à cette échelle (Jacob, 2006; UICN, 2008; Temple et al., 2009). Les espèces qui font l'objet de préoccupations particulières sont reprises dans différents décrets et lois au niveau de la Wallonie, cependant la législation actuelle apparaît insuffisante pour une protection effective (Jacob, 2006).

La précarité de la situation souligne l'importance d'agir rapidement pour étudier les causes et effectuer le suivi d'espèces sur le long terme, notamment des amphibiens, mais également d'autres groupes taxonomiques (Titeux, 2000; Blaustein et al., 1994 cité par Mettouris et al., 2016), afin de pouvoir élaborer un plan d'action coordonné et efficace. Dans le cas d'espèces menacées localement, il en va de la responsabilité des régions de mettre sur pied de tels plans d'action afin de protéger celles présentes sur le territoire. Il en est de même pour les espèces endémiques (Temple et al., 2009).

I. Crapaud calamite (*E. calamita*)

1. Présentation générale

a. Taxonomie, classification

Le crapaud calamite (*Epidalea calamita* (Laurenti, 1768)) est un amphibien de l'ordre des anoures et de la famille des bufonidés, endémique d'Europe (Temple et al., 2009). Les genres *Bufo* et *Epidalea* ayant été dissociés il y a peu (Temple et al., 2009), le crapaud calamite est encore régulièrement renseigné sous son synonyme scientifique *Bufo calamita* (Laurenti, 1768).

b. Morphologie

Cet anoure de 6 à 10 cm possède un dos verruqueux de couleur brun-vert olivâtre parfois ponctué de taches rougeâtres et traversé d'une ligne dorsale jaune, ainsi qu'un ventre crème à gris, parsemé de taches sombres (**Annexe 1**) (Graitson et al., 2007). Tous ces critères morphologiques semblent permettre une identification des individus, agissant comme une « carte d'identité » (Meyer et al., 1997; Amiard et al., 2016). Le crapaud calamite possède également des glandes parotoïdes disposées parallèlement sur son dos, utiles à la protection contre les prédateurs, ainsi que des pupilles horizontales et des iris jaunes, le distinguant du crapaud commun et de l'alyte accoucheur (Graitson et al., 2007; Laudelout, 2016).

L'espèce présente un dimorphisme lié au sexe : le mâle se distingue de la femelle par sa taille plus petite, sa gorge bleu-rouge ainsi que par ses callosités nuptiales noires sur les trois premiers doigts des pattes antérieures (Barlas, 2014; Raïnne Natagora, 2018).

Les œufs du crapaud calamite se présentent sous forme de chapelets d'une largeur de 4 à 6 mm et d'une longueur de 1 à 2 m, composés de 2000 à 4000 œufs noirs mesurant 1 à 1,6 mm et répartis sur un rang (Graitson et al., 2007; Mermod et al., 2010). Les têtards, noirs également, possèdent une tache claire sous la gorge et voient la couleur de leur nageoire s'estomper avec l'âge, jusqu'à devenir transparente (Graitson et al., 2007; Mermod et al., 2010).

2. Écologie et habitat

a. Distribution et aire de répartition

L'aire de répartition du crapaud calamite à l'échelle internationale (**Annexe 2**) recouvre l'Europe du Sud-ouest et s'étend au-delà de l'Europe centrale, depuis la péninsule ibérique jusqu'à proximité de la frontière de la Russie (Beja et al., 2009). Cette espèce est également retrouvée sporadiquement dans les îles britanniques (Beja et al., 2009). Un déclin généralisé du crapaud calamite en Europe occidentale est observé depuis plus d'une vingtaine d'années (Parent, 1997).

La Belgique se situe au centre de cette aire de répartition globale et présente des populations isolées de crapauds calamites. En Wallonie, le crapaud calamite est actuellement présent à l'échelle de petites populations, réparties dans une aire d'occupation fragmentée et concentrée en cinq noyaux (**Annexe 3**) (Parent, 1997; Graitson et al., 2007). Deux d'entre eux se situent principalement au nord du sillon

Sambre-et-Meuse, où l'espèce est considérée comme « assez rare » : le noyau le plus étendu est localisé à l'ouest de la région limoneuse, du côté de la province du Hainaut et le deuxième se situe à l'est de cette région, au niveau de la province de Liège (Jacob, 2006; Graitson et al., 2007). Les autres noyaux se répartissent en Fagne et en Famenne, où l'espèce est estimée « rare », ainsi qu'en Lorraine, au camp militaire de Lagland, où elle est jugée « très rare » (Jacob, 2006; Graitson et al., 2007). En 1997, ce terrain militaire semblait être le dernier lieu abritant des colonies de crapauds calamites en Lorraine belge (Parent, 1997). Pour le reste des régions de Wallonie, l'espèce est considérée comme très rare au Pays de Herve, rare au Condroz et éteinte en Ardenne (Parent, 1997; Jacob, 2006). En Flandre, une distribution morcelée de l'espèce est également constatée, des données de présence ayant été notées notamment dans les provinces d'Anvers, du Limbourg et de Flandre-Occidentale (Laudelout, 2016).

b. Domaine vital et dispersion

Dès que les individus adoptent un mode de vie terrestre, ils deviennent fortement mobiles (Graitson et al., 2007; Sinsch et al., 2012; Laudelout, 2016). L'espèce présente un potentiel de dispersion notable, les adultes et les juvéniles participant à la dispersion et pouvant parcourir jusqu'à 600 m par jour (Sinsch, 1997; Leskovar et al., 2005; Sinsch et al., 2012). Le stade juvénile est parfois considéré comme la phase principale de dispersion de l'espèce, cependant cette théorie reste discutée, une distribution inégale des individus au sein des classes d'âge pouvant amener à cette conclusion erronée (Sinsch, 1997, 2014; Stevens et al., 2006).

L'aire centrale du domaine vital de populations du centre de l'Europe et du Royaume-Uni recouvre une zone de 600 m autour des sites de reproduction (Sinsch et al., 2012). Une distance maximale de 2250 m entre sites de reproduction est préconisée pour assurer une certaine connectivité (Sinsch et al., 2012).

c. Statut de conservation

À l'échelle de son aire de répartition globale, d'après la liste rouge européenne de l'UICN, cette espèce est considérée comme étant « de préoccupation mineure » (Beja et al., 2009). Cependant, le statut de cet amphibien est plus inquiétant lors de son analyse à une échelle plus petite, apparaissant comme « vulnérable » ou « en danger » dans différentes listes rouges régionales ou nationales de pays européens (Stevens et al., 2008). En Wallonie par exemple, le crapaud calamite est une espèce menacée renseignée comme « en danger » dans la liste rouge de la région (version 3.1, datant de 2001) sous le critère UICN B2ab (ii à v) (Jacob et al., 2007; Temple et al., 2009; La biodiversité en Wallonie, 2018a). Défini à une échelle mondiale, ce critère doit être adapté à l'échelle étudiée, cependant ces transpositions sont souvent peu pertinentes pour l'herpétofaune par manque d'information (Jacob et al., 2007). Les tendances générales à retenir qui traduisent la situation en Wallonie sont : une zone d'occupation très fragmentée et localisée, occupée par de petites populations en majorité, ainsi qu'un déclin continu (observé, déduit ou projeté) de l'aire d'occupation, de l'étendue et de la qualité de l'habitat (IUCN, 2017).

L'ouvrage intitulé « Amphibiens et Reptiles de Wallonie » de Jacob et al. (2007) présente un chapitre étudiant ces listes rouges et fait mention des atlas étudiant l'herpétofaune, qui apportent des renseignements quantitatifs quant à la répartition des espèces à l'échelle d'un territoire (Jacob et al., 2007). L'indice R de régression qui y est présenté compare le nombre de carrés atlas de 16 km² stables et disparus, une valeur de 100% représentant l'extinction (Jacob et al., 2007). Le crapaud calamite présente un indice de R s'élevant à 67,2%, une valeur qui traduit donc une situation assez inquiétante.

Le crapaud calamite est donc un très bon exemple de l'importance de l'échelle spatiale lors de l'évaluation du statut de conservation. Il tient donc de la responsabilité des régions ou des nations l'accueillant de mettre en place des mesures de gestion et de conservation du crapaud calamite afin de le protéger à chaque échelle jugée pertinente (Temple et al., 2009).

d. Habitats

Le crapaud calamite est une espèce héliophile et pionnière qui dépend de milieux relativement ouverts et ensoleillés pour prospérer (Graitson et al., 2007; Laudelout, 2016). Les landes, les dunes et les zones alluviales composent l'habitat primaire de cette espèce (Parent, 1997; Stevens et al., 2003; Graitson et al., 2007; Beebee et al., 2009; Laudelout, 2016). L'espèce profite également et surtout de sites liés à l'activité humaine, plus répandus, tels que les sites extractifs, terrils et friches industrielles, qui comptent parmi les habitats « secondaires » (Beebee 1983, cité par Denton et al., 1997; Stevens et al., 2003; Graitson et al., 2007; Laudelout, 2016).

Deux caractéristiques principales sont rencontrées au sein des sites favorables au crapaud calamite, englobant habitats terrestre et aquatique.

Tout d'abord, la présence de milieux ouverts comportant un sol nu ou recouvert d'une végétation herbacée basse (inférieure à 30 cm) et clairsemée, est requise (Denton et al., 1997; Graitson et al., 2007; Mermod et al., 2010; Laudelout, 2016). Ainsi, il pourra y trouver sa nourriture, composée d'invertébrés notamment, et y creuser des terriers pour y passer l'hiver (Denton et al., 1997; Graitson et al., 2007). L'ouverture du milieu permet également d'atteindre une température au sol assez élevée, favorisant le développement de cette espèce (Denton et al., 1997). Le crapaud calamite affectionne tout particulièrement les substrats meubles tels que le sable (Denton et al., 1997; Titeux, 2000; Laudelout, 2016).

Ensuite, l'existence de points d'eau temporaires ensoleillés et peu profonds représente une deuxième condition nécessaire au développement et à la reproduction de l'espèce (Sinsch, 1992; Denton et al., 1997; Graitson et al., 2007; Mermod et al., 2010; Rannap et al., 2012; Laudelout, 2016). La profondeur ne doit pas être trop faible : le point d'eau risquerait d'être sujet à une dessiccation précoce, mettant alors les larves de l'année en péril (Bécart et al., 2007; Laudelout, 2016). Elle ne doit pas non plus être trop importante : le point d'eau pourrait alors devenir permanent, permettant le développement de la végétation et l'apparition d'autres espèces concurrentes d'amphibiens (Laudelout, 2016). Ainsi,

une profondeur inférieure à 50 cm est préconisée pour cette espèce, avec un optimum entre 10 et 20 cm (Banks et al., 1987; Denton et al., 1997; Miaud et al., 2005; Bécart et al., 2007; Laudelout, 2016). Une faible profondeur et une faible couverture végétale permettent également à l'eau d'atteindre une certaine température, nécessaire au développement et à la reproduction de l'espèce (Titeux, 2000; Bécart et al., 2007; Rannap et al., 2012; Laudelout, 2016). D'autres paramètres sont aussi importants pour le crapaud calamite : berges en pente douce, pH d'environ 6-8,5, eau oxygénée, surface variable... (Banks et al., 1987; Denton et al., 1997; Titeux, 2000; Bécart et al., 2007; Rannap et al., 2012; Laudelout, 2016). De plus, l'absence d'autres espèces d'amphibiens compétiteurs est un autre critère dans le choix des mares (Banks et al., 1987).

3. Biologie

En milieu naturel, le crapaud calamite présente une durée de vie d'environ 7 à 9 ans (Mermod et al., 2010). Alors que les juvéniles suivent un mode de vie diurne, les adultes sont typiquement nocturnes (Graitson et al., 2007).

Les mois d'octobre à mars correspondent à une période d'hibernation durant laquelle les adultes se dissimulent sous terre ou sous abri (Graitson et al., 2007). Lors de la période de reproduction, d'avril à septembre, plus généralement jusqu'à début juillet avec un optimum en mai-juin en Wallonie, l'adulte rejoint des masses d'eau habituellement ensoleillées et peu profondes (Graitson et al., 2007; Mermod et al., 2010). Les mâles atteignent leur maturité sexuelle entre 2 et 3 ans alors qu'elle est atteinte vers 3 ou 4 ans chez les femelles (Denton et al., 1993). Ils restent à proximité d'une même mare ou se déplacent d'une mare à l'autre et émettent un chant à l'aide de leur sac vocal, afin d'attirer les femelles (Graitson et al., 2007; Mermod et al., 2010). Certains mâles, surnommés en anglais « satellite males », présentent un comportement opportuniste : ils restent silencieux et interceptent les femelles qui se déplacent vers les mâles chanteurs (Arak, 1988; Stevens et al., 2003).

La population des crapauds calamites est constituée de différentes cohortes, c'est-à-dire des groupes d'individus, réparties dans l'espace et qui se succèdent dans le temps (Sinsch, 1988, 1997). Ces cohortes participent successivement à la reproduction, divisant ainsi la période de reproduction en plusieurs périodes distinctes, au cours desquelles différentes phases de chants ont lieu (Sinsch, 1988; Stevens et al., 2003). Trois grandes périodes de reproduction sont constatées en Rhénanie-du-Nord-Westphalie, land allemand voisin de la Wallonie : une première phase d'avril à mi-mai, une phase intermédiaire de fin mai à début juillet et une phase tardive de mi-juillet à août (Sinsch, 1988). Les phases de chants sont quant à elles relativement courtes et ne font pas intervenir tous les mâles de la cohorte à chaque fois, cette activité exigeant une grande dépense d'énergie (Sinsch, 1988). Ces particularités écologiques sont similaires à celles rencontrées en Belgique, vu la proximité de ces régions (Stevens et al., 2003).

Certains auteurs indiquent une seule ponte par saison par femelle, effectuée dans une eau peu profonde (inférieure à 10 cm) (Beebee, 1983 cité par Denton et al., 1997; Graitson et al., 2007; Stevens et al., 2008). En sachant cela et en estimant le sex-ratio à 1 :1, le nombre de chapelets serait un bon estimateur de la taille de la population (Denton et al., 1997; Bécart et al., 2007). Cependant, cette estimation, plus fiable pour des comptages effectués sur plusieurs années, est parfois remise en question. L'hypothèse que le nombre de chapelets observés une année donnée corresponde au nombre de femelles adultes matures d'une population semble discutable (Bécart et al., 2007). D'une part, une deuxième ponte a été observée chez certaines femelles, celle-ci étant alors réduite de moitié par rapport à la première (Denton et al., 1996). D'autre part, toutes les femelles ne semblent pas se reproduire ou pondre chaque année (Denton et al., 1996). Enfin, l'hypothèse du sex-ratio de 1 :1 se révèle rarement correcte, les mâles présentant un taux de mortalité supérieur à celui des femelles (Denton, 1991 cité par Bécart et al., 2007).

Les périodes de ponte ont lieu environ tous les 10 jours (Niekisch, 1981 cité par Sinsch, 1988) et l'éclosion a lieu dans les 7 à 10 jours suivant la ponte (Beebee, 1983 cité par Bécart et al., 2007). Un mois environ est nécessaire à la métamorphose des têtards en juvéniles (Graitson et al., 2007; Mermod et al., 2010; Raïne Natagora, sd). Ces durées dépendent des conditions du milieu, le développement étant ralenti lors de températures trop fraîches (Graitson et al., 2007).

Une fois la période de reproduction close, les crapauds calamites passent le reste de l'été dans des terriers, creusés ou non par leurs soins, et sortent de temps à autre à la recherche d'eau (Graitson et al., 2007).

4. Menaces et protection

a. Menaces

L'étendue de l'aire d'occupation du crapaud calamite a fortement évolué et reculé au cours du XIX^e siècle (Stevens et al., 2003; Graitson et al., 2007; Jacob et al., 2007). D'une part, les milieux de dunes et de landes ont subi une importante dégradation à cette époque, provoquée notamment par le développement anthropique et l'enrésinement, et l'état préoccupant de ces milieux fait l'objet d'actions de protection et de restauration (Beebee et al., 2009; Agenschat Natuurenbos, 2018; La biodiversité en Wallonie, 2018b). D'autre part, l'abandon des sites industriels hennuyers et liégeois après 1950 a été profitable pour un bon nombre d'espèces, créant des zones refuges pour la faune et la flore (Beebee 1983, cité par Denton et al., 1997; Remacle, 2005; Lemoine, 2016).

La tendance de disparition des habitats primaires et d'apparition d'habitats secondaires, constatée pour beaucoup d'autres espèces, est loin de s'inverser, accentuée par l'expansion démographique et la pression anthropique provoquée sur l'environnement (Stevens et al., 2003; Beebee et al., 2009).

Différentes menaces affectent le crapaud calamite dans son habitat primaire et secondaire et sont abordées par plusieurs auteurs (Beja et al., 2009; Temple et al., 2009; Beebee et al., 2012; Rannap et al., 2012; Laudelout, 2016; La biodiversité en Wallonie, sd).

D'importantes modifications affectent à la fois les habitats primaires et secondaires, telles que l'acidification, le remblaiement ou le drainage des masses d'eau servant de lieux de reproduction par exemple. L'utilisation de pesticides, herbicides et fertilisants en concentrations létales et les destructions ou perturbations extérieures menacent également les différents habitats du crapaud calamite.

Le non-renouvellement des milieux pionniers dont l'espèce est dépendante représente une menace des plus sérieuses. Ce phénomène se traduit notamment par une reforestation, une recolonisation par la végétation, une végétalisation des mares, etc. Le milieu devient alors trop concurrentiel et ne présente pas les caractéristiques environnementales propices pour le crapaud calamite.

La combinaison de ces menaces entraîne la fragmentation, la dégradation et la perte de l'habitat du crapaud calamite, plusieurs causes majeures de déclin des amphibiens en Europe (Smith et al., 2005; Temple et al., 2009). Or les amphibiens, de par leurs spécificités biologiques et leurs exigences écologiques, sont particulièrement sensibles à l'état de leur environnement (Titeux, 2000). Cette fragmentation empêche la dispersion et le déplacement des individus et provoque l'isolement des populations (Stevens et al., 2006; Laudelout, 2016).

Un autre facteur de régression potentiel est la chytridiomycose, une maladie infectieuse et mortelle causée par un champignon pathogène, *Batrachochytrium dendrobatidis* (Beja et al., 2009; Dejean et al., 2010). L'origine de ce pathogène et les raisons de son émergence font l'objet de plusieurs hypothèses actuelles : introduction en parallèle du commerce international ou du trafic d'amphibiens, impactant alors des populations « naïves », ou présence initiale du champignon et développement exacerbé par les changements environnementaux (Dejean et al., 2010). Ce champignon se développe sur la kératine des individus et provoque des troubles neurologiques, respiratoires et alimentaires ainsi que des lésions cutanées, causant de grands dégâts parmi les amphibiens à travers le monde (Dejean et al., 2010). Actuellement, les populations européennes de crapauds calamites ne semblent pas être gravement affectées par le pathogène, cependant une attention et une précaution toutes particulières doivent être de mise afin de diminuer le risque potentiel de contamination (Dejean et al., 2010; Miaud, 2014; Laudelout, 2016).

b. Protection légale

Cet amphibien est mentionné dans plusieurs législations internationales ou régionales.

Cette espèce est intégralement protégée en vertu du décret « Natura 2000 » du 6 décembre 2001 (Région Wallonne, 2002; Graitson et al., 2007). Cette protection interdit notamment la capture, la vente

et l'exposition d'individus, la destruction volontaire des œufs ainsi que la mise à mort intentionnelle (Région Wallonne, 2002). De plus, toute perturbation délibérée de l'espèce durant des périodes déterminantes (hibernation, reproduction...) et toute détérioration de l'habitat sont défendues (Région Wallonne, 2002).

Elle figure à l'annexe IVa de la directive de l'Union européenne 92/43/C.E.E. (directive habitats), engageant les États membres à prendre les mesures de protection nécessaires à l'égard de cette espèce d'intérêt communautaire dans son aire de répartition naturelle, dans et en dehors des sites Natura 2000 (Conseil de l'Europe, 1992; Bécart et al., 2007; Graitson et al., 2007).

Sa protection et celle de ses sites de reproduction sont également assurées par la convention de Berne à l'annexe II (Conseil de l'Europe, 1982; Graitson et al., 2007; La biodiversité en Wallonie, sd). Cet accord engage chaque partie contractante à prendre les mesures législatives et réglementaires nécessaires et interdit également la capture, la détention, la détérioration, la destruction et la perturbation de l'espèce et de son habitat (Conseil de l'Europe, 1982).

En Wallonie, la Loi sur la Conservation de la Nature transpose ces directives de l'Union européenne et conventions internationales. Le crapaud calamite y apparaît à l'annexe IIa*, conférant à cette espèce wallonne une protection stricte (Région Wallonne, 1973; La biodiversité en Wallonie, sd).

Enfin, elle apparaît dans l'arrêté de l'Exécutif Régional Wallon du 30/03/1983 relatif à la protection de certaines espèces d'animaux vertébrés indigènes vivant à l'état sauvage (Région Wallonne, 1983). Ce règlement transpose simplement les normes législatives wallonnes, requérant la protection de cette espèce d'amphibien ainsi que de son habitat (Région Wallonne, 1983).

c. Actions de conservation

L'état de conservation actuel du crapaud calamite exige des actions immédiates afin d'assurer la protection de cette espèce menacée. Ces stratégies doivent s'inspirer de l'analyse des menaces à l'échelle locale afin d'être efficaces (Rannap et al., 2012). L'objectif consiste à « assurer le maintien de l'espèce dans un état de conservation favorable » (Laudelout, 2016).

De nombreuses actions sont ou peuvent être entreprises afin de protéger le crapaud calamite. La plupart de ces stratégies concernent principalement l'habitat dont la protection est cruciale pour la survie de l'espèce sur le long terme.

Certaines actions tentent d'améliorer ou de restaurer la qualité de l'habitat aquatique et terrestre de l'espèce, notamment en effectuant des déboisements, des étrépages localisés, des creusements de mares ou en aménageant des abris (Mermod et al., 2010; Laudelout, 2016). La création d'un réseau de mares représente l'une des actions les plus efficaces pour la protection de l'espèce. Cette stratégie a l'avantage de présenter des conditions abiotiques variées, permettant aux populations de se maintenir sur le long terme (Denton et al., 1997) et assurant une meilleure résilience face aux conditions

climatiques. En effet, une diversité de conditions (de profondeur, d'exposition, etc.) assure la disponibilité de milieux favorables au crapaud calamite (Denton et al., 1997). De plus, la création d'un plus grand nombre de mares permet un renforcement de la population, le nombre d'adultes étant directement lié au nombre de points d'eau disponibles (Beebee, 1996 cité par Denton et al., 1997).

La gestion et la protection des sites de reproduction existants sont également des stratégies pour la conservation d'espèces. Une attention particulière doit être de mise lors de travaux empiétant sur le territoire du crapaud calamite (Laudelout, 2016). Différentes mesures peuvent être prises : création de crapauducs et de mares en périphérie du chantier afin de permettre aux individus d'atteindre une zone sécurisée, balisage des flaques où des têtards sont présents, déplacement de pontes dans des mares plus propices, coordination des travaux avec les différentes stratégies possibles... (GHdC, 2016; Laudelout, 2016)

Les actions proposées doivent être adaptées localement et auront d'autant plus d'impact dans la protection de l'espèce s'il existe une coordination à plus grande échelle (Mermod et al., 2010). L'intégration d'un réseau écologique favorable au crapaud calamite à l'échelle du paysage est une autre stratégie à envisager (Laudelout, 2016).

La translocation d'individus a déjà été appliquée à différentes espèces d'amphibiens (Germano et al., 2008; Temple et al., 2009) et le crapaud calamite ne manque pas à cette règle (Denton et al., 1997; Laudelout, 2016; Life in Quarries, 2018). De nombreuses recherches ont été effectuées à ce sujet et le succès des opérations d'introduction semble s'intensifier (Denton et al., 1997). La stratégie de translocation soulève généralement beaucoup de questions, notamment en ce qui concerne l'origine des populations sources, la durabilité et le succès de l'opération, le risque potentiel de propagation de maladies infectieuses... L'UICN a rédigé un ensemble de règles comme « guidelines » tentant de conseiller et de guider de tels projets (IUCN/SSC, 2013). L'introduction d'espèces d'amphibiens est envisagée dans des habitats favorables non colonisés, ni par le passé ni à l'heure actuelle. Des habitats dégradés qui ont fait l'objet d'une restauration peuvent, dans le meilleur des cas, être le lieu d'une réintroduction. Le bon état de l'habitat terrestre et aquatique est en effet indispensable pour que toute ré/introduction soit efficace (Denton et al., 1997). Qu'il s'agisse d'une introduction ou d'une réintroduction, deux moteurs principaux motivent généralement l'action de translocation : une compensation face à une destruction d'habitat ou une stratégie proactive en faveur de l'espèce (Laudelout, 2016). Dans tous les cas, une demande de dérogation auprès des autorités compétentes est nécessaire (Laudelout, 2016).

Enfin, la sensibilisation des acteurs, liés de près ou de loin aux projets touchant au crapaud calamite, et l'approfondissement des connaissances au sujet de cette espèce, de son écologie et de la dynamique des populations sont également indispensables et sont déjà engagés dans de nombreux pays (Temple et

al., 2009; Laudelout, 2016). Cette démarche de partage d'information et d'apprentissage est plus que probablement un des outils les plus efficaces pour la protection d'espèces.

II. Biodiversité et carrières

1. La biodiversité en carrière

a. Perception

Dans l'opinion générale, les carrières sont synonymes d'univers minéral hostile, sans vie, sur lequel la nature ne pourra reprendre ses droits qu'après de longues années (HiedelbergCementGroup, 2009; Gabory, 2014; Anrys, 2016). Cette perception est principalement due à l'origine artificielle des sites extractifs et à leurs incidences sur l'environnement, l'air, la santé et la quiétude des alentours : charroi, bruit, poussières, vibrations dues aux tirs de mine, impacts visuels sur l'environnement... (Gosselin, 2006; Gabory, 2014; Anrys, 2016). Ainsi, les sites extractifs ont longtemps été perçus comme des zones stériles pour les naturalistes (Gabory, 2014). Les carrières exploitent le gisement, modifiant incontestablement le milieu, façonnant la perception d'une relation incompatible entre biodiversité et activité extractive (Gabory, 2014).

En 1912, l'ouvrage intitulé « Pour la conservation de la nature en Belgique », rédigé par Jean Massart, professeur à l'Université de Bruxelles et Directeur de l'Institut Botanique Léo Errera, identifie des sites remarquables pour la conservation du patrimoine biologique et géologique belge (Anrys, 2016; La biodiversité en Wallonie, 2018c). Contre toute attente, plusieurs carrières sont reprises parmi ces sites (Anrys, 2016; La biodiversité en Wallonie, 2018c).

En outre, depuis plusieurs années, l'antagonisme entre activité extractive et biodiversité est de plus en plus nuancé, à mesure que l'importance de la biodiversité présente au sein même des carrières est sondée (Gabory, 2014; Anrys, 2016). Dans les années 1920, des nidifications du petit gravelot (*Charadrius dubius*) ont été notées dans des carrières de la région de Mons (Anrys, 2016). Dans les années 50, des actions de réaménagement des sites carriers en faveur de la faune ont été entreprises en Grande-Bretagne (Anrys, 2016). Certaines anciennes carrières sont converties en réserves naturelles, telles que le site des argilières de Ploegsteert en Belgique, devenu réserve naturelle et ornithologique en 1976 (Ploegsteert, 2011; Anrys, 2016). Depuis les années 60-70, la biodiversité en carrières – actives ou non - est de plus en plus étudiée à travers le monde (Benes et al., 2003; Tropek et al., 2007; Bétard, 2013; Quarry Life Awards, 2018). Cependant, même si l'on remarque que l'incompatibilité entre biodiversité et activité extractive n'a pas lieu d'être, cet a priori est malheureusement souvent partagé au sein du grand public non averti (Anrys, 2016).

b. Intérêt de l'activité extractive pour la biodiversité

De par sa richesse géologique notamment, la Wallonie possède un grand nombre de carrières, actives ou aujourd'hui abandonnées (Remacle, 2005; Gosselin, 2006; DGO3, 2010). L'industrie extractive à l'échelle de la région représente un secteur économique important, non pas en termes du nombre

d'emplois ou de valeur ajoutée qu'elle crée, mais en termes d'approvisionnement en matières premières de différents domaines de production industrielle ainsi que de celui de la construction (Gosselin, 2006; Portail de l'Environnement Wallonie, 2018). Outre ces aspects économiques, les carrières wallonnes présentent un réel potentiel pour la biodiversité.

L'activité extractive, source de perturbations importantes, implique des actions destructrices, quoique peu polluantes a priori, bouleversant le paysage et le milieu (Gabory, 2014; Anrys, 2016). Et c'est bien là tout l'intérêt pour la biodiversité des carrières toujours en activité. Ces perturbations résultent en la création de milieux jeunes et temporaires, devenus rares à l'échelle du territoire, qui pourront être colonisés par une faune et une flore typiques des milieux pionniers (Gabory, 2014; Anrys, 2016; Life in Quarries, 2018). Découlant des perturbations provoquées par l'extraction, un maximum de biodiversité est observé dans les 5 à 10 ans après la phase d'exploitation (Anrys, 2016).

Ces milieux de substitution sont souvent les dernières zones colonisables par des espèces menacées en Wallonie, agissant comme de réelles zones refuges (Remacle, 2005; Gosselin, 2006; Graitson, 2008; Anrys, 2016). Qui plus est, les carrières présentent une certaine diversité structurelle à leur propre échelle, offrant une mosaïque de milieux différents, condition souvent requise pour la survie de diverses espèces (Anrys, 2016). Le hibou grand-duc (*Bubo bubo*) a pu tirer parti des falaises et pans rocheux lors de sa réapparition en Wallonie et plus de 90% des populations wallonnes de l'espèce occupent nos carrières (Jean Doucet, 1989; DGO3, 2010; Anrys, 2016). La quasi-totalité des populations d'hirondelles de rivage de passage dans notre région profite de ces sites ; et il en va de même pour des espèces qui résident dans nos régions : 42% et 60% des populations wallonnes de faucons pèlerins et de goélands cendrés respectivement se retrouvent dans les sites extractifs (Anrys, 2016). Les oiseaux ne sont pas les seuls concernés, les autres taxons (insectes, amphibiens, reptiles, mammifères, arachnides) profitent également de la diversité de milieux présente dans ces sites, sans parler de la flore (Remacle, 2005; HiedelbergCementGroup, 2009; Life in Quarries, 2018; Quarry Life Awards, 2018).

Ces zones de substitution ont toute leur importance pour des espèces dont l'habitat primaire a subi une forte régression à l'échelle de notre région, comme les landes dont dépend notamment le crapaud calamite (Graitson, 2000). George Henri Parent annonçait d'ailleurs en 1979, dans son « Atlas commenté de l'herpétofaune de la Belgique et du Grand-Duché de Luxembourg », que les carrières représentent l'habitat secondaire le plus souvent fréquenté par de nombreuses espèces de ce taxon (Graitson, 2000). De plus, les carrières jouent un rôle important dans le maillage écologique, agissant comme des *stepping stones*, de petites taches d'habitat « refuge » permettant une certaine continuité au sein de la matrice paysagère (Forman, 1995; Graitson, 2000). Cela est vrai notamment pour l'herpétofaune (Graitson, 2000; Graitson et al., 2001). D'ailleurs, la fermeture de nombreuses

carrières, pas forcément compensée par l'ouverture de nouveaux sites extractifs, amplifie l'isolement des espèces qui dépendent de ce genre de milieux pour subsister à l'échelle du paysage (Remacle, 2005).

Les anciennes carrières présentent également un intérêt non négligeable pour la biodiversité (Graitson, 2000; Remacle, 2009). Sur la période 1998-2007, un total de 524 anciennes carrières wallonnes ont été listées comme sites de grand intérêt biologique (SGIB) (Remacle, 2007). Plusieurs anciens sites extractifs ont été intégrés au réseau Natura 2000 (Remacle, 2005). Cependant les carrières désaffectées ou abandonnées souffrent souvent de la fermeture du milieu et du manque de perturbation relançant la dynamique des habitats, et nécessitent un certain effort de gestion sur le long terme (Graitson, 2000; Remacle, 2005). Il faut noter que les sites actifs demandent eux aussi un certain suivi, pour assurer un milieu favorable à diverses espèces cibles, pour lutter contre les espèces exotiques envahissantes... (Remacle, 2009; *Life in Quarries*, 2018). Toutefois les anciennes carrières ne sont plus sujettes à des perturbations similaires – ou aussi importantes - et les milieux qu'elles présentent diffèrent, de par la logique de la succession écologique.

Ainsi, les sites extractifs recèlent de nombreuses d'espèces d'intérêt et sont dignes d'une attention particulière pour la conservation de différentes espèces animales et végétales, et ce grâce à des investissements limités (Anrys, 2016; *Life in Quarries*, 2018). Ces zones d'une superficie importante présentent un réel potentiel dans la restauration des habitats, notamment de ceux à haute valeur biologique dans le maillage à l'échelle du paysage (Graitson et al., 2001; Anrys, 2016). Il est toutefois primordial de continuer à préserver les sites primaires – opposés aux sites de substitution – qui accueillent ces espèces. En plus d'agir comme sites sources pour celles rencontrées sur les sites extractifs, une proportion importante d'espèces non présentes en carrière dépend de celles-ci (Anrys, 2016). Il n'en reste que l'exemple de la biodiversité en carrières est une démonstration éloquent et concrète de développement durable (Gabory, 2014).

2. « *Life in Quarries* »

Le projet *Life in Quarries* (LIFE14 NAT/BE/000364) est un projet LIFE Nature et Biodiversité qui s'inscrit dans un objectif de promotion de la biodiversité et du potentiel d'accueil dans différents sites carriers en activité en Wallonie (Harzé et al., 2015; *Life in Quarries*, 2018). La finalité de ce projet consiste à déterminer et diffuser les actions pertinentes et efficaces dans la gestion de la biodiversité en carrière. Il tente ainsi de démontrer que l'activité humaine n'est pas incompatible avec la biodiversité en carrière. Ce projet compte également amplifier la démarche de la charte sectorielle « Carrières et Biodiversité », adoptée en 2012 dans l'optique d'encourager le développement de la biodiversité dans les sites carriers wallons (Fediex, 2015). Des actions efficaces et faciles à mettre en œuvre permettent de fournir un support à la biodiversité sans entraver l'activité extractive.

Deux phases constituent ce projet LIFE de façon à développer, mettre en œuvre et valider les bonnes pratiques de gestion dynamique de la biodiversité. La phase pilote (2015 à 2018) rassemble 14 sites

carriers en Région wallonne, reprenant 12 sociétés d'échelles différentes, des familiales aux multinationales. L'objectif de cette étape est de préciser et de développer ces bonnes pratiques. Cette première phase est suivie d'une deuxième (2018 à 2020) qui encadre 12 carrières supplémentaires dans l'application de ces pratiques. Actuellement, 10 carrières ont rejoint le projet. Le partage des apprentissages est un point central de cette étape qui tentera d'étendre ces pratiques à un minimum de 6 carrières en Europe.

Ce projet tisse un partenariat avec la fédération de l'industrie extractive (FEDIEX), Natagora ASBL, Gembloux Agro-Bio Tech (Université de Liège) et la Commission de Gestion du Parc Naturel des Plaines de l'Escaut ASBL.

Des inventaires floristique et faunistique sont d'abord réalisés au sein de chaque carrière participant au projet. Ces bases de données permettent d'établir des plans d'action biodiversité adaptés à chaque site, visant à renforcer les populations des espèces d'intérêt présentes et à développer la capacité d'accueil du site. Ces propositions sont ensuite présentées aux carriers, engageant ainsi une discussion sur la faisabilité, la localisation des différentes actions ainsi que sur des aspects légaux... Ce processus de discussion et de négociation permet en définitive d'arriver à un plan d'action cohérent avec l'exploitation et la législation. Les différentes actions proposées et retenues sont ensuite planifiées et exécutées sur le terrain. L'investissement effectué par chaque carrière prenant part au projet se traduit en temps de travail et en moyens pratiques déployés pour exécuter les différentes actions en faveur de la biodiversité.

Des actions de nature temporaire et permanente, visant différents habitats et espèces cibles, sont entreprises dans le cadre de ce projet LIFE. D'un côté, les actions de nature temporaire s'étalent sur des durées de 1 à 5 ans et s'inscrivent dans un principe de gestion dynamique de la biodiversité. Ce type de gestion est basé sur la délocalisation de zones refuges au sein de la carrière et vise tout particulièrement la création de milieux jeunes propices au développement d'espèces pionnières. Un secteur temporairement ou définitivement inactif d'une carrière peut être mis en défens et devenir le lieu de différentes actions de support à la biodiversité. Lorsque cette zone est désignée pour l'exploitation, d'autres zones refuges sont délimitées au sein de la carrière et pourront à leur tour accueillir un cortège d'espèces faunistiques et floristiques typique du milieu concerné. Différents milieux de nature temporaire – et espèces associées – sont liés à ce type de gestion : les pelouses pionnières composées d'une flore et d'une faune typiques et diversifiées, les falaises meubles propices à l'installation de l'hirondelle des rivages ou à l'abeille solitaire, les éboulis qu'affectionnent particulièrement la coronelle lisse et le lézard des murailles, les mares temporaires favorables au crapaud calamite... D'un autre côté, les actions de nature permanente visent des milieux qui seront affectés au support de la biodiversité sur le plus long terme (plusieurs dizaines d'années). Ils accueillent ainsi des espèces bien différentes de celles visées dans le cadre des actions temporaires. Les différents milieux de nature permanente incluent

les mares permanentes favorables aux libellules et au triton crêté, les plans d'eau pouvant accueillir des plateformes utiles aux oiseaux aquatiques, les berges où des roselières peuvent se développer et abriter l'herpétofaune et l'avifaune typiques de ce genre de milieu...

D'autres actions rentrent également dans le cadre du projet *Life in Quarries*, telles que la restauration et la gestion de prairies fauchées et pâturées, la translocation et l'introduction d'espèces, l'aménagement de galeries à chauves-souris, le suivi de populations d'espèces, la création d'abris ou de microhabitats...

Un autre pilier de ce projet LIFE est la transmission et la pérennisation des bonnes pratiques, qui passent par la sensibilisation et l'apprentissage. De nombreuses formations sont proposées aux carriers afin de les sensibiliser, de les (in)former et de leur fournir les outils nécessaires à la gestion de la biodiversité au sein de leur site.

Cette approche de gestion de la biodiversité au sein d'un milieu perturbé par les activités anthropiques, supportée par un appui scientifique, permet de démontrer qu'il est possible de concilier biodiversité et activité humaine.

III. Méthodes de suivi des amphibiens

1. Diverses méthodes d'inventaire

De nombreuses méthodes d'inventaire sont fréquemment utilisées dans le suivi des populations d'amphibiens. Deux grandes catégories peuvent être distinguées selon leur fonctionnement : les méthodes passives qui agissent comme de réels pièges pour les individus qui ne savent pas en sortir par eux-mêmes et les méthodes actives qui attirent et accueillent les individus, toujours en totale liberté (Willson et al., 2009; Eekhout, 2010).

Les pièges passifs sont probablement les plus efficaces pour effectuer un suivi des espèces d'amphibiens rares ou très discrètes, même s'ils nécessitent un investissement en temps et en effort important (Willson et al., 2009). Ce type de méthode requiert un suivi régulier afin d'éviter tout risque de mortalité et/ou de prédation pour les individus capturés (Willson et al., 2009). Les pièges en entonnoir, les pièges à fosses et les barrières pièges figurent parmi ces méthodes (Willson et al., 2009; Eekhout, 2010).

La capture active est quant à elle moins exigeante en termes de fréquence de visites puisque les individus sont toujours libres de mouvement, aussi pourra-t-elle être organisée avec plus de facilité, mais toujours en adéquation avec les objectifs de l'étude (Willson et al., 2009). Si l'intention est de capturer les individus, ce genre de méthode demande alors l'intervention d'un observateur (Willson et al., 2009). Les abris artificiels ou plaques refuges appartiennent à cette catégorie (Willson et al., 2009).

La dénomination « active » ou « passive » est parfois également employée pour traduire la nécessité potentielle d'une intervention de la part de l'observateur (Eekhout, 2010). Le repérage visuel ou auditif, l'utilisation d'épuisettes, le comptage des œufs ou des masses d'œufs sont divers exemples de capture

active selon ce sens (Eekhout, 2010; Draper et al., 2016). Sous cette définition, les plaques refuges semblent plutôt se rapporter à la catégorie « passive », les individus s’y réfugiant spontanément (Eekhout, 2010). Les pièges en entonnoir, à fosses ou les barrières pièges conservent quant à eux le statut de méthode « passive » (Eekhout, 2010).

Diverses autres méthodes existent, telles que l’échantillonnage par placettes, par transects, l’identification directe des individus (Sutherland, 2006; Eekhout, 2010). Celles-ci sont qualifiées de méthodes actives selon les deux définitions présentées.

2. Plaques refuges

Les plaques refuges sont des planches ou des panneaux en matériaux divers posés à même le sol et offrant des conditions particulières favorables à diverses espèces (Graitson et al., 2005; Willson et al., 2009). Ce sont des outils simples qui permettent d’effectuer un inventaire qualitatif, semi-quantitatif ou quantitatif, en fonction de la fréquence des visites et des actions effectuées lors du relevé des individus présents (Graitson et al., 2005) :

- l’inventaire qualitatif peut être accompli en effectuant des visites périodiques au cours desquelles les espèces présentes sont identifiées ;
- l’inventaire semi-quantitatif demande un effort similaire en termes de fréquence de visite, mais requiert un enregistrement en information supplémentaire (âge, taille, sexe) afin de pouvoir évaluer le nombre minimum d’individus appartenant à chaque espèce ;
- ces informations sont également importantes pour l’inventaire quantitatif. Il est cependant plus exigeant en nombre de visites et doit être combiné à une étude de capture-marquage-recapture.

Ces abris artificiels peuvent cibler aussi bien les reptiles que les amphibiens, la différence résidant dans les conditions d’installation des plaques, le choix des matériaux, etc. (Graitson et al., 2005; Sutherland, 2006). Les « plaques à reptiles » sont couramment utilisées pour le recensement et le suivi des différentes espèces de cette classe taxonomique, les reptiles affectionnant particulièrement la chaleur emmagasinée sous celles-ci (Graitson, 2003; Sutherland, 2006). Le métal est fréquemment employé comme matériau, souvent sous forme de tôles ondulées métalliques ou galvanisées, même si des bâches en toile foncées suffisent parfois... (Graitson et al., 2005; Willson et al., 2009) Elles sont régulièrement positionnées dans des conditions d’ensoleillement hétérogènes, offrant ainsi un gradient thermique au sol, ou même peintes en noir pour amplifier l’absorption de chaleur (Graitson et al., 2005). Les amphibiens quant à eux apprécient des conditions moins chaudes et moins sèches, aussi les « plaques à amphibiens » sont souvent faites de planches de bois ou autre matériau retenant l’humidité et sont régulièrement disposées aux alentours des sites de ponte (Graitson et al., 2005; Miaud, 2005; Willson et al., 2009). Ces plaques sont particulièrement efficaces pour le suivi d’espèces fouisseuses qui recherchent activement des abris, telles que le crapaud calamite par exemple (Willson et al., 2009).

Ces plaques refuges doivent être placées au sein de sites et de microbiotopes favorables aux espèces suivies, par exemple à proximité de mares pour des espèces dépendant d'habitats aquatiques pour leur reproduction (Graitson et al., 2005; Sutherland, 2006; Willson et al., 2009). Une attention particulière doit être portée à la densité, la hauteur et le type de végétation à proximité ainsi qu'à l'exposition, afin d'assurer que les espèces étudiées pourront profiter de ces abris (Graitson et al., 2005). Il faut éviter de poser les plaques tout contre le sol, mais plutôt laisser des creux ou des espaces entre celles-ci et le terrain, afin de permettre aux individus de s'y faufiler (Graitson et al., 2005).

Différentes dimensions des plaques refuges sont conseillées, afin de concilier facilité de manipulation et adéquation des abris à l'écologie des espèces étudiées (Graitson et al., 2005; Willson et al., 2009)

Il est recommandé d'installer ces abris artificiels quelques semaines, voire quelques mois, avant le début de l'étude, afin de laisser se développer divers microhabitats sous l'abri (Graitson et al., 2005; Willson et al., 2009). Les visites doivent être effectuées lors de la période d'activité des espèces étudiées et peuvent être étalées sur plusieurs années (Graitson et al., 2005; Willson et al., 2009; Draper et al., 2016). Afin que les résultats restent comparables, il est conseillé d'effectuer ces visites sous des conditions météorologiques similaires (même période de la journée/nuit, température minimum...) (Willson et al., 2009). Chaque plaque sera repositionnée avec soin après la visite de façon à minimiser la perturbation provoquée, certaines espèces évitant les plaques trop fréquemment dérangées (Sutherland, 2006; Willson et al., 2009).

Cette technique, peu coûteuse et facile d'application, permet d'assurer l'identification des espèces rencontrées (Willson et al., 2009). Ces abris artificiels sont particulièrement utiles pour étudier des espèces très discrètes (Graitson et al., 2005). Un des biais de cette technique concerne la détection de certaines espèces, qui peut être favorisée ou défavorisée par l'utilisation de ces plaques (Graitson et al., 2005). En effet, l'attractivité des plaques pour les différentes espèces est fonction de leurs préférences quant à leur environnement. De plus, certains auteurs soulignent qu'il est parfois difficile d'utiliser cette méthode dans des zones trop fréquentées (Miaud, 2005). Une autre critique peut être formulée face aux différences de comportement et de distribution entre les sexes d'une même espèce, résultant en un score très différent de mâles et de femelles observés/capturés (Sutherland, 2006). Ces biais soulignent l'importance de bien connaître la biologie de l'espèce ou des espèces étudiées avant de sélectionner la méthode de suivi souhaitée.

3. Capture-marquage-recapture

Une étude de capture-marquage-recapture, appliquée sur le long terme, se révèle efficace pour l'estimation de la taille de la population (Denton, 1992 cité par Titeux, 2000; Mettouris et al., 2016).

Différentes méthodes de marquage ont déjà été appliquées aux amphibiens : scission d'un doigt, application d'étiquettes distinctives, utilisation de marqueurs fluorescents ou de transpondeurs, installation de balises GPS, reconnaissance des chants... (Sinsch, 1992; Doody, 1995; Meyer et al.,

1997; Pellet et al., 2005; Sutherland, 2006; Elgue et al., 2014; Mettouris et al., 2016). Le marquage ne doit avoir aucun impact sur la santé et sur le comportement des individus afin de ne pas biaiser l'étude (Doody, 1995; Meyer et al., 1997; Ferner, 2007 cité par Elgue et al., 2014). Pour cette même raison, il doit également être applicable aux deux sexes (Meyer et al., 1997). Enfin, la méthode sélectionnée ne doit pas exiger un budget trop important ni un travail trop long (Doody, 1995; Sutherland, 2006) afin que l'étude soit réalisable. Toutes ces remarques semblent d'autant plus importantes lorsqu'il s'agit d'une espèce en danger (Kurashina et al., 2003), telle que *E. calamita*.

Le marquage photographique des individus semble répondre à tous ces critères (Doody, 1995; Elgue et al., 2014; Mettouris et al., 2016). De plus, cette méthode présente l'avantage d'être non invasive (Amiard et al., 2016; Mettouris et al., 2016). Le repérage des chants offre également certains de ces avantages, cependant cette méthode n'est pas toujours fiable, car toutes les cohortes n'ont pas la même probabilité de détection et certaines sont manquées (Pellet et al., 2005).

La reconnaissance photographique a déjà été appliquée plusieurs fois aux amphibiens dans le cadre d'étude de capture-marquage-recapture (Kurashina et al., 2003; Sutherland, 2006; Schlüpmann et al., 2009; Ribeiro et al., 2011; Elgue et al., 2014; Mettouris et al., 2016), y compris au crapaud calamite (Sinsch, 1992; Amiard et al., 2016). Afin que cette technique soit efficace, les individus doivent présenter des caractéristiques phénotypiques extérieures distinctives et permanentes afin de pouvoir être identifiés (Elgue et al., 2014; Sannolo et al., 2016). Le pattern ventral semble représenter une source de comparaison fiable entre les individus de crapauds calamites adultes (Meyer et al., 1997). Le pattern dorsal permet quant à lui de confirmer l'identification des individus, mais présente des limites lorsqu'il est utilisé comme seul support d'étude (Meyer et al., 1997). Il peut par contre se révéler précieux comme base de comparaison lorsqu'une incertitude subsiste (Meyer et al., 1997).

Dans la littérature, la comparaison photographique est soit effectuée manuellement (Meyer et al., 1997; Amiard et al., 2016; Mettouris et al., 2016; Sannolo et al., 2016) – ce qui demande un temps de travail considérable - soit à l'aide de programmes informatiques qui ont déjà été employés pour plusieurs espèces (Ribeiro et al., 2011; Elgue et al., 2014; Den Hartog et al., 2016; Mettouris et al., 2016; Sannolo et al., 2016; Matthé et al., 2017).

Pour tout logiciel de reconnaissance photographique, différents éléments doivent être pris en compte afin d'assurer que les photos prises soient exploitables, tels que la position de l'animal et la présence de saletés ou de blessures qui peuvent influencer la reconnaissance des individus (Matthé et al., 2017). De plus, l'angle de la photo, l'utilisation du flash, l'apparition de reflets et la mise au point peuvent également avoir un impact non négligeable (Matthé et al., 2017). Ainsi, il est important de mettre au point un montage fixant l'appareil photo et un protocole strict et rigoureux pour la prise de photos.

Deux programmes informatiques ont été retenus dans le cadre de ce travail : I3S et WILD-ID. Le premier programme a déjà été utilisé chez les amphibiens, qui ont l'avantage de présenter un pattern

reconnaissable sur leur peau (Ribeiro et al., 2011; Den Hartog et al., 2016; Sannolo et al., 2016). Ce logiciel offre plusieurs avantages : en plus d'être gratuit, il est assez robuste à des conditions de prise de photos non standards, toujours difficiles à respecter sur le terrain (Sannolo et al., 2016). Le logiciel WILD-ID a déjà été appliqué au pattern ventral et dorsal chez le triton alpestre et le triton commun et semble présenter des résultats satisfaisants (Mettouris et al., 2016). Un score de similarité est calculé pour chaque paire d'images et une vérification de l'utilisateur est requise à la fin de l'analyse. Cette action chronophage constitue pourtant une forme de vérification des résultats obtenus par ce programme (Mettouris et al., 2016).

Matériels & Méthodes

I. Objectifs

Ce travail de fin d'études présente trois objectifs relatifs aux actions en faveur d'une espèce cible, le crapaud calamite (*Epidalea calamita* (Laurenti, 1768)), aux méthodes de dénombrement proposées aux carriers dans le cadre du projet *Life in Quarries* et à la photo-identification des individus de l'espèce. Deux approches sont adoptées dans le cadre de ce travail : une **approche systématique** qui implique un suivi rigoureux et régulier développé pour ce travail et qui permet d'identifier les besoins et les exigences du crapaud calamite en termes d'environnement et une **approche pragmatique** qui reproduit les méthodes de suivi des actions conseillées aux carriers. La comparaison des deux approches permet d'évaluer le suivi effectué par les carriers et de les conseiller dans leur effort.

- Le premier objectif consiste à étudier une des actions proposées dans le cadre de la gestion dynamique de la biodiversité en faveur du crapaud calamite : le creusement de mares temporaires. Le succès de cette action en termes d'accueil pour le crapaud calamite est évalué en effectuant un suivi des paramètres biotiques et abiotiques qui les composent, afin de caractériser les mares pionnières des carrières fréquentées par l'espèce. Ce premier volet tente ainsi d'identifier les éléments à prendre en compte lors de la création de nouvelles mares.
- Le deuxième objectif consiste à examiner et à évaluer la pertinence de deux méthodes de dénombrement des crapauds calamites proposées aux carriers dans le cadre du projet LIFE :
 - la détermination de la présence de preuves de reproduction (pontes et/ou têtards)
 - le dénombrement des individus métamorphosés sous des plaques à amphibiens.

Pour ce faire, les résultats de ces méthodes seront confrontés à un recensement des individus de la population, effectué lors d'une session de capture. Ce chapitre de l'étude cherche ainsi à déterminer si la présence de preuves de reproduction (pontes et/ou têtards) et le dénombrement sous plaques fournissent de bons *proxys* de l'abondance du crapaud calamite.

- Le troisième objectif consiste en l'analyse critique d'une méthode de capture-marquage-recapture et d'une reconnaissance par photo-identification informatisée, appliquées au crapaud calamite.

Ce travail présente différents intérêts. Il examine la faisabilité et la représentativité des méthodes de suivi pragmatique proposées aux carriers dans le cadre du projet *Life in Quarries* en les confrontant à un suivi scientifique. Il permet également de localiser les zones d'occurrence de l'espèce au sein de trois carrières et de proposer une méthode d'évaluation quasi-exhaustive de populations répliquable notamment dans le cadre du suivi du projet LIFE. De plus, il cherche à évaluer l'importance des carrières en activité pour la conservation d'une espèce Natura 2000 en Région wallonne et il tente de caractériser l'état des populations de cette espèce en 2018.

II. Zone d'étude

1. Sites carriers

Trois sites carriers ont été sélectionnés parmi les neuf carrières participant au projet LIFE et abritant le crapaud calamite (**Annexe 4**). Plusieurs critères sont rentrés en compte dans cette sélection, afin de représenter au mieux la grande variabilité présente au sein des différents sites du projet : le type et la taille d'exploitation, la roche, la localisation ainsi que la possibilité d'accès au site lors des phases de terrain.

a. Carrière de Bierghes

La carrière de Bierghes ($x = 131257,5$; $y = 152912,1$ (Lambert 72)) se situe à proximité de Rebecq (Brabant Wallon) dans la région limoneuse et dans la zone bioclimatique des Plaines et Vallées Scaldisiennes (Géoportail de la Wallonie, sd; Life in Quarries, sd). Cette carrière d'environ 120 ha, exploitée par la société Carrières Unies de Porphyre (CUP), produit des granulats de porphyre, une roche magmatique présentant de grands cristaux englobés dans une matrice finement grenue (Carrières Unies de Porphyre, sd; CSTC, sd).

Le contexte paysager est majoritairement composé de grandes cultures et peu de sites d'intérêt pour la biodiversité sont répertoriés à proximité de la carrière (Life in Quarries, 2017a). Dans un rayon de 5 km, une partie du site Natura 2000 « Hallerbos (BE2400009) » est repris ainsi qu'un nombre limité de sites de grands intérêts biologiques (SGIBs) (Life in Quarries, 2017a). Les carrières de Quenast et Rebecq sont toutes les deux renseignées comme SGIBs pour la présence de *E. calamita* (Life in Quarries, 2017a). La carrière de Bierghes est quant à elle désignée comme SGIB pour la présence de *E. calamita* et de *Alytes obstetricans* (Laurenti, 1768) (Life in Quarries, 2017a).

b. Carrière du Clypot

La carrière du Clypot ($x = 124409,8$; $y = 140966,3$ (Lambert 72)) est située à Neufvilles (Hainaut) en région limoneuse, dans la zone bioclimatique des Plaines et Vallées Scaldisiennes (CCB Cementir Holding, 2016; Géoportail de la Wallonie, sd). Ce site est occupé par deux sociétés : Carrières de la Pierre Bleue Belge qui extrait le petit granit et CCB Cementir Holding qui produit des granulats de calcaire dur (CCB Cementir Holding, 2016). Les relevés effectués dans le cadre de ce TFE ont été réalisés dans la zone de la carrière gérée par CCB. Cette carrière d'environ 168 ha est désignée comme SGIB étant donné la présence d'espèces patrimoniales, telles que le crapaud calamite et l'orthétrum bleuissant (*Orthétrum coeruleum* (Fabricius, 1798)) (Life in Quarries, 2017b). Plusieurs carrières, actives (participant ou non au projet LIFE) ou désaffectées, se situent dans les environs directs (Soignies) et abritent également le crapaud calamite (Life in Quarries, 2017b).

c. Sablière Lannoy

La Sablière Lannoy ($x = 245548,4$; $y = 36975,5$ (Lambert 72)) se situe à Châtillon, dans la commune de Saint-Léger (Luxembourg), sur la deuxième cuesta⁽¹⁾ de Haute Lorraine, dans la région jurassique (Life in Quarries, 2017c). Cette exploitation familiale de sable d'environ 53 ha est adjacente à deux sites Natura 2000 : le « camp militaire de Lagland (BE24053) » et le site « Vallées de Laclaireau et du Rabais (BE34061) » (Life in Quarries, 2017c). Un nombre important de sites d'intérêt au niveau biodiversité est également renseigné à proximité : réserves naturelles domaniales (RND), réserves naturelles agréées (RNA) et sites de grand intérêt biologique (SGIBs) (Life in Quarries, 2017c).

2. Sélection des mares

Les inventaires et cartographies préexistants ont permis d'identifier les mares avant une confrontation avec la réalité au cours d'une première visite du terrain en mi-mars. Seules les mares accessibles du point de vue sécurité ont été sélectionnées. Celles-ci reprennent à la fois des mares apparues spontanément et des mares creusées dans le cadre du projet LIFE. Au total, 125 mares ont été sélectionnées. Toutefois, 16 mares n'ont plus jamais été observées en eau après ce premier passage qui avait été précédé par de fortes précipitations. Aussi, elles ont été exclues lors des analyses, ne correspondant plus à la définition d'une mare. Au total, 109 mares ont fait l'objet d'un relevé de différents paramètres biotiques et abiotiques afin de répondre aux différents objectifs fixés pour ce travail (39 mares à la carrière de Bierghes, 46 mares à la carrière du Clypot et 24 mares à la sablière Lannoy).

Toutes les données récoltées sur le terrain ont été encodées en ligne sur la plateforme OFFH proposée par le DEMNA selon le protocole décrit en **Annexe 5**.

III. Chapitre 1 : Caractérisation des mares temporaires

1. Questions ciblées

Différentes questions ont été formulées afin d'étudier et de caractériser les mares temporaires selon l'approche systématique et l'approche pragmatique.

La première partie des questions cherche à **caractériser la variabilité environnementale existante au sein des mares temporaires** et à **étudier les relations liant les différents types de paramètres relevés**.

- Comment s'articule la variabilité des paramètres environnementaux au sein des mares ?
- Quelles relations lient les variables abiotiques aux variables biotiques ?

⁽¹⁾ « Forme de relief dissymétrique dégagée dans une structure monoclinale de résistance contrastée, superposant une couche résistante à une couche tendre, l'abrupt constituant le *front de cuesta*, la partie en pente douce (couche résistante affleurant) le *revers*. » (Larousse, août-11-2018)

La deuxième partie entreprend d'**étudier l'effet de paramètres biotiques et abiotiques sur la présence de preuves de reproduction et sur l'abondance des pontes de crapauds calamites.**

- Quel paramètre a un impact sur la présence de preuves de reproduction du crapaud calamite ?
- Quel paramètre a un impact sur l'abondance des pontes du crapaud calamite ?

Ces questions permettent de tirer des conclusions quant à la construction de mares favorables pour le crapaud calamite.

2. Terrain

a. Fréquence des visites

Pour chaque site, cinq visites de terrain ont été organisées à raison d'une fois toutes les deux semaines, de mi-avril à mi-juin, au cours desquelles différents paramètres ont été suivis. Cette fréquence a été choisie de façon à respecter à la fois la biologie de l'espèce et le protocole de dénombrement proposé aux carriers, dans le temps imparti pour la réalisation de ce travail.

Les pontes de crapaud calamite se transforment en têtards en 7 à 10 jours (Beebee, 1983 cité par Bécart et al., 2007). Un passage toutes les deux semaines permet d'assurer que les pontes observées lors d'un passage ne correspondent pas à celles relevées lors du précédent. Ainsi, tout cas de double comptage de ponte devrait être évité et les comptages effectués à chaque passage sont bien indépendants les uns des autres. Dans le cadre des suivis, il est conseillé aux carriers de passer une fois par mois, d'avril à juillet. Ainsi, une fréquence d'une visite toutes les deux semaines permet d'accorder les deux périodes.

b. Paramètres environnementaux des mares

La sélection des paramètres pour la caractérisation des mares temporaires s'est à la fois inspirée des variables ayant une incidence sur la présence du crapaud calamite d'après la littérature (Banks et al., 1987; Barandun et al., 1997; Denton et al., 1997; Titeux, 2000; Bécart et al., 2007; Rannap et al., 2012; Laudelout, 2016) et du protocole proposé aux carriers pour le suivi des actions (Dubourg et al., 2018). Certains de ces paramètres ont été directement enregistrés sur le terrain, d'autres ont été obtenus *a posteriori* par calcul.

Certains **paramètres environnementaux** considérés comme fixes ont été relevés une unique fois lors de la période de terrain. D'autres ont été enregistrés de manière régulière à l'occasion des différentes visites de suivi. L'ensemble des paramètres environnementaux relevés est repris dans le **Tableau 1**, accompagné d'une description ainsi que de la méthode et de l'unité de mesure.

Tableau 1 : Paramètres environnementaux relevés à chaque mare.

Fréquence	Date de mesure	Paramètre relevé	Description	Mesure/Appareil de mesure	Type de variable	Unité
Ponctuelle (1 fois au cours de la phase de terrain)	Mi-avril	Origine de la mare	Mare créée dans le cadre du projet LIFE ou mare spontanée	Vérification dans les inventaires Confirmation sur le terrain	Qualitative, discontinue	/
	Mi-avril	Agglomérat	Réseau de mares (un groupement de mares adjacentes (distance inférieure à 0,5 m) et contiguës en période de fortes pluies) ou mare unique et plus isolée	Détermination sur le terrain	Qualitative, discontinue	/
	Mi-avril	Charroi	Présence de passage d'engins dans le secteur carrier où se situe la mare	Détermination sur le terrain	Qualitative, discontinue	/
	Mi-avril	Pente	Pourcentage de la berge en pentes douces (<15°)	Mesure à l'aide d'un clinomètre	Quantitative, continue	%
	Mi-juin	Recouvrement en végétation terrestre	Surface de la mare recouverte par la végétation terrestre	Estimation du recouvrement sur la surface de la mare	Semi-quantitative, discontinue (5 classes)	%
Régulière (à chaque visite)	5 passages, toutes les 2 semaines	Profondeur	Profondeur maximale de la mare	Mètre gradué (précision à 0,5 cm)	Quantitative, continue	cm
		Surface	Surface en eau	Estimation de la surface en eau	Quantitative, continue	m ²
		Recouvrement en végétation aquatique	Surface de la mare recouverte par la végétation aquatique	Estimation du recouvrement sur la surface de la mare	Semi-quantitative, discontinue (5 classes)	%
		pH		pHmètre	Quantitative, continue	/
		Oxygène dissous	Concentration en oxygène dissous	Sonde de Clark	Quantitative, continue	mg/L
		Température	Valeur liée à la mesure de la concentration en oxygène et nécessaire pour le calcul du pourcentage de saturation en oxygène dissous	Sonde de Clark	Quantitative, continue	°C

Le paramètre de présence de passage d'engins dans le secteur carrier (*Charroi*) ne signifie pas que les mares qui y sont identifiées sont systématiquement traversées par les engins : elles se situent simplement dans un secteur actif de la carrière.

Le recouvrement en végétation terrestre a été mesuré au moment du pic de développement de la végétation, c'est-à-dire au cours de la dernière visite de terrain, en mi-juin.

La végétation aquatique observée reprend les macrophytes (plantes aquatiques hydrophytes² et héliophytes³) ainsi que les algues visibles à l'œil nu.

La concentration en oxygène dissous et la température de l'eau ont été mesurées simultanément, les deux valeurs étant liées. De plus, l'heure et les conditions météorologiques, ayant un impact sur la quantité d'oxygène dissous, ont été notées.

c. Pontes et têtards

Des **données biologiques relatives au crapaud calamite** ont également été relevées pour chaque mare lors de chaque visite afin de relever la présence de l'espèce. Elles sont reprises dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Paramètres biologiques relatifs à *E. calamita*, relevés à chaque mare.

Fréquence	Date de mesure	Paramètre relevé	Type de variable	Description
Régulier (à chaque visite)	5 passages, toutes les 2 semaines	Présence de têtards	Présence/absence	Présence de têtards
		Abondance de pontes	Abondance	Nombre total de pontes observées au cours des visites
		Présence de pontes	Présence/absence	Présence ou absence de pontes

Afin de relever ces paramètres, le pourtour de chaque mare a été parcouru et les berges ont été examinées minutieusement. Lorsque plusieurs pontes sont présentes, elles s'organisent régulièrement en amas, ce qui complique les comptages. Dans ce cas, les chapelets d'œufs ont été délicatement écartés les uns des autres afin d'assurer le dénombrement exact des pontes.

² Désignation scientifique des plantes des eaux douces (Larousse, août-11-2018). L'appareil végétatif de ces plantes se situe dans ou à la surface de l'eau.

³ Plante des marais enracinée et bourgeonnant dans la vase du fond de l'eau, mais dont le sommet émerge à l'air libre (Larousse, août-11-2018).

3. Paramètres et variables

Le **Tableau 3** synthétise les variables environnementales caractérisant les mares utilisées pour les analyses, calculées ou dérivées à partir des paramètres mesurés sur le terrain.

Tableau 3 : Variables environnementales caractérisant les mares.

Paramètre relevé	Nom de la variable dérivée/calculée	Signification	Type de variable	Unité/Valeur
Origine de la mare	Origine	Mare creusée dans le cadre du projet LIFE	Qualitative, discontinue	Oui/Non
Agglomérat	Agglo	Assemblage de mares plus petites, formant un réseau de mares (un groupement de mares adjacentes (distance inférieure à 0,5 m))	Qualitative, discontinue	Oui/non
Charroi	Charroi	Présence de passage d'engins dans le secteur carrier où se situe la mare	Qualitative, discontinue	Oui/Non
Pente	Pente	Proportion de la berge en pentes douces (<15°)	Quantitative, continue	% ⁽⁴⁾
Recouvrement en végétation terrestre	VégéTerr	Estimation du recouvrement de la mare en végétation aquatique lors de la période où il y a le plus d'eau	Quantitative, continue	5 classes, % ⁽⁴⁾
Profondeur	ProfMoy	Moyenne des profondeurs enregistrées	Quantitative, continue	Cm
	ProfMax	Maximum des profondeurs enregistrées	Quantitative, continue	Cm
	ProfMin	Minimum des profondeurs enregistrées	Quantitative, continue	Cm
	DuréeEau	Nombre de visites consécutives où la mare est en eau.	Quantitative, continue	1 à 5
Surface	SurfMoy	Moyenne des surfaces enregistrées	Quantitative, continue	
	SurfMax	Maximum des surfaces enregistrées	Quantitative, continue	m ²
	SurfMin	Minimum des surfaces enregistrées	Quantitative, continue	m ²
Recouvrement en végétation aquatique	VégéAqua	Estimation du recouvrement de la mare en végétation terrestre lors du pic de végétation (juin)	Quantitative, continue	5 classes, % ⁽⁴⁾
pH	pHMoy	pH moyen	Quantitative, continue	/
Oxygène dissous	O2SatMoy	Taux moyen de saturation en oxygène	Quantitative, continue	% ⁽⁴⁾

Les **variables environnementales caractérisant les mares** dérivent de paramètres relevés lors des différentes visites :

- La moyenne, le maximum et le minimum des profondeurs et des surfaces mesurées ont été calculées ;
- La variable *DuréeEau*, dérivée des profondeurs mesurées à chaque visite, exprime le nombre de visites consécutives où la mare est en eau, et non pas une durée en jours ou en semaines qui aurait été incertaine, les mares ayant pu s'assécher d'une visite à l'autre (Barandun et al., 1997; Bécart et al., 2007). Une valeur de 5 signifie que la mare n'a jamais été observée asséchée ;

⁽⁴⁾ Les données en pourcentage et/ou en classes ont été transformées pour effectuer les analyses. Ces transformations sont présentées dans le sous-point « Transformation de données » de la partie « Résultats ».

- Le recouvrement en végétation aquatique (*VégéAqua*) correspond au recouvrement noté lors de la visite au cours de laquelle un maximum de mares étaient en eau. Cela correspond à la 4^e visite pour les sites de Bierghes (30/05/2018) et du Clypot (31/05/2018), et à la 5^e visite pour le site de Lannoy (15/06/2018) ;
- Le pH moyen a été calculé pour chaque mare sur base des différentes mesures effectuées. Étant donné que le pH présente une échelle logarithmique, chaque valeur de pH a été transformée en concentration en ions hydrogène selon la formule du pH (Bécart et al., 2007). La moyenne des concentrations a alors été calculée avant d’être reconvertie à l’aide du logarithme, afin d’obtenir le pH moyen ;
- Le taux moyen de saturation en oxygène (*O2SatMoy*) a été obtenu en transformant les concentrations en oxygène dissous (mg/L) en pourcentage de saturation (%) et en calculant la moyenne pour chaque visite. Le pourcentage de saturation en oxygène, qui exprime la quantité d’oxygène dissous présente dans l’eau par rapport à la quantité maximale d’oxygène dissous que peut contenir l’eau à une température donnée, permet une comparaison plus aisée des données dans le temps et dans l’espace (CVRB, 2005).

Les **variables biologiques relatives à *E. calamita***, la présence de têtards et/ou de pontes dans les mares sur la période d’étude (*Reproduction*) et le nombre total de pontes observées au cours des visites (*AbondPontes*) ont été dérivées des observations effectuées sur le terrain.

4. Analyses

Les **variables environnementales caractérisant les mares** contiennent à la fois des variables qualitatives et quantitatives (**Tableau 3**) :

- Les **variables environnementales qualitatives** reprennent l’origine de la mare (*Origine*), la répartition spatiale des mares (*Agglo*) et la présence de passage d’engins dans le secteur carrier où se situe la mare (*Charroi*) ;
- Les **variables environnementales quantitatives** retenues contiennent à la fois des composantes **abiotiques** qui caractérisent la morphologie des mares : la profondeur (maximum, minimum et moyenne), la surface (maximum, minimum et moyenne), le pH moyen et la proportion de pentes douces (%) ; et des composantes **biotiques**, qui sont des réponses aux conditions du milieu : le recouvrement en végétation aquatique et terrestre (%), le taux moyen de saturation en oxygène de l’eau (%) et la durée de mise en eau (nombre de visites).

Le **Tableau 4** résume les variables utilisées dans les différentes analyses effectuées afin de répondre aux objectifs et aux questions formulées. Le jeu de données présente trois mares de profondeur importante (appelées ci-après *outliers*), aussi le nombre de mares considéré pour chaque analyse est indiqué.

Tableau 4 : Synthèse des objectifs et analyses sélectionnées pour le Chapitre 1 en lien avec les variables utilisées. Légende : n = nombre de mares considéré.

Question	Analyses	Variables
Partie 1 : Étude de la variabilité des paramètres caractérisant les mares		
Caractérisation de la variabilité	Statistiques descriptives	Toutes les variables environnementales quantitatives (biotiques et abiotiques) [$n = 109, 106, 59$]
	Corrélations	Toutes les variables environnementales quantitatives (biotiques et abiotiques) [$n = 109$]
	Régressions multiples (stepwise)	Variables quantitatives abiotiques (x) Variables quantitatives biotiques (y) [$n = 109$]
Variables biotiques/abiotiques	ACP	Toutes les variables environnementales quantitatives (biotiques et abiotiques) [$n = 106$] <i>Variable « Reproduction » en symbologie</i>
Origine des mares		Toutes les variables environnementales quantitatives (biotiques et abiotiques) [$n = 106$] <i>Variable « Origine » en symbologie</i>
Partie 2 : Étude des paramètres influençant la présence de preuves de reproduction et l'abondance des pontes		
Présence de preuves de reproduction	Statistiques descriptives	Cfr. Partie 1
	ACP	
	Test khi ²	Variables qualitatives (<i>Origine, Agglo et Charroi</i>) Reproduction [$n = 109$]
Abondance des pontes	Régression multiple (stepwise)	Toutes les variables quantitatives environnementales (biotiques et abiotiques) (x) Abondance des pontes (y) [$n = 109, 106$]
	Régression linéaire	
	Test de Mood	Variables qualitatives (<i>Origine, Agglo et Charroi</i>) Abondance des pontes [$n = 109$]

Les différents résultats ont été produits à l'aide des logiciels R (package vegan), Minitab, Excel (Office 2013) et XLSTAT.

a. Partie 1 : Étude de la variabilité des paramètres caractérisant les mares

Dans un premier temps, les différentes variables abiotiques et biotiques ont fait l'objet de **statistiques descriptives** afin d'appréhender leur distribution. Des boxplots ont été produits afin de représenter visuellement la distribution des valeurs obtenues pour chaque variable quantitative abiotique et biotique caractérisant les mares.

La biologie étant une réponse aux composantes environnementales, les relations liant les paramètres biotiques aux paramètres abiotiques ont tout d'abord été étudiées. Les **corrélations** entre les variables quantitatives ont été analysées sous la forme d'un tableau des corrélations. Cette analyse a été complétée par des **régressions multiples (stepwise)** des variables quantitatives abiotiques (x) sur chaque variable quantitative biotique (y) séparément.

Ensuite, une **analyse des composantes principales (ACP)** a été effectuée afin d'étudier la variabilité au sein des mares.

b. Partie 2 : Étude des paramètres influençant la présence de preuves de reproduction et l'abondance des pontes

La relation entre les variables biotiques et abiotiques et la présence de preuves de reproduction a été étudiée par le biais des analyses effectuées dans la partie précédente, la variable *Reproduction* ayant été utilisée pour la symbologie de l'ACP. L'effet de chaque variable qualitative - *Origine*, *Agglo* et *Charroi* - sur la présence de preuves de reproduction du crapaud calamite a été analysé à l'aide de **tests d'indépendance χ^2 de Pearson**, effectués entre chaque paramètre qualitatif respectivement et la présence de preuves de reproduction.

Afin d'identifier les paramètres influençant l'abondance des pontes, deux types d'analyses ont été effectuées. D'une part, une **régression multiple (stepwise)** des variables quantitatives biotiques et abiotiques (x) sur l'abondance des pontes (y) a été effectuée. D'autre part, des **tests de Mood (test des médianes)** ont été effectués afin de déterminer si chaque variable qualitative respectivement a une influence sur l'abondance des pontes.

IV. Chapitre 2 : Évaluation des méthodes de dénombrement

1. Questions ciblées

Différentes questions ont été formulées afin d'évaluer les **méthodes de dénombrement** proposées aux carrières dans le cadre du suivi du crapaud calamite : la présence de preuves de reproduction (ponte et/ou têtards) et le comptage des individus adultes sous des plaques à amphibiens.

Ces méthodes ont été appliquées selon **deux approches** :

- une **approche systématique** qui représente un suivi rigoureux et régulier, développé dans le cadre de ce travail ;
- une **approche pragmatique** qui requiert une visite de terrain par mois et qui reproduit le suivi proposé aux carrières.

Ce chapitre cherche à **évaluer la représentativité des différentes méthodes, selon les deux approches**, en les comparant aux résultats de recensements obtenus par capture des individus adultes.

- Quelle méthode fournit des résultats s'approchant au plus des conclusions tirées des recensements et semble la plus pertinente?
- Quelles conclusions ces questions permettent-elles de tirer quant aux méthodes de dénombrement du crapaud calamite à appliquer sur le terrain?

2. Terrain

a. Pontes et têtards

Les modalités de relevés des abondances de pontes et de la présence des têtards ont été présentées dans le Chapitre 1.

b. Plaques

Une « zone à plaques » correspond à un secteur distinct présentant des mares temporaires, respectant la division spatiale du site extractif employée par les carriers : paliers d'exploitation, terril ou zone de stock, mottes, etc. Dans chaque carrière, un maximum de cinq zones à plaques a été déterminé. Celles-ci ont été délimitées sur base des inventaires et sur le terrain. Cette définition et méthodologie se doivent d'être pratiques de façon à pouvoir être proposée et facilement appliquées par les carriers.

Au sein de ces espaces, des plaques de dimension 50 cm sur 80 cm découpées dans des bandes transporteuses en caoutchouc ont été disposées. Un maximum de quatre plaques ont été déposées dans chaque zone à plaques. Au total, chaque carrière contient au maximum 20 plaques.

De façon à maximiser la probabilité d'utilisation des plaques par le crapaud calamite, celles-ci ont été posées dans un milieu ouvert, composé d'une végétation basse ou rase (Graitson et al., 2005). De plus, afin qu'elles ne constituent pas un piège pour l'espèce, aucune des plaques n'a été posée sur et aux abords directs des pistes. La répartition des plaques au sein de chaque « zone à plaques » respecte les règles suivantes :

- une plaque par deux mares si celles-ci ont une superficie inférieure à 25 m² ;
- quatre plaques par réseau de mare si celles-ci ont une superficie supérieure à 25 m².

Ainsi, pour les trois carrières sélectionnées, les plaques se répartissent telles que (**Annexe 6**) :

- carrière de Bierghes : cinq zones à plaques avec un total de 20 plaques ;
- carrière du Clypot : cinq zones à plaques avec un total de 18 plaques ;
- sablière Lannoy : quatre zones à plaques avec un total de 12 plaques.

Les plaques ont été relevées selon le même calendrier que le Chapitre 1, soit toutes les deux semaines, pour un total de 5 visites. Le suivi des plaques consiste à compter le nombre de crapauds calamites métamorphosés, c'est-à-dire juvéniles ou adultes, présents sous celles-ci.

c. Recensement

Une campagne de recensement a été entreprise afin de fournir une estimation aussi précise que possible, dans le temps imparti, du nombre d'adultes présents au sein de chacune des carrières sélectionnées.

i. Délimitation des sous-zones

Cette activité a été effectuée dans différentes « sous-zones » délimitées à l'échelle de chaque carrière. Celles-ci correspondent à :

- des **secteurs distincts et isolés** les uns des autres : des paliers d'exploitation différents, des secteurs séparés par un relief topographique provoqué par une barrière naturelle ou par l'exploitation (terril ou zone de stock, excavation...), etc. La distance séparant ces secteurs revêt une moindre importance, étant donné la forte capacité de dispersion du crapaud calamite (Sinsch, 1997; Leskovar et al., 2005; Sinsch et al., 2012)

- des espaces où les caractéristiques environnementales présentent une certaine **homogénéité** : dans la mesure du possible, le relief, le substrat superficiel et la végétation herbacée forment un milieu cohérent
- des lieux d'**habitat avéré** : la présence du crapaud calamite y a été détectée lors des inventaires du projet LIFE.

Ces sous-zones ont d'abord été identifiées par analyse cartographique et leur existence a ensuite été modifiée ou confirmée par une visite sur le terrain. Cette approche « sous-zones au sein de carrières » a été adoptée afin de permettre une prospection efficace d'un milieu aussi étendu qu'une carrière en concentrant le travail dans des endroits pertinents. De plus, cette méthode pourrait également servir de base pour l'observation des déplacements du crapaud calamite au sein de la population présente dans la carrière, renseignement intéressant pour une espèce aussi mobile.

ii. Phase de capture

La capture des individus a été effectuée le premier beau jour après de fortes pluies de mi-avril à juin, sous des températures nocturnes supérieures à 10°C, 30 minutes après le coucher du soleil (Blankenhorn, 1972; Amiard et al., 2016). Les recensements ont été effectués à la carrière de Bierghes le 17/04/2018, à la carrière du Clypot le 03/05/2018 et à la sablière Lannoy le 01/05/2018.

Au sein de chacune de ces sous-zones, les individus rencontrés le long d'un parcours reliant les différentes mares ont été capturés et contenus dans des seaux. De cette façon, les abords des mares aussi bien que les endroits plus éloignés ont été prospectés. Ce parcours a donc été établi sur l'entièreté de la sous-zone, afin d'assurer que tous les individus actifs ou présents au moment du passage aient une probabilité non nulle d'être capturés. Le sexe de chaque individu a été déterminé sur base de critères morphologiques : les mâles possèdent un sac vocal rouge-bleu ainsi que des callosités aux trois premiers doigts des pattes antérieures (Barlas, 2014; Raïne Natagora, 2018). Certains individus ont été répertoriés comme « Indéterminés », la détermination du sexe étant trop incertaine.

L'activité ayant lieu en carrière, où l'accès est limité dans le temps pour une question de sécurité, la phase de capture a duré environ 3 heures dans chaque site. L'effort déployé dans chacune des sous-zones s'est traduit en minutes-homme passées à la recherche des individus, et est fonction de la distance à parcourir au sein de celles-ci. Les trois durées sont : 30 minutes-homme; 60 minutes-homme; 90 minutes-homme. Le recensement a été effectué par une équipe constituée de 2 à 4 personnes équipées de lampes torches, de gants, d'épuisettes et de seaux. Ainsi, une sous-zone nécessitant une prospection de 60 minutes-homme a été parcourue pendant :

- 30 minutes si l'équipe était composée de 2 personnes ;
- 20 minutes si l'équipe était composée de 3 personnes ;
- 15 minutes si l'équipe était composée de 4 personnes.

Le parcours effectué au cours de chaque recensement recouvre entre 5% et 10% de l'aire totale de la sous-zone dans laquelle il a été effectué.

iii. Précautions particulières

Le crapaud calamite étant une espèce protégée, une demande de dérogation a été formulée auprès du Département de la Nature et des Forêts du Service public de Wallonie dans un but de recherche et de suivi scientifiques afin de pouvoir effectuer ce travail de fin d'études.

Un protocole d'hygiène strict a été suivi. Le matériel a été nettoyé à l'aide de *Virkon*[®], afin d'éviter tout risque de propagation de maladies telles que la chytridiomycose provoquée par *Batrachochytrium dendrobatidis* (Dejean et al., 2010; Miaud, 2014). Une solution de *Virkon*[®] à 1% a été préparée pour chaque session de capture et le matériel a été nettoyé entre chaque sous-zone et entre chaque session de terrain.

3. Paramètres et variables

Le **Tableau 5** présente les différentes variables biologiques relatives au crapaud calamite obtenues d'après les paramètres relevés sur le terrain. Les variables tirées de l'approche systématique sont nommées sans suffixe alors que celles provenant de l'approche pragmatique voient leur nom de variable complété par « _Carrier ».

Tableau 5 : Variables biologiques relatives à *E. calamita* et aux méthodes de dénombrement.

Méthode	Nom de la variable	Type de données	Signification
Présence de têtards + Abondance des pontes	Nb mares avec reproduction		Nombre de mares avec preuves de reproduction dans la sous-zone
	Nb mares avec reproduction_carrier		Nombre de mares avec preuves de reproduction relevées dans la sous-zone lors des 3 visites effectuées par le carrier
Plaques	Plaques	Abondance	Nombre total d'individus observés sous les plaques de la sous-zone
	Plaques_carrier	Abondance	Nombre total d'individus observés sous les plaques dans la sous-zone pour les 3 visites effectuées par le carrier
Recensement	Recensement	Abondance	Nombre total d'individus recensés dans la sous-zone
	Recensement_Mâles	Abondance	Nombre total d'individus mâles recensés dans la sous-zone
	Recensement_Femelles	Abondance	Nombre total d'individus femelles recensés dans la sous-zone

4. Analyses

Le **Tableau 6** reprend les variables utilisées dans les différentes analyses effectuées pour répondre aux questions posées. Les différents résultats ont été produits à l'aide du logiciel R.

Tableau 6 : Synthèse des objectifs et analyses sélectionnées pour le Chapitre 2 en lien avec les variables utilisées.

Analyses	Variables
Représentation graphique	Nb mares avec preuves de reproduction, Nb mares avec preuves de reproduction_carrier, Plaques, Plaques_carrier (x)
Régressions linéaires	Recensement (y) / Recensement_Mâles (y) / Recensement_Femelles (y)

Afin d'évaluer la représentativité des méthodes de dénombrement, les relations entre chaque variable tirée de ces méthodes respectivement et les résultats de recensement ont été étudiés analytiquement et graphiquement. Des **régressions linéaires** des variables tirées des différentes méthodes de dénombrement selon les deux approches (x) sur le nombre total d'adultes recensés (y) ont été effectuées. Le recensement a été utilisé comme variable expliquée (y) et non pas comme variable explicative (x), car l'objectif de cette analyse est d'obtenir un coefficient facilement et directement utilisable par les carriers. Ainsi, le coefficient de la régression correspond au facteur multiplicatif à appliquer au résultat de la méthode de dénombrement pour estimer le nombre d'adultes présents dans la sous-zone.

L'origine a été fixée à (0 : 0) afin qu'une absence de crapaud/ponte/têtards dans la sous-zone ne permette pas d'estimer un nombre d'individus adultes. Le coefficient angulaire de la régression renseigne ici sur le rapport entre les deux variables (x et y). Ces régressions ont été **représentées graphiquement**. La droite de pente 1 permet d'identifier le sens de l'approximation effectuée par le paramètre biologique : si la droite de régression se situe en dessous de celle-ci, la relation (1 : 1) surestime la situation réelle.

De façon à approfondir la question, chaque variable tirée des méthodes de dénombrement selon les deux approches (x) a également été confrontée aux résultats des recensements des individus selon les sexes (mâles et femelles) (y) dans le cadre de régressions linéaires. Le cas des individus « indéterminés » étant plus délicat, leur effectif n'a pas été pris en compte.

V. Chapitre 3 : Critique de l'utilisation des programmes de reconnaissance photographique appliquée au crapaud calamite.

1. Questions ciblées

Ce dernier chapitre présente l'ébauche d'une approche par capture-marquage-recapture (CMR), et dégage des perspectives quant à l'utilisation de cette méthode pour estimer l'effectif des populations de crapaud calamite au sein de sites carriers.

Le marquage est réalisé par photographie et est associé à une photo-identification informatisée des individus. Ce chapitre propose des critiques quant à l'utilisation de ces méthodes et à son application au crapaud calamite.

2. Capture-Marquage-Recapture

Les différentes sessions de CMR ont été effectuées le premier beau jour après de fortes pluies de mi-avril à juin, sous des températures nocturnes supérieures à 10°C, 30 minutes après le coucher du soleil (Blankenhorn, 1972; Amiard et al., 2016). La durée de la visite a été fonction du temps d'accès autorisé au sein des carrières, soit environ 3 heures. Pour chaque carrière, un épisode de capture et deux épisodes de recapture ont été prévus afin d'effectuer le CMR, durant lesquels entre 3 et 5 personnes ont travaillé

sur le terrain. Le protocole d'hygiène décrit au Chapitre 2 a été appliqué tout au long de l'étude, pour chaque étape du CMR.

a. Capture

La capture correspond au recensement décrit dans le Chapitre 2. Tous les individus capturés ont fait l'objet d'un marquage photographique, présenté ci-après.

b. Marquage

La phase de marquage consiste à photographier les individus capturés après les avoir séchés légèrement afin d'éliminer toute saleté risquant de compromettre les photos. Le temps nécessaire au marquage des individus n'est pas compris dans le temps (minutes-homme) consacré à chaque sous-zone.

Un montage en bois (20 cm x 24 cm (base) ; 24 cm (hauteur)) a été réalisé afin d'obtenir des photos prises dans des conditions similaires. L'appareil photo (Panasonic DMC-TZ25) a ainsi toujours été positionné de la même façon et les paramètres sont restés inchangés (angle identique, zoom optique 1x à 0.03m, flash désactivé). Les individus ont été successivement déposés dans une boîte de Pétri (90 mm x 14 mm), placée dans la caisse en bois, où ont été également introduits l'objectif de l'appareil photo ainsi qu'une lampe de poche (lampe de poche stylo Brennenstuhl, LED HL SB 71 MC, 5 lm) (**Annexe 7**). Ce dispositif permet d'éviter l'utilisation du flash qui risque de perturber les individus. Deux photos du patron ventral et du patron dorsal de chaque individu ont été effectuées, de façon à réduire les risques de photos inutilisables lors de leur analyse (floues par exemple).

Les individus ont ensuite été relâchés en un ou deux points définis aléatoirement au sein de la sous-zone, afin d'assurer un mélange au sein de la population. Il faut noter que cette technique a un impact sur la répartition spatiale des mâles chanteurs (Titeux, 2000). Cependant l'objectif de ce travail ne consiste pas à étudier ce volet de la biologie du crapaud calamite.

c. Recapture

La phase de recapture a été effectuée dans les mêmes conditions que la phase de capture, en parcourant cette fois des transects de 3 mètres de large sur 50 mètres de long, disposés aléatoirement. Une disposition aléatoire permet d'éviter une trap-dépendance négative, où certains individus ont une probabilité plus faible d'être capturés (par exemple en évitant systématiquement de passer à un endroit donné) ainsi qu'une trap-dépendance positive, où certains individus ont une probabilité plus importante d'être repérés (par exemple en repassant sur le même transect) (Besnard A., docteur en biologie au CEFÉ/CNRS Montpellier, com. pers., 14/05/2018). De plus, cette précaution quant à la disposition des transects permet d'éviter tout problème lié à une modification de comportement dû à la capacité d'apprentissage à court terme du crapaud calamite (Beebee 1983, cité par Titeux, 2000) ainsi que tout problème lié à un comportement trop « territorial » des individus de crapaud calamite (afin d'éviter que tous les individus capturés au deuxième passage soient des individus déjà marqués et capturés la première fois).

La disposition aléatoire des transects a été réalisée sur le terrain à l'aide d'un dé, d'une table de nombres aléatoires et d'une figure indiquant six directions. Chaque opérateur de terrain a été muni du matériel adéquat ainsi que d'un récapitulatif du protocole afin de déterminer le point de départ et la direction des transects à effectuer (**Annexe 8**). Il s'est ensuite vu attribuer un emplacement, correspondant à un point de départ, déterminé aléatoirement au sein de chaque sous-zone. À partir de ce point, l'orientation du premier transect a été déterminée à l'aide d'un lancer de dé, chaque chiffre correspondant à une direction particulière. Tous les individus rencontrés ont été capturés le long de ce transect. À la fin du transect, deux nouveaux lancers de dé déterminent une durée de parcours à l'aide de la table de nombres aléatoires et un troisième décide de la direction de ce nouveau trajet, durant lequel aucun individu n'est capturé. L'arrêt au terme de ce trajet correspond à un nouveau point de départ de transect de capture et un nouveau lancer de dé permet de déterminer la direction empruntée. Cette action est répétée autant de fois que nécessaire, en fonction du nombre de transects à effectuer.

Le nombre de transects est dépendant de la durée de prospection lors de la phase de capture : 10 transects pour les sous-zones prospectées pendant 30 minutes-homme; 20 transects pour les 60 minutes-homme; 30 transects pour les 90 minutes-homme. Chaque transect a été prospecté pendant 3 minutes. Ainsi, la durée de prospection totale de chaque sous-zone est identique à celle octroyée pour la phase de capture.

Le degré de couverture des transects représente environ 15 à 30% de la sous-zone dans laquelle ils sont effectués. Ce taux est similaire d'une phase de recapture à l'autre au sein d'une même sous-zone.

Les individus capturés au cours des phases de recaptures ont également fait l'objet d'un « marquage » photographique afin de permettre la comparaison des photos *a posteriori*, à l'aide de logiciels de reconnaissance.

3. Photo-identification informatisée

Les photos du pattern ventral ont été exploitées principalement (**Annexe 9a**). Le patron dorsal permet de s'assurer de l'identité de l'individu dans le cas où des doutes subsistent, toutefois les photos y correspondant n'ont pas dû être utilisées. Deux programmes informatiques ont été retenus pour la reconnaissance photographique : Wild-ID et I3S Pattern +.

Le programme **Wild-ID** analyse les photos recadrées sur la région d'intérêt – c'est-à-dire le ventre de l'individu - en dégagant des points de référence de la photo (Bolger et al., 2011). Pour chaque photo successivement, le logiciel compare les points de référence, qu'il détermine lui-même, de la photo concernée avec ceux des photos de la base de données. Il calcule ainsi pour chaque paire de photos un score de 0 à 1 qui traduit la similarité entre les éléments de référence des deux photos. Au plus le score est élevé, au plus l'adéquation est satisfaisante, un score de 1 étant obtenu lorsqu'une photo est comparée à elle-même. Un classement est alors effectué d'après les scores obtenus. Ce logiciel propose uniquement un « *mode manuel* », c'est-à-dire que l'avis de l'utilisateur est requis : les 20 photos dont

les scores occupent les 20 premières places de ce classement sont proposées à l'utilisateur, qui décide ou non s'il s'agit du même individu.

Le logiciel **Pattern + (I3S)** traite les photos en différenciant l'arrière-plan du premier plan d'une région d'intérêt (Den Hartog et al., 2016). Pour ce faire, l'utilisateur doit délimiter cette région, qui correspond au ventre du crapaud calamite, puis sélectionner des pixels appartenant au premier plan (les taches noires du ventre) et à l'arrière-plan (le fond blanc crème du ventre). Cette sélection permet une classification des pixels de façon à entraîner le logiciel à reconnaître les deux plans et à distinguer ensuite des éléments de référence du patron ventral. Le logiciel produit alors pour chaque photo une *empreinte*, c'est-à-dire une copie du patron ventral présentant ces éléments de référence (**Annexe 9c et d**). L'analyse photographique consiste à rechercher les correspondances entre les empreintes des photos, d'après la position et la taille des éléments de référence. Le logiciel calcule alors un score : au plus les empreintes sont dissemblables, au plus celui-ci est élevé. Un score de 0, limite inférieure du scoring, est obtenu lorsqu'une photo est comparée à elle-même. Comme pour le logiciel précédent, un classement est ensuite effectué sur base de ce score. Deux modes opératoires sont alors proposés à l'utilisateur. Il peut soit comparer chaque photo, successivement, à la base de données complète : il obtient, pour chaque photo, des informations quant au nombre d'éléments de référence identifiés comme identiques. L'utilisateur est alors en charge de décider s'il s'agit ou non du même individu (« *mode manuel* »). L'autre option consiste à comparer deux bases de données d'empreintes, auquel cas le classement des scores est enregistré dans un fichier externe : ce dernier n'informe pas si un match a été identifié, mais seulement sur le score de chaque paire de photos comparées (« *mode automatique* »). Sur base de ces résultats, l'utilisateur peut alors appliquer la première marche à suivre (« *mode manuel* ») sur les photos qui l'intéressent afin d'obtenir des informations quant aux correspondances entre les éléments de référence.

4. Analyses

a. Capture-Marquage-Recapture

La méthode de **capture-marquage-recapture** n'a pas pu être menée jusqu'au bout, principalement car les conditions météorologiques ont été trop sèches en cette période (Institut Royal Météorologique, 2018) et le temps imparti pour la phase de terrain trop court. Les recaptures qui ont pu être réalisées ont été effectuées les 28/05/2018 et 08/06/2018 à la carrière de Bierghes, le 25/05/2018 à la carrière du Clypot et les 21/05/2018 et 31/05/2018 à la sablière Lannoy.

L'élaboration d'un protocole de capture et de recapture et l'application de celui-ci sur le terrain ont néanmoins permis d'identifier certaines critiques quant à l'utilisation de cette méthode. De plus, les phases de terrain qui ont pu être effectuées ont fourni des informations utiles pour ce travail : d'une part, la phase de capture (ou « recensement ») a servi de base de comparaison pour les méthodes de dénombrement proposées aux carriers (Chapitre 2), et d'autre part, les phases de capture et de recapture

ont permis de tester l'utilisation de logiciels de reconnaissance photographique sur le pattern ventral du crapaud calamite.

b. Photo-identification informatisée

Les logiciels Wild-ID et I3S Pattern + ont été testés sur les photos produites lors des séances de capture et de recapture. De façon à rendre la suite du travail plus cohérente, différents termes spécifiques à la photo-identification et à l'utilisation des logiciels ont été définis :

- ***Paire*** = ensemble de deux photos analysées l'une par rapport à l'autre ;
- ***Binôme*** = terme qui qualifie une des photos de la paire ;
- ***Match*** = correspondance entre les photos d'une paire d'après un logiciel. Les deux photos représenteraient donc le même individu ;
- ***Empreinte*** = copie du patron ventral créée à partir de la délimitation du ventre de l'individu et de la sélection de pixels du premier plan et de l'arrière-plan (**Annexe 9c**). Cette copie reprend les éléments de référence et leurs informations (taille, position). Ce terme est utilisé pour le logiciel I3S Pattern + ;
- ***Mode manuel*** = mode opératoire du logiciel qui demande une confirmation des matchs par l'utilisateur ;
- ***Mode automatique*** = mode opératoire du logiciel qui effectue automatiquement la comparaison des photos et qui calcule les scores des paires, sans déterminer s'il s'agit du même individu.
- ***Score*** = résultat obtenu lors de la comparaison de deux photos formant une paire, qui correspond à un coefficient de similarité calculé par chaque logiciel, selon son mode de fonctionnement.
- ***Classement des scores*** = pour chaque photo d'une base de données, tri des scores obtenus pour chaque paire possible par ordre de similitude.

Les photos ont d'abord été triées en fonction du sexe des individus, déterminé sur le terrain. Trois catégories ont été ainsi créées : « Mâles », « Femelles » et « Indéterminés », cette dernière correspondant aux individus pour lesquels un doute a subsisté au moment de la détermination. Les photos ont ensuite été **préparées** de façon à être utilisables par les logiciels (**Annexe 9**). Pour le logiciel Wild-ID, différentes modifications (recadrage, couleur, etc.) ont été effectuées sur deux photos appartenant au même individu avant d'utiliser le logiciel de façon à identifier la préparation permettant l'analyse la plus précise. Le meilleur résultat a été obtenu pour la photo en couleur, recadrée en rond autour du patron ventral (**Annexe 9b**). Toutes les photos ont donc fait l'objet de cette transformation, à l'aide du logiciel ImageJ. Pour le programme I3S, les empreintes de chaque individu ont été générées (**Annexe 9c**). Aucun autre paramètre des photos n'a été modifié (couleur, luminosité, etc.).

Ensuite, **chaque logiciel** a été utilisé **séparément** sur différentes photos de façon à évaluer leur efficacité à identifier deux individus identiques et deux individus différents. La comparaison des **individus différents** a été effectuée selon deux scénarios :

- (a) Deux individus du même sexe (femelles) provenant de la même sous-zone et capturés à la même date ont été comparés. Ces individus sont différents, car tous les individus ont été relâchés en même temps, après photographie de chacun d’entre eux ;
- (b) Deux individus du même sexe (mâles) provenant de deux carrières différentes ont été comparés.

L’analyse des **individus identiques** a été appliquée sur deux individus dont la détermination était certaine:

- (c) Un individu (mâle) ne possédant pas de 3^e et de 4^e doigts à la patte avant gauche a été rencontré au cours de deux séances différentes dans la carrière de Bierghes ;
- (d) Un individu (femelle) a été photographié deux fois au cours de la même séance de terrain dans la carrière du Clypot.

L’analyse de la performance des logiciels a porté à la fois sur les **scores** des paires identifiées dans les différents scénarios et sur le **classement de ces scores**. Pour ce faire, pour chaque sexe, une base de données fictive a été composée de 18 photos d’individus différents choisis aléatoirement. La base de données « Mâles » a été complétée des deux photos formant la paire relative au scénario (b). La même démarche a été employée pour les paires de photos du scénario (c). Les paires de photos des scénarios (a) et (d) ont, à leur tour, complété la base de données « Femelles ». Au total, les quatre bases de données ainsi reconstituées sont composées de 20 photos, et chacune a fait l’objet d’une analyse à l’aide des deux programmes informatiques. Le logiciel Wild-ID a été utilisé en *mode manuel* alors que I3S Pattern + a été employé en *mode automatique*. Le score de la paire correspondant au scénario étudié a été relevé, ainsi que son classement.

Enfin, **l’ensemble des photos** des différentes phases effectuées dans chaque carrière a été analysé en combinant l’un des logiciels à une vérification par l’utilisateur (utilisation du logiciel en *mode manuel*), de façon à identifier des matchs potentiels. Pour ce faire, pour chaque site, chaque dossier de photos de capture d’individus d’un sexe a été comparé aux dossiers de photos des recaptures d’individus du même sexe, de façon à n’avoir aucune comparaison de photos prises le même jour. Les photos d’individus de sexe indéterminé ont été comparées à la fois aux mâles et aux femelles. Un schéma synthétique des comparaisons effectuées pour deux cas servant d’exemple est présenté en **Annexe 10**. Le choix du logiciel s’est porté sur Wild-ID, car son *mode manuel* est plus facilement et rapidement utilisable. Les résultats obtenus ont été résumés et utilisés de façon à déterminer le nombre d’individus différents de crapauds calamites rencontrés au sein de chaque carrière.

Résultats

I. Transformation de données

Les médianes de classes ont été retenues pour les variables présentant des classes (*VégéTerr* et *VégéAqua*). Les données exprimées en pourcentage (*VégéTerr*, *VégéAqua*, *Pente* et *O2SatMoy*) ont subi une transformation angulaire (Legendre et al., 1988). Les variables abiotiques et biotiques ont été standardisées (centrées et réduites) lorsque l'analyse effectuée requérait cette transformation.

II. Chapitre 1 : Caractérisation des mares temporaires

1. Partie 1 : Étude de la variabilité des paramètres caractérisant les mares

La **Figure 1** montre une représentation graphique (boxplots) de la distribution des valeurs obtenues pour chaque variable quantitative abiotique et biotique caractérisant les mares. Les **Figures 1a1, a2 et b** permettent d'étudier cette distribution pour le jeu de données reprenant l'ensemble des mares ($n = 109$) et de comparer les observations avec la distribution du jeu de données qui exclut les mares de profondeur trop importante ($n = 106$). L'observation de ces figures montre :

- une gamme de valeurs de *ProfMoy* beaucoup plus étendue pour la distribution reprenant l'ensemble des mares ($n = 109$) (**Figures 1a1 et a2**). Cette figure confirme l'existence de 3 *outliers*, c'est-à-dire des mares de profondeur très importante (>5 m).
- une gamme de valeurs de *SurfMoy* plus réduite pour la distribution excluant ces *outliers* (**Figure 1b**). Cette réduction reste plus faible que celle observée pour la variable *ProfMoy*.

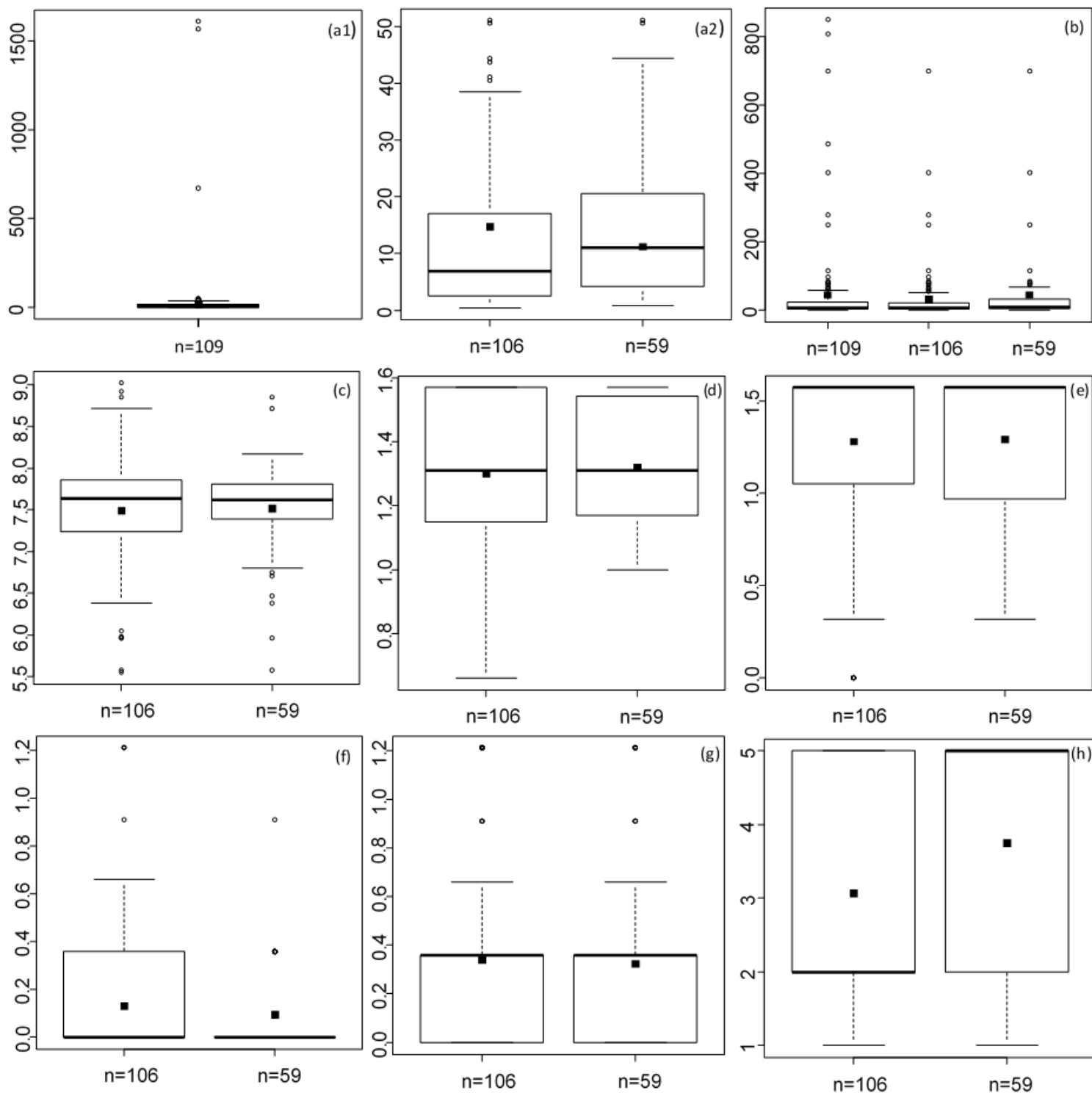


Figure 1 : Boxplots représentant la distribution des valeurs obtenues pour chaque variable quantitative abiotique et biotique caractérisant les mares à partir du jeu de données reprenant toutes les mares ($n = 109$) ; excluant les mares de profondeur supérieure à 0,5 mètre, appelées *outliers* ($n = 106$) ; comprenant uniquement les mares ayant présenté des preuves de reproduction ($n = 59$). Les graphiques présentent : la profondeur moyenne (a) ; cm pour $n = 109$ (a1) et $n = 106$ et $n = 59$ (a2) ; et présentent pour chaque jeu de données la surface moyenne (b) ; m²) ; le pH moyen (c) ; sans unité) ; le taux moyen de saturation en oxygène ((d) ; %) ; la proportion de berges présentant des pentes faibles ((e) ; %) ; le recouvrement en végétation terrestre ((f) ; %) ; le recouvrement en végétation aquatique ((g) ; %) ; la durée de mise en eau des mares ((h) ; %). Légende : n = nombre de mares ; la ligne horizontale inférieure du boxplot représente le premier quartile, la ligne horizontale centrale la médiane, la ligne supérieure le 3^e quartile ; le carré noir représente la moyenne de chaque distribution ; les ronds vides représentent les valeurs extrêmes observées.

Les variables abiotiques et biotiques caractérisant les mares présentent de nombreuses relations réciproques, rendant la variabilité difficile à cerner de prime abord (**Tableau 7**). Cette constatation justifie l'utilisation de l'analyse des composantes principales présentées ci-après. Les paramètres de taille de la mare (surface et profondeur) sont corrélés significativement entre eux. Les variables biotiques (*VégéTerr*, *VégéAqua*, *DuréeEau* et *O2SatMoy*) sont également corrélées significativement entre elles, à l'exception de *DuréeEau* et *VégéTerr* entre elles. Ces variables sont également liées de façon significative à *Pente* et *pHMoy*.

Tableau 7 : Coefficients de corrélation entre les paramètres environnementaux quantitatifs pour l'ensemble des mares [n = 109]. Les coefficients significatifs sont présentés en gras, avec la p-valeur représentée par des astérisques : * significatif avec p<0,05 ; ** hautement significatif avec p<0,01 ; * très hautement significatif avec p<0,001. Légende : n = nombre de mares, *ProfMoy* = profondeur moyenne de la mare (cm), *ProfMax* = profondeur maximum de la mare (cm), *ProfMin* = profondeur minimum de la mare (cm), *SurfMoy* = surface en eau moyenne de la mare (m²), *SurfMax* = surface en eau maximum de la mare (m²), *SurfMin* = surface en eau minimum de la mare (m²), *pHMoy* = pH moyen, *Pente* = proportion de pentes faibles (%), transformation angulaire), *VégéTerr* = recouvrement en végétation terrestre (%), transformation angulaire), *VégéAqua* = recouvrement en végétation aquatique (%), transformation angulaire), *DuréeEau* = durée de mise en eau (nombre de visites), *O2SatMoy* = taux moyen de saturation en oxygène (%), transformation angulaire).**

	ProfMoy	ProfMax	ProfMin	SurfMoy	SurfMax	SurfMin	pHMoy	Pente	VégéTerr	VégéAqua	DuréeEau	O2SatMoy
ProfMoy												
ProfMax	0,99 ***											
ProfMin	0,99 ***	0,98 ***										
SurfMoy	0,81 ***	0,81 ***	0,78 ***									
SurfMax	0,83 ***	0,83 ***	0,81 ***	0,99 ***								
SurfMin	0,45 ***	0,46 ***	0,41 ***	0,79 ***	0,74 ***							
pHMoy	0,02	0,02	0,01	-0,01	0,01	-0,1						
Pente	-0,17	-0,17	-0,17	-0,14	-0,12	-0,13	0,28 **					
VégéTerr	-0,08	-0,07	-0,07	-0,02	-0,05	0,06	-0,39 ***	-0,56 ***				
VégéAqua	0,01	0,02	0,01	0,14	0,11	0,14	-0,47 ***	-0,39 ***	0,63 ***			
DuréeEau	0,22 *	0,22 *	0,22 *	0,27 **	0,24 *	0,31 **	-0,34 ***	-0,35 ***	0,19	0,25 **		
O2SatMoy	0,16	0,16	0,15	0,08	0,1	-0,06	0,63 ***	0,34 ***	-0,45 ***	-0,29 **	-0,25 **	

Le **Tableau 8** indique qu'une diminution des valeurs des variables *Pente* et *pHMoy* est liée à une augmentation des valeurs des variables *VégéTerr*, *VégéAqua* et *DuréeEau* ainsi qu'à une diminution des valeurs de la variable *O2SatMoy*.

Tableau 8 : Résultats de la régression multiple (stepwise) des variables quantitatives abiotiques (x) sur les variables quantitatives biotiques (y) pour l'ensemble des mares [n = 109]. Les variables significatives sont indiquées en gras. Légende : n = nombre de mares, ProfMoy = profondeur moyenne de la mare (cm), ProfMax = profondeur maximum de la mare (cm), ProfMin = profondeur minimum de la mare (cm), SurfMoy = surface en eau moyenne de la mare (m²), SurfMax = surface en eau maximum de la mare (m²), SurfMin = surface en eau minimum de la mare (m²), pHMoy = pH moyen, Pente = proportion de pentes faibles (% , transformation angulaire), VégéTerr = recouvrement en végétation terrestre (% , transformation angulaire), VégéAqua = recouvrement en végétation aquatique (% , transformation angulaire), DuréeEau = durée de mise en eau (nombre de visites), O2SatMoy = taux moyen de saturation en oxygène (% , transformation angulaire).

Variable dépendante (y)	Variables indépendantes (x)	Coefficient de régression	Erreur standard	p-valeur
VégéTerr (R ² ajusté = 0,382 ; p<0,001)	(Intersect)	2,75 e-16	7,53 e-02	1
	pHMoy	-2,56 e-01	7,96 e-02	0,002
	Pente	-5,05 e-01	8,05 e-02	<0,001
	ProfMoy	-7,73 e+00	4,24 e+00	0,071
	ProfMin	4,31 e-01	5,37 e-01	0,424
	ProfMax	7,15 e+00	3,94 e+00	0,073
VégéAqua (R ² ajusté = 0,279 ; p<0,001)	(Intersect)	1,08 e-15	8,13 e-02	1
	pHMoy	-3,89 e-01	8,52 e-02	<0,001
	Pente	-2,81 e-01	8,52 e-02	0,001
DuréeEau (R ² ajusté = 0,225 ; p<0,001)	(Intersect)	8,60 e-17	8,43 e-02	1
	ProfMoy	-2,83 e+00	5,07 e+00	0,578
	ProfMin	5,83 e-01	6,31 e-01	0,358
	ProfMax	2,47 e+00	4,72 e+00	0,602
	SurfMoy	1,51 e+00	1,06 e+00	0,156
	SurfMin	1,70 e-01	1,82 e-01	0,351
	SurfMax	-1,59 e+00	1,01 e+00	0,120
	pHMoy	-2,26 e-01	9,13 e-02	0,015
	Pente	-2,07 e-01	9,15 e-02	0,026
O2SatMoy (R ² ajusté = 0,434 ; p<0,001)	(Intersect)	-4,60 e-16	7,21 e-02	1
	pHMoy	5,63 e-01	7,62 e-02	<0,001
	Pente	2,13 e-01	7,70 e-02	0,007
	ProfMoy	-2,39 e+00	4,06 e+00	0,557
	ProfMin	2,03 e-01	5,14 e-01	0,693
	ProfMax	2,38 e+00	3,77 e+00	0,530

La **Figure 2** représente l'ACP réalisée sur l'ensemble du jeu de données. La première composante est corrélée principalement avec les paramètres de taille de la mare (surface et profondeur) de façon positive. La deuxième composante principale est corrélée positivement avec *VégéTerr*, *VégéAqua* et *DuréeEau*, et plus faiblement avec *SurfMin*. Elle est corrélée négativement avec les paramètres chimiques de l'eau (*pHMoy* et *O2SatMoy*) ainsi qu'avec le paramètre *Pente* principalement et marginalement avec les variables de taille.

L'ACP est « tirée » par trois **outliers**, des mares de profondeur très importante (>500 cm). Cette remarque est confirmée en observant les distributions des paramètres de profondeur et de surface (**Figure 1**). Ainsi, le reste de la variabilité est écrasé et n'est pas bien visible.

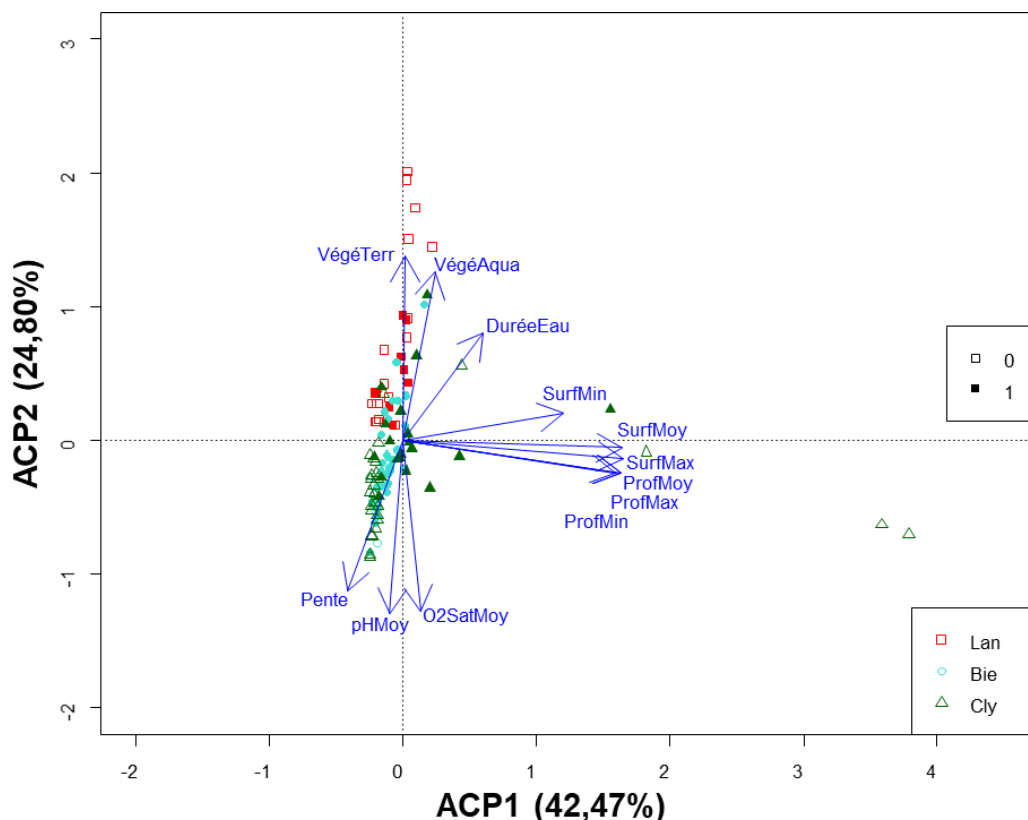


Figure 2 : ACP (PC1 et PC2) pour tous les paramètres (biotiques et abiotiques) [n = 109]. Les symboles en plein représentent la présence de preuves de reproduction ; les symboles et les couleurs identifient les sites carriers (Lan = sablière Lannoy, Bie = carrière de Bierghes, Cly = carrière du Clypot). Légende : n = nombre de mares, *ProfMoy* = profondeur moyenne de la mare (cm), *ProfMax* = profondeur maximum de la mare (cm), *ProfMin* = profondeur minimum de la mare (cm), *SurfMoy* = surface en eau moyenne de la mare (m²), *SurfMax* = surface en eau maximum de la mare (m²), *SurfMin* = surface en eau minimum de la mare (m²), *pHMoy* = pH moyen, *Pente* = proportion de pentes faibles (% , transformation angulaire), *VégéTerr* = recouvrement en végétation terrestre (% , transformation angulaire), *VégéAqua* = recouvrement en végétation aquatique (% , transformation angulaire), *DuréeEau* = durée de mise en eau (nombre de visites), *O2SatMoy* = taux moyen de saturation en oxygène (% , transformation angulaire).

L'analyse a été effectuée à nouveau en excluant ces valeurs extrêmes (*outliers*) qui masquent la variabilité résiduelle, afin de focaliser l'analyse sur la variabilité existante au sein du reste des données. La suite des analyses de cette partie a été effectuée en excluant ces mares.

Les trois premières composantes sont nécessaires pour représenter l'ACP réalisée sur le jeu de données excluant les mares de très forte profondeur (**Figures 3a et b**). La première composante principale (34,98 %) est corrélée de manière positive avec les données de taille (surface et profondeur) et les recouvrements en végétation (*VégéAqua* et *VégéTerr*) et négativement avec les paramètres chimiques de l'eau (*pHMoy* et *O2SatMoy*) ainsi qu'avec le paramètre *Pente*. La deuxième composante principale (20,87 %) est corrélée positivement avec les surfaces, et de façon plus anecdotique avec les paramètres chimiques et avec les paramètres *Pente* et *VégéAqua*. Elle est également faiblement, mais négativement liée aux profondeurs et au recouvrement en végétation terrestre. La troisième composante (19,11 %) est corrélée négativement avec le couvert en végétation et négativement avec les paramètres de taille, les paramètres chimiques de l'eau et la proportion de pentes douces.

Les mares de Lannoy présentent des conditions de pH moyen et de taux moyen de saturation en oxygène plus faibles que Bierghes, et des profondeurs et un recouvrement en végétation terrestre et aquatique plus importants. De plus, les mares de Lannoy présentent de moins fortes proportions de pentes douces. Les mares du Clypot sont très fortement dispersées dans l'ACP, présentant des conditions biotiques et abiotiques plus variables.

La symbologie présentée dans la **Figure 4** distingue les mares creusées dans le cadre du projet LIFE (mares LIFE) des mares spontanées. Les mares LIFE et les mares spontanées sont réparties de façon homogène dans l'ACP.

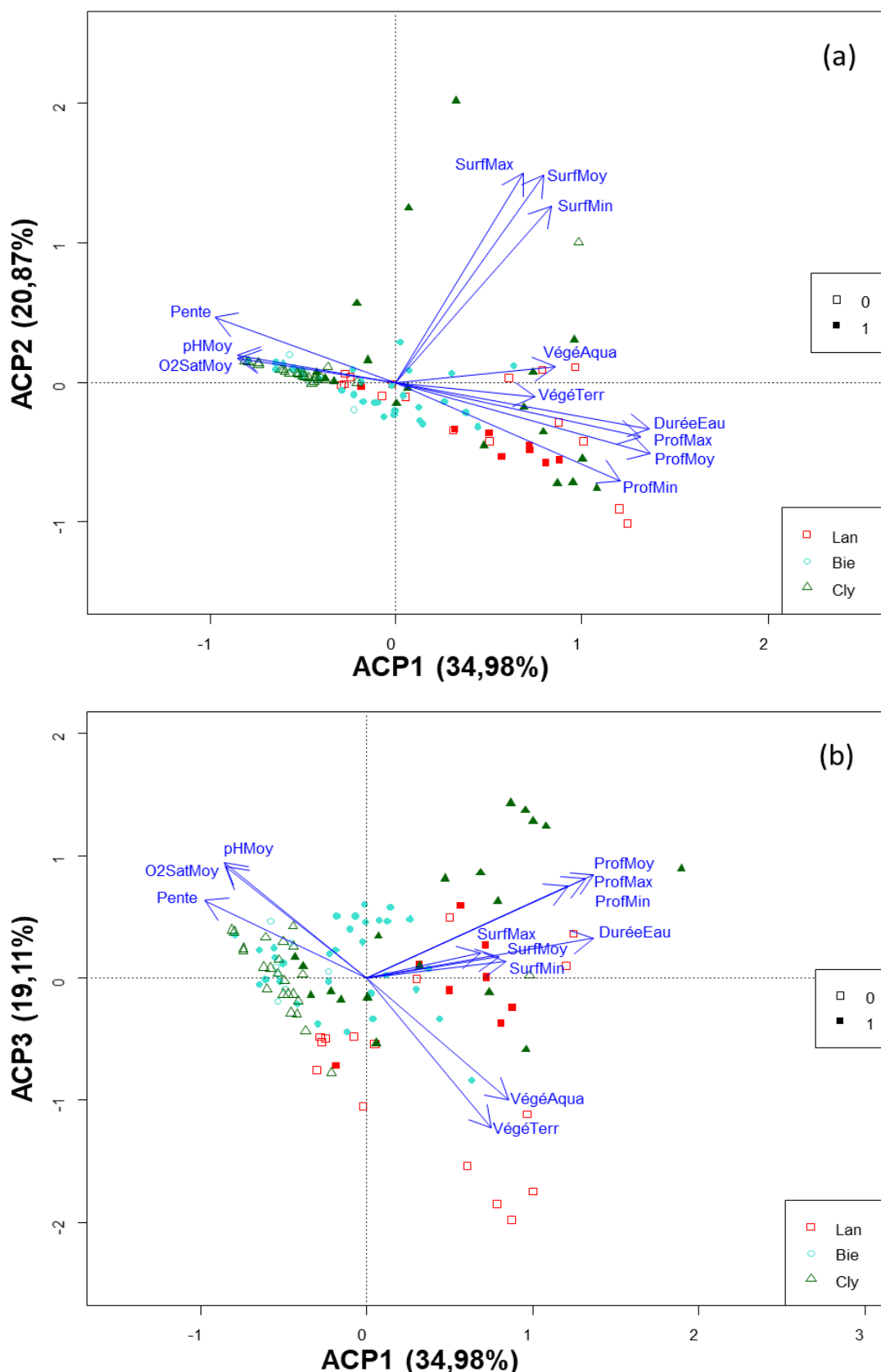


Figure 3 : ACP pour tous les paramètres (biotiques et abiotiques), avec exclusion des *outliers* [n = 106] : (a) Première et deuxième composantes principales, (b) Première et troisième composantes principales. Les symboles en plein représentent la présence de preuves de reproduction ; les symboles et les couleurs identifient les sites carriers (Lan = sablière Lannoy, Bie = carrière de Bierghes, Cly = carrière du Clypot). Légende : n = nombre de mares, *ProfMoy* = profondeur moyenne de la mare (cm), *ProfMax* = profondeur maximum de la mare (cm), *ProfMin* = profondeur minimum de la mare (cm), *SurfMoy* = surface en eau moyenne de la mare (m²), *SurfMax* = surface en eau maximum de la mare (m²), *SurfMin* = surface en eau minimum de la mare (m²), *pHMoy* = pH moyen, *Pente* = proportion de pentes faibles (% , transformation angulaire), *VégéTerr* = recouvrement en végétation terrestre (% , transformation angulaire), *VégéAqua* = recouvrement en végétation aquatique (% , transformation angulaire), *DuréeEau* = durée de mise en eau (nombre de visites), *O2SatMoy* = taux moyen de saturation en oxygène (% , transformation angulaire).

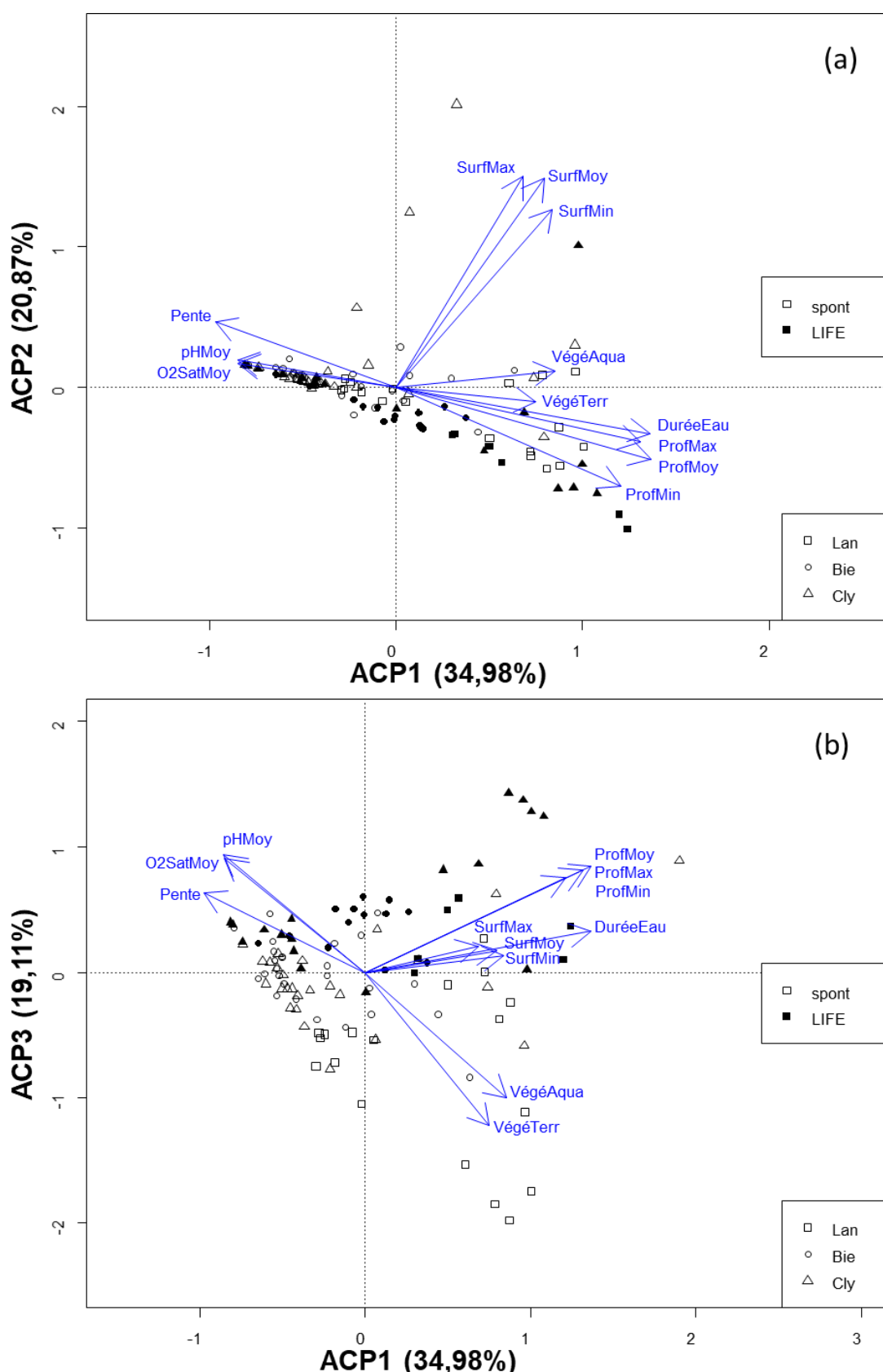


Figure 4 : ACP pour tous les paramètres (biotiques et abiotiques), avec exclusion des *outliers* ($n = 106$) : (a) Première et deuxième composantes principales, (b) Première et troisième composantes principales. Les symboles en noir représentent les mares creusées dans le cadre du projet LIFE ; les symboles identifient les sites carriers (Lan = sablière Lannoy, Bie = carrière de Bierghes, Cly = carrière du Clypot). Légende : n = nombre de mares, *ProfMoy* = profondeur moyenne de la mare (cm), *ProfMax* = profondeur maximum de la mare (cm), *ProfMin* = profondeur minimum de la mare (cm), *SurfMoy* = surface en eau moyenne de la mare (m^2), *SurfMax* = surface en eau maximum de la mare (m^2), *SurfMin* = surface en eau minimum de la mare (m^2), *pMoy* = pH moyen, *Pente* = proportion de pentes faibles (%), transformation angulaire), *VégéTerr* = recouvrement en végétation terrestre (%), transformation angulaire), *VégéAqua* = recouvrement en végétation aquatique (%), transformation angulaire), *DuréeEau* = durée de mise en eau (nombre de visites), *O2SatMoy* = taux moyen de saturation en oxygène (%), transformation angulaire).

2. Partie 2 : Étude des paramètres influençant la présence de preuves de reproduction et l'abondance des pontes

La **Figure 1** permet d'étudier la distribution des variables abiotiques et biotiques pour les mares sélectionnées par le crapaud calamite pour sa reproduction. Les mares utilisées pour la reproduction (n = 59) présentent :

- une gamme de valeurs de *ProfMoy* similaire à celle de la distribution suivie par les mares excluant les *outliers* (n = 106) et voient leur moyenne augmenter (**Figures 1a1 et a2**). Ainsi, les mares utilisées pour la reproduction présentent une profondeur inférieure à 50 cm, mais se situent majoritairement dans des gammes de profondeurs moyennes plus faibles. Une observation similaire est effectuée pour *SurfMoy* (**Figure 1b**), les mares présentant des preuves de reproduction ayant une surface inférieure à 700m², mais se situant majoritairement dans des gammes de surfaces moyennes plus faibles ;
- une gamme de valeurs d'*O2SatMoy* situées dans les valeurs supérieures de la distribution générale (**Figure 1d**).
- une gamme de valeurs de *Pente* similaire à celle de la distribution suivie par les mares excluant les *outliers* (n = 109). Toutefois, les mares se situent majoritairement dans des gammes de *Pente* plus importantes (**Figure 1e**).
- des valeurs de *VégéTerr* nulles ou très faibles en général, à l'exception de deux d'entre elles qui restent toutefois dans une gamme de valeurs de *VégéTerr* inférieure à celle de la distribution suivie par les mares excluant les *outliers* (n = 106) (**Figure 1f**).
- des gammes de valeurs de *pHMoy*, *DuréeEau* et *VégéAqua* similaires à celles de leur distribution générale : les variables *pHMoy* et *DuréeEau* voient leur moyenne augmenter par rapport à celle de sa distribution générale alors que l'observation inverse est faite pour la variable *VégéAqua* (**Figures 1c, g et h**).

La variable **Reproduction** (présence de preuves de reproduction) a été employée dans l'ACP pour identifier visuellement les mares utilisées par les crapauds calamites pour leur reproduction, les symboles en plein représentant les mares où il y a eu présence de preuves de reproduction (ponte et/ou têtards) (**Figures 2 et 3**). Les mares de très forte profondeur ne semblent pas adéquates pour la reproduction du crapaud calamite (**Figure 2**). Dans la **Figure 3**, les mares présentant des preuves de reproduction semblent dispersées dans l'ACP parmi les mares faiblement recouvertes en végétation terrestre et aquatique. En effet, cinq mares fortement végétalisées, faiblement oxygénées et plus acides semblent se distinguer en ne présentant pas de preuves de reproduction.

Le **Tableau 9** présente les résultats des tests χ^2 effectués pour identifier l'existence d'une dépendance entre les paramètres qualitatifs retenus et la présence de preuves de reproduction. L'hypothèse d'indépendance est acceptée pour l'origine de la mare (*Origine*), la répartition spatiale des mares (*Agglo*) et la présence de passage d'engins dans le secteur carrier où se situe la mare (*Charroi*).

Tableau 9 : Test d'indépendance (χ^2) entre les paramètres qualitatifs *Origine*, *Agglo* et *Charroi* respectivement et la présence de preuves de reproduction pour l'ensemble des mares [n = 109]. Légende : n = nombre de mares, *Origine* = origine de la mare (mare creusée dans le cadre du projet LIFE ou mare spontanée), *Agglo* = répartition spatiale des mares (mare isolée ou mares adjacentes et contiguës en période de fortes pluies), *Charroi* = présence de passage d'engins dans le secteur carrier où se situe la mare.

	Origine	Agglo	Charroi
Khi² (Valeur observée)	1,056	0,005	3,637
Khi² (Valeur critique)	3,841	3,841	3,841
DDL	1	1	1
p-value	0,304	0,945	0,057
alpha	0,05	0,05	0,05

La variable *AbondPontes* (y) n'est pas expliquée par un modèle de régression multiple significatif composés de ou des variables quantitatives abiotiques (x) lorsque toutes les mares du jeu de données sont analysées. Seule la régression linéaire de la variable *DuréeEau* (x) sur *AbondPontes* (y) indique une relation positive significative (estim = 2,115 e-01 ; erreur st. = 9,449 e-02 ; p-valeur = 0,027) : plus la durée de mise en eau augmente, plus l'abondance des pontes est importante.

Le **Tableau 10** présente les résultats de la régression multiple des variables quantitatives abiotiques (x) sur l'abondance des pontes (y) lorsque les mares de profondeur supérieure à 50 cm sont exclues (n = 106). Celui-ci indique que le facteur de durée de mise en eau (hautement significatif) présente une relation positive avec l'abondance des pontes.

Tableau 10 : Résultats de la régression multiple (stepwise) des variables quantitatives abiotiques (x) sur l'abondance des pontes (y) pour le jeu de données excluant les mares de profondeur supérieure à 0,5 mètre (n = 106). Les variables significatives sont indiquées en gras. Légende : n = nombre de mares, *AbondPontes* = abondance des pontes (ponte), *DuréeEau* = durée de mise en eau (nombre de visites), *ProfMoy* = profondeur moyenne de la mare (cm), *ProfMax* = profondeur maximum de la mare (cm), *VégéTerr* = recouvrement en végétation terrestre (%), *VégéAqua* = recouvrement en végétation aquatique (%), *pHMoy* = pH moyen.

Variable dépendante (y)	Variabes indépendantes (x)	Coefficient de régression	Erreur standard	p-valeur
AbondPontes (R ² ajusté = 0,122 ; p<0,05)	(Intersect)	-1,98 e-16	9,10 e-02	1,000
	DuréeEau	5,98 e-01	1,42 e-01	<0,001
	ProfMoy	-2,64 e-01	3,25 e-01	0,420
	ProfMax	-1,34 e-01	3,01 e-01	0,656
	VégéAqua	-7,42 e-02	1,26 e-01	0,558
	VégéTerr	-1,39 e-01	1,21 e-01	0,256
	pHMoy	1,20 e-01	1,11 e-01	0,285

Selon le **test de Mood**, seul le paramètre qualitatif *Charroi* présente une différence significative entre les médianes de chaque modalité (p-valeur = 0,000). Le **Tableau 11** informe sur cette différence : les mares situées dans un secteur carrier actif présentent une médiane plus élevée que les mares en milieu calme.

Tableau 11 : Valeur des médianes des modalités du paramètre *Charroi* (présence de passage d’engins dans le secteur carrier où se situe la mare). Légende : O = présence d’activité anthropique dans le secteur carrier, N = absence d’activité anthropique dans le secteur carrier.

	O	N
Médiane	0,500	0,000
IC médian à 95%	0 ; 2,68617	0 ; 0

III. Chapitre 2 : Évaluation des méthodes de dénombrement

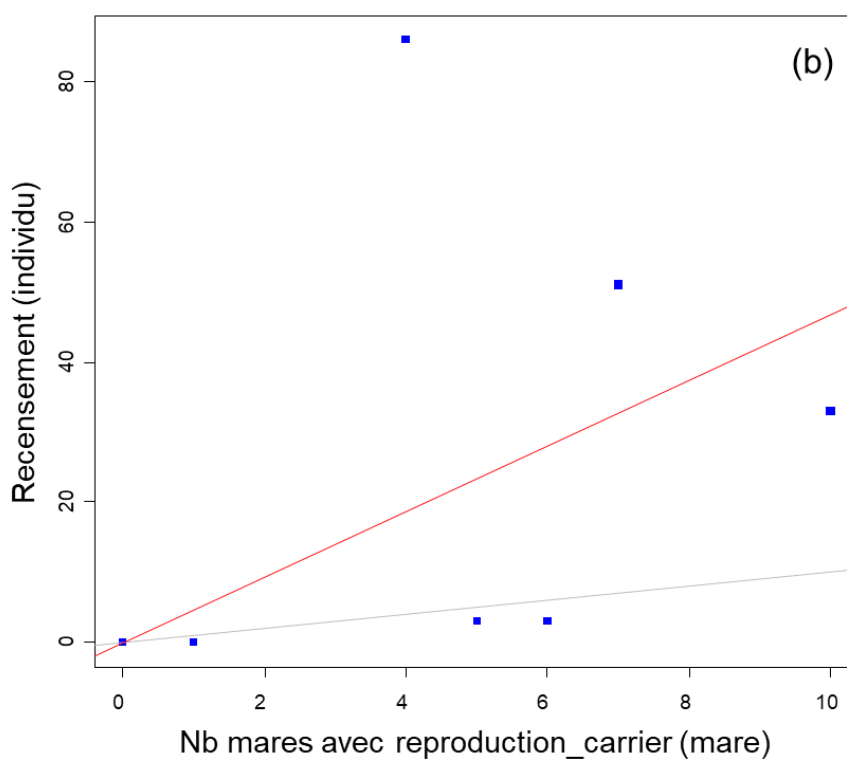
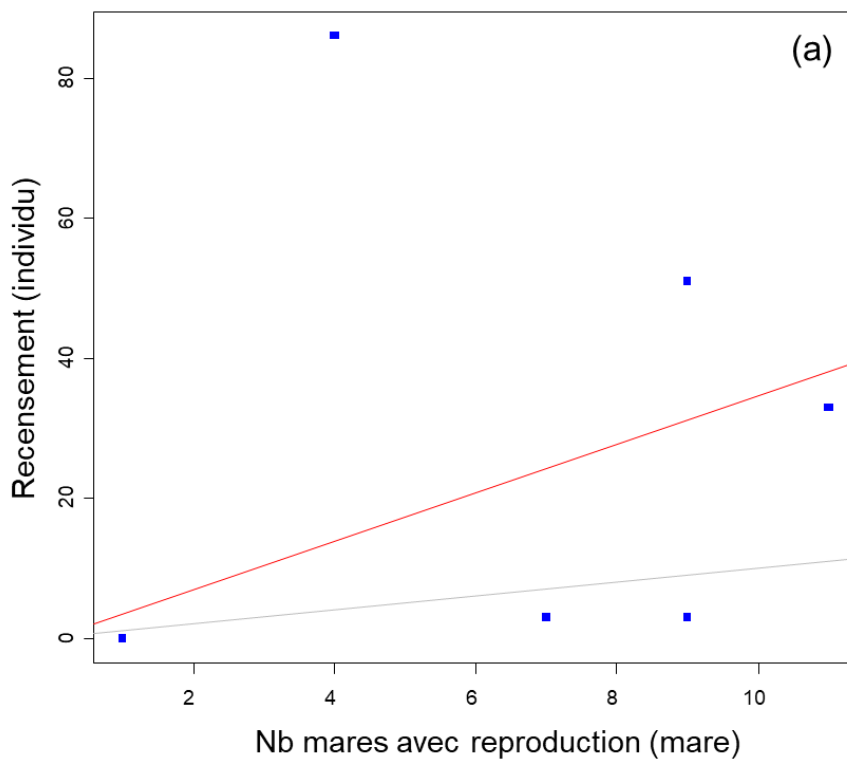
La méthode du dénombrement des mares présentant des preuves de reproduction est seulement significative et représentative du nombre total d’individus adultes recensés dans la sous-zone selon le suivi pragmatique et non pas selon le suivi systématique (**Tableau 12**). Toutefois, la p-valeur de la régression du nombre de mares avec des preuves de reproduction selon l’approche pragmatique reste proche du seuil de non significativité, conventionnellement fixé à 0,05, ce qui signifie que la probabilité de faire une erreur en acceptant qu’il existe bel et bien une relation entre les résultats de cette méthode et ceux du recensement reste élevée. Les méthodes de dénombrement des adultes sous des plaques à amphibiens ne sont quant à elles pas significatives du nombre d’individus adultes recensés.

Tableau 12 : Résultats des régressions linéaires de chaque variable tirée des méthodes de dénombrement (x) sur le nombre d’adultes recensés (y). Les variables significatives sont indiquées en gras. Légende : *Nb mares avec reproduction* = nombre de mares présentant des preuves de reproduction selon l’approche systématique (mare), *Nb mares avec reproduction_carrier* = nombre de mares présentant des preuves de reproduction selon l’approche pragmatique (mare), *Plaques* = nombre d’individus sous plaques selon l’approche pragmatique (individu), *Plaques_carrier* = nombre d’individus sous plaques selon l’approche systématique (individu).

Variables indépendantes (x) : Méthodes de dénombrement	Estim.	Erreur st.	R² ajusté (p-valeur)
Nb mares avec reproduction	3,459	1,676	0,289 (0,078)
Nb mares avec reproduction_carrier	4,667	1,961	0,368 (0,049)
Plaques	0,738	0,464	0,179 (0,163)
Plaques_carrier	1,0939	0,689	0,178 (0,164)

Les graphiques de la **Figure 5** représentent la confrontation de chaque méthode de dénombrement (x) au recensement des individus (y) effectués dans chaque sous-zone, représentée par un carré. La droite de pente 1 (en gris) représente une relation unitaire entre le nombre relevé selon la méthode de dénombrement étudié et le nombre d’individus recensés. Celle-ci est située sous la droite

de régression (en rouge) à la **Figure 5c**, qui s'intéresse à la seule méthode de dénombrement identifiée comme significative (**Tableau 12**). Cela signifie que cette relation unitaire sous-estime la situation réelle pour la méthode de dénombrement consistant au comptage des mares présentant des preuves de reproduction selon le suivi pragmatique et que le coefficient observé pour la régression correspondante est donc supérieur à 1 (**Tableau 12**).



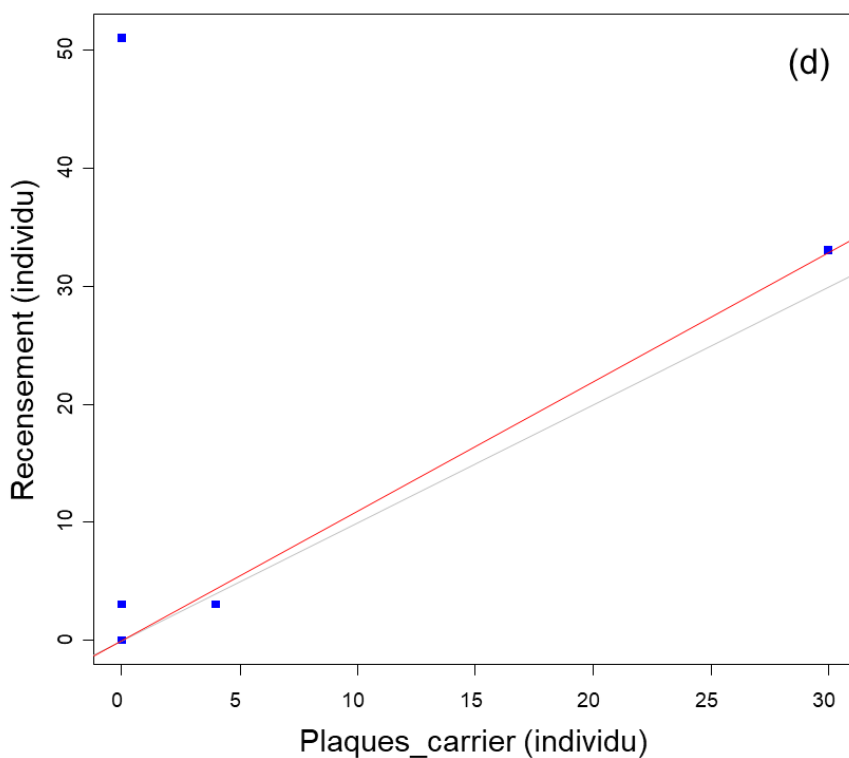
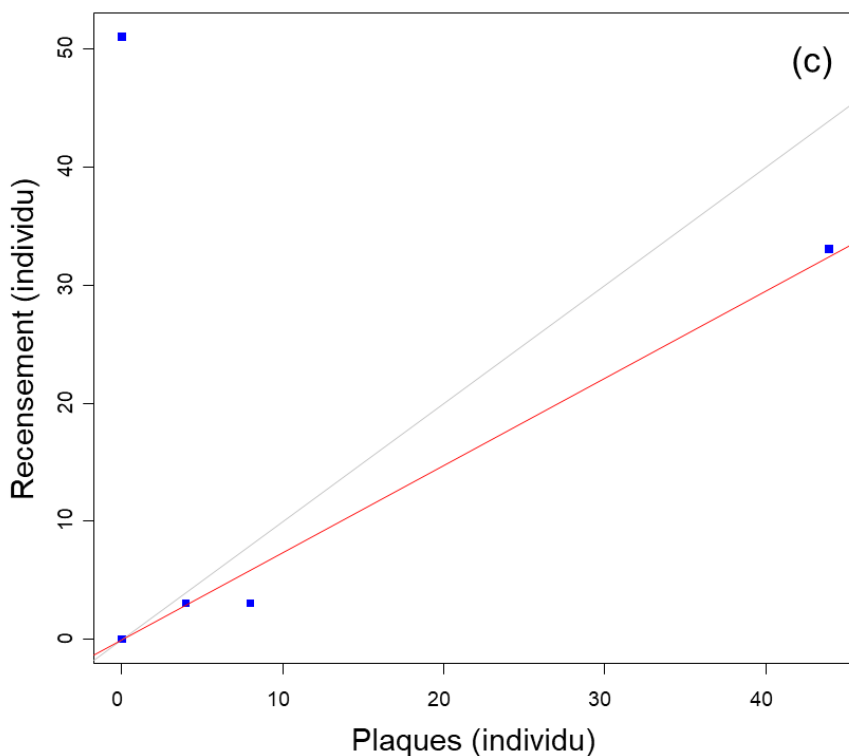


Figure 5 : Graphique des méthodes de dénombrement ((a) Nb mares avec reproduction ; (b) Nb mares avec reproduction_carrier ; (c) Plaques ; (d) Plaques_carrier) confrontées aux recensements. Légende : *Nb mares avec reproduction* = nombre de mares présentant des preuves de reproduction selon l'approche systématique (mare); *Nb mares avec reproduction_carrier* = nombre de mares présentant des preuves de reproduction selon l'approche pragmatique (mare); *Plaques* = nombre d'individus sous plaques selon l'approche pragmatique (individu) ; *Plaques_carrier* = nombre d'individus sous plaques selon l'approche systématique (individu) ; *Recensement* = nombre total d'individus recensés dans la sous-zone. Les carrés représentent les différentes sous-zones délimitées dans chaque carrière. La droite grise représente la relation 1 : 1 alors que la droite rouge représente la régression des méthodes de dénombrement (x) sur le nombre total d'adultes recensés (y).

Le nombre d'individus observés sous les plaques selon le suivi pragmatique et selon le suivi systématique est significatif et représentatif du nombre d'individus adultes mâles recensés dans la sous-zone (**Tableau 13**). Les régressions de la méthode de dénombrement « nombre de mares présentant des preuves de reproduction » selon l'approche systématique et pragmatique respectivement (x) sur le nombre d'adultes recensés en fonction du sexe (y) n'ont pas présenté de résultats significatifs. Le **Tableau 13** présente les résultats des régressions linéaires significatives uniquement.

Tableau 13 : Résultats des régressions linéaires de chaque variable tirée des méthodes de dénombrement « Plaques » (x) sur le nombre d'adultes mâles recensés (y). Légende : *Plaques* = nombre d'individus sous plaques selon l'approche pragmatique (individu), *Plaques_carrier* = nombre d'individus sous plaques selon l'approche systématique (individu).

Variables indépendantes (x) : Méthodes de dénombrement	Estim.	Erreur st.	R ² ajusté (p-valeur)
Plaques	0,538	0,201	0,467 (0,037)
Plaques_carrier	0,795	0,300	0,462 (0,038)

IV. Chapitre 3 : Critique de l'utilisation des programmes de reconnaissance photographique appliquée au crapaud calamite

1. Capture-Marquage-Recapture

Bien que non fixé au préalable, le délai observé entre chaque passage (capture et recaptures) varie de 10 à 40 jours. Le **Tableau 14** présente le nombre d'individus recensés au cours des différentes phases de terrain (capture et recaptures). La carrière du Clypot n'a pas pu faire l'objet d'une deuxième recapture, les conditions météorologiques propices à la recapture n'ayant pas été rencontrées durant l'étude. La première recapture effectuée à la sablière Lannoy n'a présenté aucun individu.

Tableau 14 : Effectifs recensés lors de la capture et des différentes phases de recapture, dans les sous-zones de la carrière de Bierghes, la carrière du Clypot et la sablière Lannoy. Légende : *SZ_01* = sous-zone numéro 1. Dates des passages : *Bierghes* : 17/04/2018, 28/05/2018, 08/06/2018 ; *Clypot* 03/05/2018, 25/05/2018, 2ème recapture non effectuée ; *Lannoy* : 01/05/2018, 21/05/2018, 31/05/2018.

Site	Sous-Zone	Capture	Recapture 1	Recapture 2
Bierghes	SZ_01	33	49	8
	SZ_02	0	3	0
	SZ_03	3	12	2
	Total	36	64	10
Clypot	SZ_01	86	31	
	SZ_02	51	57	
	SZ_03	0	0	
	Total	137	88	
Lannoy	SZ_01	2	0	3
	SZ_02	0	0	0
	Total	2	0	3

2. Photo-identification informatisée

La préparation et l'analyse d'environ 350 photos a pris approximativement 25 heures de travail pour le logiciel Wild-ID (recadrage et analyse effectuée par l'observateur (« *mode manuel* »)) et environ 40 heures pour le programme I3S (création des empreintes et analyse automatique, sans intervention de l'utilisateur (« *mode automatique* »)).

Le **Tableau 15** présente les résultats tirés de la confrontation de deux photos appartenant à deux individus différents ainsi que de ceux tirés de la comparaison de deux photos représentant un même individu. Le **logiciel Wild-ID** identifie les **individus différents**, leur attribuant le score le plus faible possible (0) et une place au milieu du classement. Les comparaisons photographiques des **individus identiques** d'après ce logiciel reçoivent un score supérieur à 0 et inférieur à 1, et obtiennent la première place du classement. Le logiciel **I3S Pattern +** décerne un score élevé aux comparaisons des photos d'**individus différents** ainsi qu'une place au milieu du classement. L'analyse des **individus identiques** produit des scores et un classement des scores plus variables. La comparaison des photos de l'individu identique présentant un signe distinctif reçoit, d'après ce même logiciel, un score plus élevé que les scores obtenus lors de la comparaison d'individus différents ainsi qu'un rang intermédiaire aux autres valeurs.

Tableau 15 : Score et rang du score (sur 20) des comparaisons des photos selon les deux logiciels afin d'illustrer les différents cas de figure : comparaison de deux photos représentant des individus différents (a) et (b) et comparaison de deux photos représentant un même individu (e) et (d). Wild-ID attribue des scores variant de 0 à 1, un faible score signifie que la similarité entre les deux photos est très faible. Les scores attribués par I3S Pattern + sont uniquement limités inférieurement à 0, traduisant une similarité parfaite entre les photos. Le nombre de correspondances (corr.) indiqué d'après le logiciel I3S Pattern + décrit le nombre d'éléments de référence similaires lors de la comparaison des empreintes des photos.

Comparaison des photos		Wild-ID		I3S Pattern +	
		Score	Rang (/20)	Score	Rang (/20)
Individus différents	(a) Individus provenant d'une même sous-zone au cours de la même phase de capture	0	13	100,332 (16 corr.)	10
	(b) Individus provenant de deux sites carriers différents	0	11	106,728 (16 corr.)	12
Individu identique	(c) Individu avec un signe distinctif (doigts manquants)	0,00520	1	107,09 (16 corr.)	11
	(d) Individu photographié deux fois au cours d'une capture	0,0325	1	41,78 (21 corr.)	2

D'après l'utilisation du logiciel Wild-ID combiné à une vérification par l'utilisateur, 25 individus ont été observés à deux reprises. Aucun individu n'a été capturé à trois reprises. D'après le **Tableau 16** tiré de la capture, des recaptures et de l'identification sur base des photos, la carrière de Bierghes a présenté environ 108 individus différents. La carrière du Clypot a présenté 203 individus distincts. Quatre crapauds différents ont été observés à la sablière Lannoy.

Tableau 16 : Nombre d'individus différents et nombre total d'individus différents recensés par sexe et par site, au cours de la phase de terrain (capture et recaptures).

	Mâles	Femelles	Indéterminés	Total
Bierghes	81	16	11	108
Clypot	120	77	6	203
Lannoy	3	1	0	4

Parmi les 20 individus rencontrés à deux reprises dans la carrière du Clypot, 13 individus ont été aperçus la deuxième fois dans une sous-zone différente. Ce cas s'est uniquement présenté entre les sous-zones 1 et 2, les échanges allant dans les deux-sens.

Les **Annexes 11 et 12** complètent les informations des capture/recaptures en présentant les effectifs des individus capturés et le nombre de matchs identifiés selon les sexes. L'**Annexe 13** présente les photos d'un individu mâle rencontré à deux reprises dans la carrière du Clypot.

Discussion

I. Chapitre 1 : Caractérisation des mares temporaires

1. Limites du protocole

Plusieurs critiques peuvent être formulées quant à la mise en place du protocole et quant au choix et à la mesure des paramètres.

La **phase de terrain** de ce travail n'a pas été étendue sur la totalité de la période de reproduction, pour des raisons d'organisation et d'échéance. De plus, les **conditions météorologiques** ont eu un impact certain tout au long de cette phase. Cette année étant particulièrement sèche en Belgique (Institut Royal Météorologique, 2018), l'assèchement des mares a été un phénomène fréquemment observé au sein des différentes carrières. Ces remarques sont d'application pour l'ensemble de ce travail.

L'ensoleillement est un facteur important pour la biologie du crapaud calamite, influençant la température de l'eau, cruciale pour le développement larvaire (Barandun et al., 1997; Beebe, 1983 cité par Titeux, 2000; Bécart et al., 2007; Barlas, 2014; Laudelout, 2016). Dans un premier temps, **l'ensoleillement** a été calculé à l'aide de la donnée *Sunspring* tirée de la couche « ecotope » (Lifewatch-WB geodatabase). Cette donnée topographique donne une estimation de l'énergie lumineuse incidente potentielle en W/m² lors du premier jour du printemps. Dans un deuxième temps, la valeur obtenue pour chaque mare a été confrontée à une vérification sur le terrain. La comparaison avec le terrain s'est révélée inexacte, notamment car les valeurs relatives à la topographie dans la couche cartographique n'avait pas été mise à jour assez récemment, ces milieux étant constamment perturbés. Aussi il a été décidé de ne pas utiliser la variable d'ensoleillement dans ce travail. Toutefois, le recouvrement en végétation terrestre permet d'approcher indirectement cette variable, palliant ainsi à son absence.

La **température de l'eau** a également été exclue des analyses pour cause d'imprécision, et cela pour deux raisons. D'un côté, les mesures n'ont pas pu être effectuées au cours de la même tranche horaire pour toutes les mares, la visite d'une carrière requérant souvent une journée entière de travail sur le terrain. D'un autre côté, une même mare n'a pas pu être mesurée à la même heure à chaque visite, rendant les mesures d'une visite à l'autre non comparables, l'exploitation au sein d'une carrière exigeant une certaine flexibilité (tirs de mine dans certains secteurs, etc.). Cette remarque quant aux températures remet ainsi en cause la variable de **saturation en oxygène**, les deux étant liées. Le calcul de la moyenne du pourcentage de saturation en oxygène permet de réduire la variabilité liée à la mesure de la température pour chaque mare et de rendre ce paramètre comparable d'une mare à l'autre.

Les **recouvrements en végétation aquatique et terrestre** ont été estimés en classes, entraînant une perte d'information importante sans pour autant permettre un gain de précision. Il aurait été davantage intéressant d'estimer un recouvrement de façon quantitative, une solution qui n'est pas plus coûteuse en temps.

La **durée de mise en eau** représente le nombre maximum de visites bimensuelles consécutives où la mare était pleine. Cela ne signifie nullement que la mare ne s'est pas asséchée entre deux visites consécutives au cours desquelles elle aurait été aperçue pleine. Cette constatation justifie le choix de ne pas extrapoler la valeur de cette variable à un nombre de jours ou de semaines de mise en eau.

La **présence de preuves de reproduction** comporte une limite importante : la perte de la notion d'abondance. Une alternative aurait pu être d'ajuster la donnée d'abondance des pontes avec l'information de la présence de têtards, l'observation de ceux-ci sous-entendant qu'il y a eu ponte. Cette estimation du nombre de pontes est cependant difficile à cerner pour plusieurs raisons. La fréquence de passage (une fois toutes les deux semaines) permet d'éviter les doubles comptages de pontes, mais ce cas reste cependant possible pour les têtards. De plus, les stades de développement des têtards rencontrés à chaque visite n'ont pas été notés. Ainsi, cette approche quantitative résulterait en une sous-estimation ou en une surestimation, en fonction du cas de figure. Il a donc été décidé de ne pas suivre cette piste. Même si la variable *AbondPontes* (nombre total de pontes observées au cours des visites) sous-estime le vrai nombre de pontes vu la fréquence définie dans le protocole, les limites de celle-ci peuvent au moins être mieux prises en considération.

Enfin, il est important de noter que ces deux variables (*AbondPontes* et *Reproduction*) ne renseignent pas sur la survie des pontes et des têtards.

2. Partie 1 : Étude de la variabilité des paramètres caractérisant les mares

Une grande diversité de conditions de taille de mares (surface et profondeur) est rencontrée au sein des sites carriers. Les mares plus profondes ne sont pas nécessairement les plus étendues, même si les trois mares qui se distinguent par leur très grande profondeur (>5 m) présentent en effet une surface importante. Ainsi, les mares rencontrées peuvent varier de la cuvette profonde et étroite à la flaque superficielle et très étendue.

Chaque site carrier est caractérisé par un **substrat** particulier qui influe sur les paramètres biotiques et abiotiques rencontrés (pH de l'eau et du sol, type de végétation, etc.). Les mares de la sablière Lannoy par exemple présentent, en moyenne, un pH moyen plus faible que les autres sites. Il faut toutefois noter que cette relation n'est pas absolue, certaines mares de la sablière Lannoy (n = 2) présentant un pH moins acide et certaines mares des carrières de Bierghes et du Clypot (n = 1 et n = 3 respectivement) un pH plus faible. Ainsi, cette explication doit être considérée avec précaution, d'autres paramètres pouvant également intervenir (tels que la pente des mares). De plus, le paramètre de durée de mise en eau présentant lui-même certaines limites, comme discuté précédemment.

Chaque site est également défini par sa **situation géographique**, exposée à des conditions météorologiques. La Belgique a subi de fortes sécheresses au cours de la phase de terrain, toutefois le sud du pays a profité de précipitations un peu plus fréquentes (Institut Royal Météorologique, 2018). Ces éléments permettent d'expliquer les différences majeures des paramètres des mares observées.

Les mares de la sablière Lannoy ont été plus rarement observées à sec. Ce phénomène peut être expliqué par deux facteurs, constituant les deux principales sources d'alimentation des plans d'eau du site (Life in Quarries, 2017c). D'une part, la nappe phréatique est affleurante et les écoulements rejoignent les mares ; d'autre part, la sablière est située du côté d'Arlon (sud de la Belgique) et a ainsi profité de précipitations plus abondantes. Ceci expliquerait que les **mares moins souvent asséchées** présentent un **pH moyen plus faible**.

L'assèchement des mares a un impact sur le recouvrement en végétation aquatique puisqu'il entrave la prolifération de la végétation aquatique qui ne survit pas à un manque d'eau trop étendu dans le temps. Ainsi, les **mares les plus souvent asséchées** présentent un **recouvrement en végétation aquatique plus faible**. Cette corrélation pourrait justifier la relation inversement proportionnelle liant le **recouvrement en végétation aquatique** au **pH moyen de l'eau de la mare**.

Le taux moyen de saturation en oxygène est quant à lui plus complexe à expliquer. Sa relation directe avec le **pH moyen** est difficilement interprétable. Un **phénomène d'eutrophisation** a été observé dans un faible nombre de mares plus acides, peu oxygénées et présentant un **recouvrement en végétation aquatique très important**. Cependant, de par sa rareté, il ne suffit pas à expliquer les différentes relations observées en lien avec le taux moyen de saturation en oxygène. Aussi cette variable nécessite d'être interprétée avec attention, d'autant plus que sa mesure sur le terrain fait l'objet d'une certaine critique.

Les relations présentées précédemment permettent également d'interpréter l'impact de la **pente des berges**. Les mares présentant des **berges en pentes plus fortes** auraient moins tendance à **s'assécher** : une mare en cuvette s'assècherait donc moins rapidement qu'une flaque - toutefois cette relation n'est pas si simple à cerner, faisant intervenir le volume d'eau dans la mare, déterminé par les facteurs de profondeur et de surface en eau. Ces mares en pentes fortes sont caractérisées par un recouvrement en végétation aquatique moins important et à un taux moyen de saturation en oxygène plus important.

Ainsi, l'impact apparent du **pH moyen** et de la **pente** sur les **variables biologiques de recouvrement en végétation aquatique et de taux moyen de saturation en oxygène** peut être dû à l'influence d'autres paramètres, tels que l'effet de **l'assèchement des mares sur ceux-ci par exemple**. Tous ces paramètres doivent donc être pris en compte simultanément afin de caractériser correctement les paramètres biotiques et abiotiques des mares.

Les relations liant le recouvrement en végétation terrestre au pH moyen de l'eau ou à la pente des berges sont quant à elles difficilement explicables par des phénomènes biologiques, physiques ou chimiques.

3. Partie 2 : Étude des paramètres influençant la présence de preuves de reproduction et l'abondance des pontes

a. Paramètres biotiques et abiotiques caractérisant les mares

i. Présence de preuves de reproduction

Parmi les mares échantillonnées, les **mares très profondes** (>5 m), qui ne présentent pas de preuves de reproduction du crapaud calamite, se démarquent des autres mares. Ainsi, une profondeur trop importante – ici supérieure à 5 mètres – ne semble pas adéquate pour la reproduction du crapaud calamite. Les autres mares, d'une profondeur plus faible ($\leq 0,5$ m), semblent quant à elles favorables à la reproduction du crapaud calamite. Ce phénomène pourrait être expliqué par la sélection des mares étudiées : celle-ci aurait uniquement inclus les mares a priori favorables à la reproduction du crapaud calamite – or seules les mares inaccessibles pour des raisons de sécurité ou liées à l'exploitation de la carrière n'ont pas été considérées. Une explication alternative serait que l'ensemble des mares visitées au sein des carrières est a priori favorable au crapaud calamite, ce qui n'implique pas forcément leur utilisation pour la reproduction de l'espèce. La fréquentation ou l'évitement de celles-ci ne dépendrait vraisemblablement pas des composantes biotiques ou abiotiques qui les caractérisent. Cela pourrait être expliqué par des éléments extrinsèques des caractéristiques des mares, par exemple par l'isolement des points d'eau par rapport aux mares déjà fréquentées ou par un simple effet aléatoire lié à l'utilisation des mares par l'espèce. Étant donné qu'aucune mare de profondeur intermédiaire (entre 0,5 et 5 m) n'a été échantillonnée, aucune conclusion ne peut être formulée pour ces profondeurs.

Une profondeur de 0,5 m est souvent mentionnée dans la littérature comme valeur seuil pour que la mare soit favorable au crapaud calamite (Banks et al., 1987; Denton et al., 1997; Beebee, 1983 cité par Titeux, 2000; Miaud et al., 2005; Bécart et al., 2007). Un optimum de profondeur entre 10 et 20 cm est parfois énoncé dans la littérature (Laudelout, 2016). D'ailleurs, une grande majorité de mares rencontrées et propices à la reproduction se situent dans une gamme de profondeur inférieure à 20 cm. Parmi les mares échantillonnées présentant une profondeur inférieure ou égale à 0,5 m, 56% des mares présentent des preuves de reproduction et environ 27% de ces dernières se situent dans cet optimum de profondeur. Cela signifie qu'une part non négligeable des mares présentant des têtards et/ou des pontes a une profondeur inférieure ou supérieure à l'optimum (respectivement 44% et 29%). Ainsi, cet optimum n'est pas pertinent d'après cette analyse et semble se généraliser à une profondeur inférieure au seuil de 0,5 m.

Parmi ces mares de faible profondeur, il apparaît que cinq d'entre elles sont soumises à un phénomène d'**eutrophisation** (faiblement oxygénées et fortement occupées par la végétation aquatique) et ne sont pas utilisées par le crapaud calamite pour sa reproduction. Les mares eutrophes sont en effet évitées par cette espèce (Sanuy et al., 2009). L'important recouvrement en végétation terrestre de ces mares provoque une accumulation de matière organique (feuilles mortes, etc.) ainsi qu'un ombrage empêchant la température de l'eau d'augmenter, exacerbant le phénomène.

Les mares occupées par l'espèce pour sa reproduction présentent en général un recouvrement en végétation terrestre plus modeste, soulignant l'importance de la température de l'eau. En effet, une faible profondeur accompagnée de bonnes conditions d'ensoleillement entraîne les conditions thermiques nécessaires au développement larvaire (Banks et al., 1987; Denton et al., 1997; Beebee, 1983 cité par Titeux, 2000; Miaud et al., 2005; Bécart et al., 2007; Rannap et al., 2012).

Les mares utilisées pour la reproduction présentent des **durées de mise en eau** variables, cependant des preuves de reproduction sont plus fréquemment observées dans des mares à durée de mise en eau plus longue. Cela ne signifie pas ici qu'il s'agit de mares permanentes, mais plutôt de mares qui ont toujours été observées en eau au cours des visites bimensuelles organisées lors de la phase de terrain (d'avril à mi-juin). Toutefois, cette temporalité doit être considérée avec attention : une mare trop éphémère ne convient pas à la survie (et donc à la présence) des pontes et des têtards, l'assèchement de celle-ci leur étant fatal. Le crapaud calamite a en effet besoin de mares temporaires pour assurer sa reproduction : sa capacité à accomplir ses premières phases de développement dans un court laps de temps lui permet de profiter de mares plus éphémères et ainsi de réduire la pression due à la compétition avec les autres espèces (Banks et al., 1987; Denton et al., 1997; Beebee, 1983 cité par Titeux, 2000; Miaud et al., 2005; Bécart et al., 2007). Le caractère temporaire des mares est également lié à leur faible profondeur et aux conditions d'ensoleillement, une mare peu profonde et ensoleillée étant plus sujette à l'assèchement

La **surface** semble avoir moins d'impact sur la présence de preuves de reproduction que la profondeur, des mares de surfaces variées pouvant être favorables à la reproduction du crapaud calamite (Laudelout, 2016).

Parmi ces mares de faible profondeur, il apparaît que les mares faiblement oxygénées et caractérisées par une plus faible proportion de berges en pentes douces ne sont pas utilisées par le crapaud calamite pour sa reproduction. Cette préférence pour des mares **oxygénées** et pour des **berges en pentes douces** est également renseignée dans la littérature (Banks et al., 1987; Denton et al., 1997; Titeux, 2000; Bécart et al., 2007; Beebee, 1983 cité par Rannap et al., 2012; Laudelout, 2016). La gamme de **pH** rencontrée dans les mares des différents sites coïncide avec les valeurs rencontrées dans la littérature (Banks et al., 1987).

ii. **Abondance des pontes**

Les mares très éphémères présentent une abondance plus faible de pontes. Cet effet pourrait être expliqué par le simple fait qu'une mare qui a plus souvent tendance à s'assécher a moins de probabilité d'obtenir un nombre de pontes observées élevé. Ce problème ne s'est pas posé pour la présence de preuves de reproduction, une unique observation de ponte(s) et/ou de têtards dans la mare étant suffisante pour que la présence soit considérée. Toutefois, l'existence d'une relation entre durée de mise en eau et abondance des pontes appuie l'argument énoncé précédemment : une mare s'asséchant trop

rapidement n'est pas favorable au crapaud calamite, les pontes et têtards n'ayant pas le temps de se développer. Les autres variables abiotiques et biotiques n'influencent pas l'abondance des pontes observées, alors que certaines d'entre elles (profondeur, recouvrement en végétation terrestre, pente des berges) affectaient la présence de preuves de reproduction. Il semble donc que, lorsque de bonnes conditions abiotiques et biotiques des mares sont rencontrées - c'est-à-dire des mares ensoleillées, de profondeur inférieure à 0,5 m avec des berges en pentes douces – les femelles de crapaud calamite peuvent y pondre tout au long de la période de reproduction et que le seul élément qui conditionne la quantité de pontes effectuées soit l'assèchement précoce ou trop fréquent de la mare.

b. Répartition spatiale des mares

La **répartition spatiale des mares** n'a d'impact ni sur la présence de reproduction ni sur l'abondance des pontes : un groupement de mares adjacentes (distance inférieure à 0,5 m) et contiguës en période de fortes pluies ne semble pas plus favorable à la reproduction du crapaud calamite qu'une mare unique plus isolée. Cela peut s'expliquer par le simple fait que les mares ne sont jamais très éloignées les unes des autres et que cette espèce présente un fort potentiel de dispersion (Sinsch, 1997; Leskovar et al., 2005; Sinsch et al., 2012). Une forte proximité et la continuité entre les points d'eau ne semblent donc pas être des critères importants dans le choix des mares pour la reproduction de l'espèce.

c. Passages d'engins et perturbations

Alors que le passage d'engins n'affecte pas la présence de preuves de reproduction, les mares situées en zones d'activité présentent une plus forte abondance de pontes que celles en zones plus calmes.

Les activités de la carrière sont déphasées par rapport à la phase active du crapaud calamite, les adultes de l'espèce étant nocturnes. Aussi, le choix des mares pour la ponte n'est pas directement influencé par la circulation de véhicules au sein du secteur, mais plutôt par les conditions d'ensoleillement, de profondeur et de pente des berges des mares qui s'y trouvent.

L'abondance plus importante des pontes dans les zones actives s'explique principalement par le fait que l'espèce dépend de milieux pionniers pour vivre. Ces zones sont plus sujettes à des perturbations qui permettent la création et le renouvellement des mares pionnières, essentielles à la survie du crapaud calamite. Ceci souligne l'intérêt des carrières pour les espèces dépendant de milieux pionniers (Gabory, 2014; Anrys, 2016; Life in Quarries, 2018).

Les secteurs plus calmes, qui correspondent à des remblais ou des lieux très rarement visités, montrent des preuves de reproduction : ce phénomène peut être dû au fort potentiel de dispersion de l'espèce ainsi qu'au fait que certaines mares de ces secteurs présentent des conditions favorables à la ponte. Toutefois, ces milieux sont moins enclins aux perturbations, ce qui pourrait expliquer que les mares qui s'y trouvent soient moins fréquentées par les femelles pour la ponte.

d. Origine de la mare

Les mares creusées intentionnellement imitent efficacement les mares spontanées de petite superficie et présentant des recouvrements en végétation terrestre et aquatique faibles. L'origine de la mare n'influence ni la présence de preuves de reproduction ni l'abondance des pontes, ce qui signifie que les mares creusées intentionnellement sont tout aussi efficaces que les mares spontanées. Cette perspective est intéressante dans le cadre du projet *Life in Quarries* et des autres projets similaires en général : les conditions abiotiques et biotiques favorables au crapaud calamite sont déjà bien cernées et le creusement des mares qui offrent ces conditions est une action de conservation efficace pour cette espèce.

4. Application concrète

Les carrières comportent des mares favorables au crapaud calamite, qui profite de ces milieux perturbés et de la création de milieux pionniers pour vivre et se reproduire. Le creusement de mares au sein des sites carriers est une action concrète qui permet de participer activement à la protection de cette espèce, en lui fournissant de nouveaux milieux où pondre. Les mares creusées devront être peu profondes, toutefois il semble que l'optimum de profondeur pour l'espèce soit moins limitant que ce qui est parfois mentionné dans la littérature. Ainsi, la profondeur des mares creusées pourra atteindre la limite supérieure de 0,5 m environ, ce qui rend le creusement des mares moins contraignant. Les mares devront être exposées au soleil et présenter des berges en pentes douces. En outre, il semble utile de favoriser l'existence de mares de surfaces et de profondeurs variées (mais toujours inférieure à 0,5 m), afin d'augmenter la probabilité que des mares de profondeur adéquates soient disponibles tout au long de la période de reproduction (Denton et al., 1997). Les mares peuvent être creusées dans tous les secteurs de la carrière, en fonction de l'organisation de l'activité. Toutefois, les mares seront plus efficaces en termes d'abondance de pontes dans les secteurs d'activité.

Les mares creusées dans le cadre du projet LIFE semblent respecter fidèlement ces conditions, ce qui explique leur succès en termes d'utilisation pour la reproduction : elles sont manifestement utilisées par le crapaud calamite pour sa reproduction. Cette étude encourage donc à poursuivre cette action dans la même ligne de conduite. De plus, elle encourage à creuser des mares dans les secteurs actifs des carrières, afin d'assurer leur utilisation pour la reproduction de l'espèce.

II. Chapitre 2 : Évaluation des méthodes de dénombrement

1. Limites du protocole

a. Critique des méthodes de dénombrement

La reconnaissance des **têtards et des pontes** est relativement facile à effectuer dès lors que l'on s'y intéresse. La détection de la présence est plus aisée que l'évaluation de l'abondance, et ce à la fois pour les têtards (qui sont souvent présents en très grand nombre) et pour les pontes (qui forment de longs filaments parfois difficilement dénombrables lorsqu'ils sont enchevêtrés). La présence de têtards est généralement plus facile à déterminer ; leur nombre et leur capacité de mouvement aidant à leur détection. L'efficacité de la recherche de preuves de reproduction dépend de la profondeur de la mare et de l'accessibilité des berges (Titeux, 2000). Il est important de rechercher ces éléments tout le long des berges, dans la mesure du possible afin de maximiser la probabilité de détecter la présence de pontes ou de têtards.

La pose de **plaques à amphibiens** est très facile et rapide à effectuer. Il est important de s'assurer qu'elles sont posées convenablement afin qu'elles présentent des conditions favorables au crapaud calamite (exposition, emplacement), comme décrit dans l'Introduction. Il est utile de bien observer les alentours avant de poser les plaques : elles seront probablement moins utilisées dans des milieux où il existe déjà des abris en pierre favorables au crapaud calamite. Ce cas a été observé sur le terrain au cours de ce travail, dans une sous-zone présentant de nombreux abris en pierre (construits dans le cadre du projet LIFE) et où de nombreux individus ont été capturés de nuit, sans qu'aucun individu n'ait jamais été aperçu sous aucune des plaques positionnées. De plus, lorsqu'une plaque mal positionnée est identifiée, elle devrait être déplacée afin de jouer efficacement son rôle de refuge et de pouvoir être utilisée dans le cadre de méthodes de dénombrement de l'espèce. Enfin, le relevé des plaques demande peu de temps sur le terrain et est très aisé à accomplir.

Les différentes **méthodes de dénombrement** (la recherche de présence de têtards et/ou de pontes et le comptage des individus adultes sous des plaques à amphibiens) sont faciles à appliquer, d'autant plus que l'espèce présente des signes distinctifs qui aident à la reconnaissance. Parfois demandeuses en temps lorsque le nombre de mares est important, ces méthodes restent très informatives même lorsqu'elles ne sont organisées qu'à quelques occasions sur l'année. Ceci rend leur utilisation facilement et réalistement applicable par des carriers dans le cadre du projet *Life in Quarries*. Quand bien même ces méthodes ne seraient pas pertinentes pour l'estimation du nombre d'individus de crapauds calamites présents dans une sous-zone, elles ont l'avantage d'informer sur la présence de l'espèce au sein du site carrier. Cette information peut se révéler utile pour identifier des lieux où creuser de nouvelles mares par exemple. De plus, ces méthodes participent à la sensibilisation des carriers à la biodiversité au sein de leur site.

b. Critique du recensement

Alors que les méthodes de dénombrement ont été appliquées tout au long de la phase de terrain, le **nombre d'adultes** dans la sous-zone est estimé par un recensement effectué au cours d'une seule soirée, selon des conditions météorologiques particulières. Cette méthode n'est pas suffisante pour estimer la taille de la population, notamment parce que la population de crapauds calamites est constituée de cohortes d'individus qui se succèdent notamment dans le temps (Sinsch, 1997). Elle n'est pas non plus suffisante pour estimer le nombre d'individus présents en carrière au cours de la phase de terrain. En outre, les comptages sont, de manière générale, de mauvais indicateurs des effectifs chez les amphibiens (Besnard A., com. pers., 14/05/2018; Wagner et al., 2011). Il faut également garder à l'esprit que le nombre d'individus capturés au cours d'une soirée ne traduit pas le nombre total d'individus présents à ce moment-là, la limite du temps, l'efficacité de l'équipe et la détectabilité des individus étant autant de paramètres qui conditionnent la réussite de l'expérience. En outre, la capture a été effectuée selon une trajectoire déterminée (parcours entre les mares), mais aucun rythme de prospection n'a été imposé. Dans ces conditions, cela n'exclut pas la surreprésentation des mâles chanteurs dans le recensement, ceux-ci étant plus facilement repérables par les opérateurs de terrain que les femelles (ou que les mâles présents, mais ne chantant pas). Ainsi, un recensement ponctuel n'offre pas la même probabilité de capture à tous les individus de la population (Pellet et al., 2005; Schmidt, 2005).

Néanmoins, le recensement ponctuel présente l'avantage de fournir rapidement et simplement des résultats exploitables et utiles pour évaluer les méthodes de dénombrement notamment. Il permet également d'identifier les endroits fréquentés par le crapaud calamite et d'estimer le nombre minimum d'individus présents au cours d'une nuit dans le site. Les données tirées des recensements sont donc utilisées comme valeur de référence dans le cadre de ce travail, faute de données plus précises.

La méthode de capture-marquage-recapture (CMR) permet une estimation précise de la taille de la population, aussi elle serait une alternative efficace au recensement pour l'évaluation des méthodes de dénombrement. Cependant, cette technique demande un protocole très rigoureux, pas toujours facile à appliquer et requiert un travail considérable, comme cela est expliqué dans le Chapitre 3.

c. Critiques à propos des sous-zones

La délimitation des sous-zones simplifie le travail sur le terrain et permet de répartir au mieux les activités au sein de la carrière. Cette approche rend possible la confrontation des résultats des recensements et des méthodes de dénombrement dans un milieu aussi étendu qu'une carrière. Toutefois, il est difficile de déterminer a priori, lors de la délimitation des sous-zones, si celles-ci sont toujours réellement occupées par le crapaud calamite, malgré les données d'inventaires. En effet, l'activité en carrière est très dynamique et le crapaud calamite très mobile. Les sous-zones inoccupées ont été traitées comme les autres sous-zones, et ce jusqu'à la fin de la phase de terrain. Cependant, d'un point de vue pragmatique, il serait intéressant de tenter d'identifier les raisons de cette absence

et d'agir en conséquence, en renouvelant les mares et le milieu en faveur du crapaud calamite, ou en établissant des actions visant d'autres espèces d'intérêt.

2. Évaluation des méthodes de dénombrement

Les techniques qui servent à estimer l'effectif d'une population sont très contraignantes en termes de temps de travail et de moment d'activité : les crapauds calamites adultes étant nocturnes, ces techniques doivent être appliquées après le coucher du soleil. De plus, une demande de dérogation est obligatoire pour la manipulation d'individus du crapaud calamite, cette espèce étant protégée. Ainsi, elles ne peuvent pas réalistement être proposées comme méthode de suivi aux carriers. C'est pour cela qu'il est utile de recommander et d'évaluer des méthodes de dénombrement plus faciles à mettre en place.

Le **comptage des mares qui présentent des preuves de reproduction** lors d'au moins une des trois visites mensuelles effectuées, en théorie, par les carriers semble être la seule méthode qui permette d'estimer le nombre d'adultes dans la sous-zone étudiée. Cette méthode fournit une fourchette du nombre d'individus présents dans la sous-zone : environ 4 à 5 fois plus que le nombre de mares occupées par des pontes et/ou des têtards au sein de la sous-zone. Cependant, cette méthode appliquée dans le cadre d'un suivi plus rigoureux, qui requiert des visites plus fréquentes, ne donne pas de résultats significatifs. Il paraît surprenant qu'une technique requérant un effort plus important en termes de visites et de travail sur le terrain fournisse un résultat moins fidèle et représentatif. Cette observation pourrait contester la pertinence de cette méthode de dénombrement selon l'approche pragmatique, d'autant plus que le degré de significativité de cette méthode était très faible. Il paraît plus intéressant de chercher une autre relation cohérente et plus significative.

Le comptage des individus sous les plaques dans le cadre des deux approches proposées semble également non représentatif du nombre total d'adultes présents dans la sous-zone, les résultats de cette méthode n'étant donc pas pertinents à ces fins.

Le recensement a été effectué en comptabilisant le nombre d'individus de chaque sexe, aussi il est possible d'effectuer la même analyse afin de déterminer si une méthode de dénombrement permet d'estimer le nombre d'individus d'un sexe dans la sous-zone.

Ainsi, le suivi des plaques est une méthode pertinente pour approcher le nombre d'individus mâles de la sous-zone, et cela selon les deux approches. Selon l'approche pragmatique, qui consiste en 3 visites de terrain mensuelles, le nombre d'individus mâles est presque égal au nombre d'individus sous les plaques : il y a environ 0,5 à 1 fois plus de crapauds calamites mâles dans la sous-zone que d'individus adultes sous les plaques, qu'importe leur sexe. D'après l'approche systématique, le rapport des deux variables diminue environ de moitié : le nombre d'individus mâles est égal à la moitié du nombre d'individus observés sous les plaques. Le sexe des individus observés sous les plaques n'ayant pas été relevé, il est difficile de mettre en avant une préférence des individus pour les plaques en fonction du sexe, sans information complémentaire.

Aucune autre relation significative n'a été obtenue. Il peut paraître étonnant que le nombre de mares présentant des preuves de reproduction ne soit pas significativement lié au nombre de femelles recensées, un rapport d'une ponte par femelle étant souvent mentionné dans la littérature (Beebee, 1983 cité par Denton et al., 1997; Graitson et al., 2007; Stevens et al., 2008). Cependant, ce rapport est souvent critiqué (Denton et al., 1996; Bécart et al., 2007). De plus, comme décrit plus haut, la phase de capture pourrait avoir sous-représenté le nombre de femelles : celles-ci restant silencieuses et donc plus discrètes que les mâles chanteurs, la probabilité de leur capture est plus faible étant donné que l'opérateur de terrain se déplace à son rythme selon un parcours.

3. Application concrète

Aucune méthode n'a pu être identifiée avec certitude pour estimer significativement le nombre d'individus adultes présents dans les différentes sous-zones. En revanche, le comptage des individus sous les plaques à amphibiens semble être un bon indicateur du nombre d'individus mâles adultes de la sous-zone, et cela est observé selon l'approche systématique et pragmatique. Elle peut donc être conseillée aux carriers dans le cadre du suivi effectué pour le crapaud calamite.

Ces méthodes de dénombrement (« Présence de reproduction » et « Plaques ») sont également utiles pour déterminer la **présence de l'espèce** dans les sous-zones. En outre, les actions qu'elles requièrent (c'est-à-dire la visite des mares et la pose de plaques à amphibiens) sont profitables à l'espèce : la visite des mares permet de s'assurer de l'état de celles-ci et de vérifier que les refuges créés par les plaques sont bien occupés par le crapaud calamite, à condition qu'elles soient bien positionnées.

Enfin, il semble que la fréquence mensuelle proposée pour les visites effectuées par les carriers soit suffisante et judicieuse. Celle-ci fournit des données exploitables dans le cadre du suivi du crapaud calamite tout en limitant la contrainte à un effort acceptable sur le terrain. Ainsi, les modalités du suivi pragmatique élaboré par le projet LIFE à l'intention des carriers, qui requiert un nombre et une fréquence de visites plus faibles, semblent acceptables et représentatives d'un suivi plus exigeant en termes de temps de travail.

III. Chapitre 3 : Critique de l'utilisation des programmes de reconnaissance photographique appliquée au crapaud calamite

1. Capture-Marquage-Recapture

Le protocole des captures et recaptures a été établi de façon à pouvoir être appliqué sur le terrain dans le temps imparti pour ce travail. Ainsi, le **nombre de passages** a été limité à 3, de façon à pouvoir être réalistement organisés au cours de la période de terrain compte tenu des critères de conditions météorologiques exigés. Ce nombre est toutefois faible pour l'application d'une telle méthode et insuffisant pour permettre l'estimation de la taille de la population d'une espèce telle que le crapaud calamite (Besnard A., com. pers., 14/05/2018).

Le protocole doit couvrir la totalité de la période d'activité de l'espèce et les intervalles de temps entre les passages doivent être fixés, particulièrement pour une espèce telle que le crapaud calamite qui présente une activité très étalée dans le temps, mais aussi très variable selon la météo (Besnard A., com. pers., 14/05/2018). Toutefois, aucun intervalle n'a été fixé au préalable dans le cadre de ce protocole, le but étant de pouvoir effectuer toutes les séances dans le temps imparti.

Néanmoins, les **conditions météorologiques** ayant été extrêmement sèches cette année y compris en Belgique (Institut Royal Météorologique, 2018), les 3 séances prévues pour chaque site n'ont pas pu être toutes réalisées. Une deuxième recapture n'a pas pu être organisée dans la carrière du Clypot.

Une autre critique du protocole établi concerne la **détection des individus** et leur **probabilité d'être capturés**. Outre le fait que tous les individus de la population n'ont pas la même probabilité d'être capturés étant donné que les cohortes se succèdent tout au long de la période d'activité de l'espèce, les individus présents au cours d'une même soirée présentent également une probabilité de capture différente. Ce phénomène a été décrit dans la partie « Recensement » du Chapitre 2. La phase de recapture, quant à elle, permet de limiter le biais de capture lié au sexe, les transects étant disposés aléatoirement, mais pas le biais lié à la période d'activité très étendue de l'espèce.

Le **degré de couverture** des transects dans la sous-zone est également une notion indispensable, liée à celle de probabilité de détection et de capture : il doit être assez important à chaque passage faute de quoi de nombreux individus risquent de présenter une probabilité de capture nulle, ces individus n'étant pas présents dans la zone de couverture (Besnard A., com. pers., 14/05/2018). Le degré de recouvrement de la capture varie de 5% à 10% et celui des recaptures de 15 à 30%, ce qui représente des valeurs relativement faibles. Celles-ci pourraient difficilement être plus élevées étant donné l'étendue importante des sous-zones et la limite de temps décernée à leur prospection.

Le protocole de recapture semble plus rigoureux que celui de la capture: la disposition aléatoire des transects et leur degré de recouvrement de la sous-zone plus important aident à réduire les problèmes liés à une détection faible des individus. Le protocole de la capture présente quant à lui l'avantage de capturer un grand nombre d'individus au cours d'une même visite, ce qui permet de créer une base

de données photographiques importante utile pour le reste de l'étude (notamment, dans le cadre de ce travail, pour le Chapitre 2).

Le **respect des conditions, météorologiques et temporelles**, des visites est indispensable et a pu être attesté au cours de la phase de terrain. Toutes les séances prévues ont été organisées dans la carrière de Bierghes, cependant la dernière visite effectuée (08/06/2018) a été précédée de précipitations insuffisantes compte tenu de la sécheresse de la période (Institut Royal Météorologique, 2018). Aussi, très peu de mares étaient en eau au cours de la deuxième recapture et le nombre d'individus rencontrés était faible par rapport à la recapture précédente. Les **précipitations** étant un peu moins rares dans le sud de la Belgique au cours de la phase de terrain (Institut Royal Météorologique, 2018), la sablière Lannoy a été visitée à cinq reprises. Au cours d'une de ces visites, aucun individu n'a été ni rencontré ni entendu : la **température de l'air** au moment du coucher du soleil était probablement trop faible ($<10^{\circ}\text{C}$), ce qui expliquerait l'absence de l'espèce (Beebee, 1983 cité par Amiard et al., 2017). Similairement, l'effectif de la phase de capture de Bierghes est plus faible que celui de la phase de recapture, probablement car les températures nocturnes ont rapidement chuté en dessous de 10°C au cours de la capture alors qu'elles sont restées supérieures à cette température tout au long de la recapture. Enfin, les différentes séances de terrain semblent confirmer le début du chant des mâles de crapaud calamite 30 minutes après le coucher du soleil (Blankenhorn, 1972).

Une situation particulière a été observée au sein de la sablière Lannoy. Cette carrière a présenté un nombre très faible d'individus rencontrés tout au cours de la phase de terrain. Au cours de deux autres visites sur les 5 effectuées, aucun individu n'a été aperçu ni entendu dans la carrière, pourtant le chant de différents mâles pouvait être perçu dans les alentours de la carrière. En effet, la sablière n'est pas enclavée dans une matrice agricole comme les deux autres sites carriers (Life in Quarries, 2017c), mais se situe à proximité du camp militaire de Lagland, lieu occupé par le crapaud calamite (Graitson et al., 2007; Laudelout, 2016). Ce travail ne permet pas de déterminer la raison de cette faible occupation du site par l'espèce, cependant il est probable que les individus se déplacent dans et hors de la carrière, indépendamment des limites du site, compte tenu du contexte paysager (Life in Quarries, 2017c) et du fort potentiel de dispersion de l'espèce (Sinsch, 1997; Leskovar et al., 2005; Sinsch et al., 2012).

Le protocole élaboré dans le cadre de ce travail doit être sujet à plusieurs modifications (nombre de passages, intervalles entre les passages, degré de couverture) de façon à le rendre plus rigoureux, dans les limites des contraintes d'accès et de temps liées au secteur carrier. Si le CMR devait être reconduit et les données analysées, les résultats du recensement ne seraient pas considérés comme ceux de la phase de capture. En effet, le protocole de recapture étant plus rigoureux, il serait plus pertinent de l'appliquer à la fois pour la phase de capture et la phase de recapture. De plus, il serait également intéressant d'appliquer cette méthode sur plusieurs années consécutives afin d'étudier les tendances observées au sein de la population.

2. Photo-identification informatisée

La critique du **marquage par photographie** a déjà été discutée dans la partie Introduction. Toutefois son application sur le terrain et sa combinaison avec une **photo-identification informatisée** permettent d'identifier certains éléments de discussion.

a. Temps de travail

Cette technique de marquage présente l'avantage d'être très facile à utiliser une fois qu'un dispositif photographique solide et pratique a été conçu, tel que celui construit dans le cadre de ce travail. Le temps de travail **sur le terrain** est relativement réduit lorsque l'équipe est organisée : des opérateurs de terrain capturent les individus rencontrés selon le protocole décrit pendant que le photographe détermine le sexe des individus capturés et les insère successivement dans le dispositif pour les prendre en photos. Toutefois, lorsqu'un grand nombre d'individus est capturé, le travail de terrain peut se révéler long et fastidieux. Il peut être utile de construire un deuxième dispositif si du matériel similaire est disponible : une attention particulière doit être portée à l'appareil photo et à ses paramétrages, de façon à ce que toutes les photos soient prises dans les mêmes conditions et restent ainsi analysables.

Un travail beaucoup plus conséquent est alors requis **en bureau**. Le temps nécessaire à la préparation des photos ne doit pas être sous-estimé : cette étape est de la plus haute importance pour l'utilisation des différents logiciels. La préparation des photos est plus longue pour I3S Pattern +, qui requiert la création d'empreintes pour chaque photo individuellement. La manipulation des programmes informatiques requiert également un temps non négligeable. L'analyse a été plus rapide pour le logiciel I3S, principalement parce que le mode opératoire *automatique* a été sélectionné pour celui-ci alors que Wild-ID, qui n'est pas autant automatisé, requière toujours l'opinion de l'utilisateur (*mode manuel*). L'analyse aurait été beaucoup plus longue pour le logiciel I3S si le *mode manuel* avait été utilisé pour compléter l'analyse.

Une étude de capture-marquage photographique-recapture appliquée au crapaud calamite a été effectuée aux glacis du fort de Noisy (France) et a employé une comparaison photographique visuelle basée sur le patron dorsal des individus (Amiard et al., 2016). Une telle analyse photographique a nécessité plus d'une cinquantaine d'heures de travail pour un peu plus de 350 photos. L'analyse informatisée des photos permet donc de réduire le temps de travail plus ou moins fortement en fonction du logiciel utilisé.

b. Qualité des photos

Il n'est pas toujours possible de garantir la qualité des photos pendant la phase de terrain, même lorsque le plus grand soin est apporté lors du séchage de l'individu et de la prise de la photo. Dans un milieu très boueux par exemple, le travail se complique rapidement. De plus, les individus restent rarement totalement immobiles le temps de la photo, n'appréciant pas d'être positionnés sur le dos. La photo présente alors des risques d'être floue et/ou inadéquate, lorsque le crapaud prend une pose qui empêche l'analyse (individu pas parfaitement sur le ventre/dos, pli de peau au niveau du ventre, etc.).

La netteté de la photo est problématique pour les deux logiciels, car ils ne sont pas toujours capables d'identifier correctement l'entièreté du patron ventral de l'individu. La position de l'individu dans la boîte de Pétri empêche parfois d'obtenir une image complète de son patron ventral : il arrive parfois qu'une patte de l'individu soit mal positionnée, ce qui réduit la zone utilisée pour la comparaison photographique. La posture du sujet représente une des limites du programme I3S (Sannolo et al., 2016). Ce logiciel semble moins sensible à la propreté de la peau des crapauds calamites, l'empreinte permettant de simplifier l'image et de réduire la variabilité provoquée par des éléments ou effets indésirables (impuretés, « nuage » provoqué par de la boue, etc.). Toutefois, la présence de corps étrangers (cailloux, brindilles) n'est pas bien perçue par le logiciel, qui inclut l'élément dans l'empreinte de l'individu. Les différents cas discutés pour le logiciel I3S Pattern + sont présentés en **Annexe 14**. Pour Wild-ID, il est plus difficile d'émettre des constatations sur son fonctionnement, la reconnaissance des éléments de référence étant plus discrète : l'utilisateur n'est pas invité à participer à la reconnaissance de ces éléments ni à observer le résultat final. Il faut donc être prudent lors de la comparaison de photos de qualité médiocre. En outre, les deux logiciels exigent que les photos soient prises perpendiculairement à la zone d'identification (le ventre des individus). Le dispositif de photo construit dans le cadre de ce travail a permis d'éviter tout problème lié à cette exigence.

Étant donné que la qualité des photos conditionne les résultats de l'analyse, il est conseillé de veiller à ce que les photos soient correctement prises, par exemple en prenant un plus grand nombre de photos de chaque face de l'individu, en enlevant la boue et autres impuretés de la peau des individus à l'aide de l'eau des mares ou en s'assurant de la position de l'individu avant de refermer la boîte de Pétri et la boîte en bois. La phase de terrain en est alors un peu plus longue, mais permettra une plus grande qualité des résultats.

c. Biais de l'utilisateur

Un logiciel qui nécessite l'appui de l'utilisateur pour la vérification des matchs (*mode manuel*) produit une analyse biaisée par ce dernier. Toutefois, la technologie de photo-identification n'est pas sans faille et l'implication de l'utilisateur permet de vérifier les résultats obtenus par analyse informatisée.

Il est possible d'augmenter le degré de certitude de l'utilisateur lors de la révision des matchs, en utilisant des critères supplémentaires qui permettent de « trier » les nombreuses photos, tels que le sexe des individus ou leur taille. Cette dernière idée n'a pas été appliquée dans le cadre de ce travail, mais aurait tout à fait pu l'être compte tenu du dispositif photographique employé : les crapauds ont été photographiés dans une boîte de Pétri, de dimension donnée, qui peut servir d'échelle afin de mesurer la taille du crapaud calamite.

d. Critique des logiciels de photo-identification

En vue d'évaluer la **performance des logiciels**, la comparaison photographique a été appliquée dans deux cas différents : d'une part, les photos d'individus indubitablement différents ont été comparées, d'autre part, des photos d'individus identiques ont été confrontées.

Les conclusions quant aux scores des **individus différents** sont mitigées. Wild-ID semble discerner efficacement deux individus différents. Il est toutefois plus difficile de tirer des conclusions quant au score calculé pour ces paires par le programme I3S, car aucune indication n'est fournie sur la limite supérieure possible du score d'après ce logiciel. Il identifie, pour les deux cas de figure, environ 16 correspondances entre les éléments de référence des photos alors que celles-ci appartiennent à des individus différents. Il semble possible que deux photos d'individus tout à fait différents présentent tout de même quelques similarités. Cependant, ce nombre de correspondances est difficile à comparer d'un cas à l'autre, puisqu'il dépend notamment du nombre de taches noires identifiées sur le ventre de chaque individu. Ainsi, il est plus difficile de confirmer qu'I3S reconnaît réellement des photos différentes.

La valeur obtenue par Wild-ID dans les deux cas de figure présentés pour les **individus identiques** est très différente, le score le plus élevé étant six fois plus grand que le score le plus faible. Ainsi, Wild-ID identifie des similarités entre les photos d'une même paire, mais propose des scores très variables d'un cas à l'autre, ce qui ne garantit en rien une réelle correspondance entre les deux photos. I3S, quant à lui, ne semble pas capable de reconnaître systématiquement des individus identiques, ceux-ci pouvant parfois obtenir un score plus élevé que des individus tout à fait différents.

La comparaison des logiciels a jusqu'ici uniquement porté sur les **scores** obtenus pour les paires de photos, qui ont prouvé être difficilement interprétables. Toutefois, les deux logiciels fournissent également un **classement des scores** lors de l'analyse des photos, qui permet une meilleure interprétation des résultats obtenus.

Les deux logiciels détectent que les **individus différents** sont bien dissemblables, en leur décernant une place éloignée de la tête du classement. La position au milieu du classement semble cohérente, d'autres individus de la base de données pouvant être plus dissemblables. Les **individus identiques**, quant à eux, ont toujours été détectés par Wild-ID alors que les résultats sont plus mitigés pour I3S, comme cela a été le cas pour les scores.

La critique des logiciels présentée ici est limitée, car elle se base sur un petit nombre de cas, cependant ils permettent tout de même d'identifier certaines faiblesses des programmes informatiques pour la photo-identification. L'absence d'un score borné à la fois inférieurement et supérieurement rend l'interprétation des résultats difficiles voire impossible sans autre base de comparaison. Le classement des scores, beaucoup plus informatif, aide à l'interprétation du score et permet une meilleure comparaison des deux logiciels. Le logiciel Wild-ID réussit à identifier les individus identiques

et différents. I3S, par contre, semble efficace pour identifier les individus différents, mais les résultats sont plus incertains quant à la comparaison d'individus identiques.

e. Effectifs des sites carriers

Un plus grand nombre de mâles que de femelles a été capturé au cours de chaque épisode de CMR effectué au sein de chaque carrière. Ce résultat était attendu pour les captures, qui introduisent un biais en faveur des mâles chanteurs, très facilement détectables par l'opérateur de terrain. Cette différence d'effectif observé peut s'expliquer par l'écologie comportementale de l'espèce. La migration des individus vers les lieux de reproduction est stimulée par des conditions météorologiques particulières des jours (et nuits) précédents (Sinsch, 1992). Les femelles sortent quelques jours après les mâles, qui inaugurent le mouvement, et elles passent peu de temps dans les sites de reproduction (Sinsch, 1992; Amiard et al., 2016).

Étant donné que Wild-ID semble mieux identifier les individus identiques et que son *mode manuel* est plus facile d'utilisation, ce logiciel a été sélectionné pour l'analyse de l'ensemble des photos.

Tout en tenant compte des limites énoncées, Wild-ID a été combiné à la vérification par l'utilisateur (*mode manuel*) sur **l'ensemble des photos** produites au cours des phases de terrain, scindé en fonction du site prospecté et du sexe des individus. Au total, 25 matchs ont été identifiés au cours de toutes les analyses effectuées. Ainsi, 108 individus différents ont été rencontrés dans la carrière de Bierghes, 4 individus distincts ont été capturés dans la sablière Lannoy et la carrière du Clypot présente le plus grand nombre d'individus rencontrés différents, avec un total de 203 crapauds calamites.

L'écologie comportementale peut également justifier qu'un plus grand nombre de mâles que de femelles ait été capturé à deux reprises (23 individus mâles contre 2 individus femelles). La confirmation d'une recapture de deux femelles constatée au cours de l'analyse photographique conteste les résultats de l'étude de CMR effectuée aux glacis du fort de Noisy en 2016 d'après laquelle aucune femelle n'a été recapturée (Amiard et al., 2016).

Cette analyse photographique permet de dégager **deux éléments de discussion supplémentaires**. D'une part, le nombre d'individus différents a été obtenu à partir de capture et de recaptures organisées tout au long de la période de terrain. Ainsi, les effectifs obtenus pourraient être utilisés pour étudier les méthodes de dénombrement (Chapitre 2). Dans ce cas, la limite discutée plus haut quant à la non-représentativité du recensement pour la période d'étude pourrait être rediscutée. Toutefois, les autres limites identifiées sont toujours d'application. D'autre part, des déplacements d'individus d'une sous-zone à une autre ont été observés au sein de la carrière du Clypot entre les sous-zones 1 et 2, les échanges étant effectués dans les deux sens. Cela indique que ces deux sous-zones n'étaient pas réellement isolées. Le critère de sélection et de délimitation des zones reposait sur l'existence d'une barrière topographique, la sous-zone 1 se situant dans une large fosse assez profonde (3 à 4 mètres). Il semblerait donc que cette barrière identifiée n'en soit pas réellement une pour l'espèce.

3. Application concrète

La méthode du CMR est intéressante dans le cadre du projet *Life in Quarries*, car elle permet d'estimer la taille de la population au sein du site carrier et d'évaluer les tendances de la population lorsqu'elle est appliquée sur plusieurs années. Elle aide également à déterminer les zones occupées par le crapaud calamite ainsi que les déplacements effectués entre celles-ci, ce qui permettrait de mieux cerner son utilisation de l'espace et de tirer avantage de ces informations dans la gestion dynamique de la biodiversité du site.

Il semblerait que le crapaud calamite puisse effectivement être identifié sur base de son patron ventral. Le marquage photographique semble être une technique efficace, et relativement rapide à appliquer sur le terrain. La reconnaissance photographique informatisée est une approche innovante dans le suivi du crapaud calamite et qui nécessite d'être envisagée et étudiée plus en profondeur. L'utilisation de logiciels de reconnaissance photographique nécessite, directement ou indirectement, l'intervention de l'utilisateur, ce qui requiert un travail long et fastidieux. Toutefois le travail aurait été encore plus long sans l'aide de ceux-ci. D'après les essais effectués sur un petit nombre de photos, le logiciel Wild-ID semble plus rapide d'utilisation et plus efficace pour la comparaison photographique que le programme I3S Pattern +. Toutefois, l'analyse photographique qu'il effectue n'est pas aussi transparente que celui d'I3S Pattern + qui permet à l'utilisateur de visualiser les différentes étapes de celle-ci. Ainsi, Wild-ID exige une qualité irréprochable des photos, ce qui n'est pas toujours possible sur le terrain. Il serait intéressant de vérifier ces constatations et d'approfondir la comparaison avec un plus grand nombre de photos, de façon à mieux identifier la variabilité des scores obtenus.

La méthode de Capture-Marquage-Recapture requiert, en plus d'une demande de dérogation, un travail de terrain (capture et recapture) et de bureau (reconnaissance photographique) important et doit être effectuée par une équipe encadrante et extérieure au personnel carrier. Les différentes phases de capture et recaptures représentent une expérience intéressante et singulière, aussi l'accompagnement par des membres du personnel carrier, s'il est autorisé, est bien sûr encouragé. En effet, le CMR, en plus d'être une méthode scientifique rigoureuse, peut contribuer à un effort de sensibilisation, crucial dans un projet tel que le projet *Life in Quarries*.

Conclusion

Ce travail de fin d'études a pour but d'évaluer la pertinence des actions et des méthodes de dénombrement proposées dans le cadre de la gestion dynamique de la biodiversité en faveur d'une espèce Natura 2000, le crapaud calamite (*Epidalea calamita* (Laurenti, 1768)), dans trois sites carrières participant au projet *Life in Quarries*. Trois objectifs ont été identifiés :

- caractériser les mares rencontrées en carrières (n = 109) et identifier les paramètres biotiques et abiotiques des mares déterminants pour la reproduction de cette espèce afin de conseiller au mieux les carrières pour le creusement de mares pionnières ;
- évaluer la pertinence de deux méthodes de dénombrement : la présence de preuves de reproduction dans les mares et le dénombrement des individus métamorphosés sous des plaques à amphibiens ;
- critiquer la faisabilité d'une étude de capture-marquage-recapture et tester la reconnaissance par photo-identification informatisée appliquée au crapaud calamite.

La réalisation de ces objectifs a permis d'émettre plusieurs conclusions relatives aux actions et méthodes proposées dans le cadre du projet *Life in Quarries*.

Les paramètres environnementaux qui caractérisent les mares visitées au sein des carrières sélectionnées sont principalement conditionnés par le contexte géographique, pédologique et hydrologique. Les mares préférentiellement fréquentées par le crapaud calamite présentent une faible profondeur (<0,5 m), des surfaces variables, de bonnes conditions d'oxygénation et d'ensoleillement et des pentes douces. Les mares identifiées au sein des carrières étudiées semblent toutes favorables à la présence de preuves de reproduction de l'espèce. L'absence de preuves de reproduction semble donc indépendante des conditions biotiques et abiotiques des mares. Les mares creusées dans le cadre du projet LIFE reproduisent efficacement les conditions rencontrées parmi les mares spontanées, ce qui signifie que les paramètres déterminant l'utilisation des mares pour la reproduction de l'espèce sont déjà bien cernés. Ce travail permet d'ajouter quelques précisions à ces connaissances, notamment en termes de gamme de profondeur optimale qui semble plus étendue que ce qui est recommandé dans la littérature. De plus, il informe sur les zones où ces mares peuvent être préférentiellement creusées, les secteurs en activité étant favorables à la reproduction de cette espèce pionnière.

Toutes les méthodes de dénombrement ne sont pas efficaces pour obtenir une estimation de l'effectif de la population. Le dénombrement des adultes sous des plaques à amphibiens semble permettre d'approcher le nombre d'individus mâles recensés dans la sous-zone. Toutefois, ces méthodes sont particulièrement pertinentes pour localiser les secteurs de la carrière où l'espèce est présente. Ce travail atteste de la représentativité du suivi pragmatique développé par le projet à l'intention des carrières par rapport à un suivi plus exigeant en termes de temps de travail. L'appropriation de ces méthodes par les carrières leur permet, pour un effort sur le terrain acceptable, d'assurer un suivi des actions

effectuées sur le terrain (creusement de mares, construction d'abris, etc.) et de mieux désigner de prochaines zones qui pourront être attribuées à ces actions, en accord avec la planification des activités extractives du site.

Les études de capture-marquage-recapture requièrent un protocole rigoureux, des conditions météorologiques précises et un investissement en temps important. Aussi est-il difficilement envisageable de proposer cette approche aux carriers comme méthode de dénombrement. Elle apporte pourtant des informations très utiles sur l'effectif de la population au sein d'un site et sur ses tendances lorsqu'elle est appliquée sur plusieurs années. Pour ces raisons, il serait intéressant qu'une telle étude soit entreprise au sein des sites carriers participant au projet LIFE et soit conduite, selon un protocole rigoureux, par une équipe indépendante. Les résultats permettraient d'évaluer avec plus de précision la pertinence des méthodes de dénombrement proposées aux carriers, la comparaison effectuée dans ce travail résultant d'un compromis entre le temps imparti, les conditions météorologiques et la précision des résultats attendue.

Le marquage photographique semble être une méthode adaptée au crapaud calamite, son patron ventral pouvant servir de base d'identification des individus. L'analyse présentée dans ce travail n'a pas été effectuée sur les patrons dorsaux : il serait intéressant de vérifier si ceux-ci sont discriminants et s'ils peuvent servir de complément au patron ventral lors de l'identification des individus.

La reconnaissance photographique automatisée présente des résultats différents en fonction du logiciel utilisé et de son mode de fonctionnement. Les résultats obtenus sont conditionnés par la qualité des photos et la netteté de la peau des individus, mais restent toutefois encourageants. Cette approche innovante et riche en applications – notamment la mise en place d'un CMR appliqué au projet *Life in Quarries* – mériterait donc une attention particulière. Le temps de travail requis par ces programmes informatiques est non négligeable, mais reste toutefois inférieur au temps requis par l'analyse effectuée à l'œil nu.

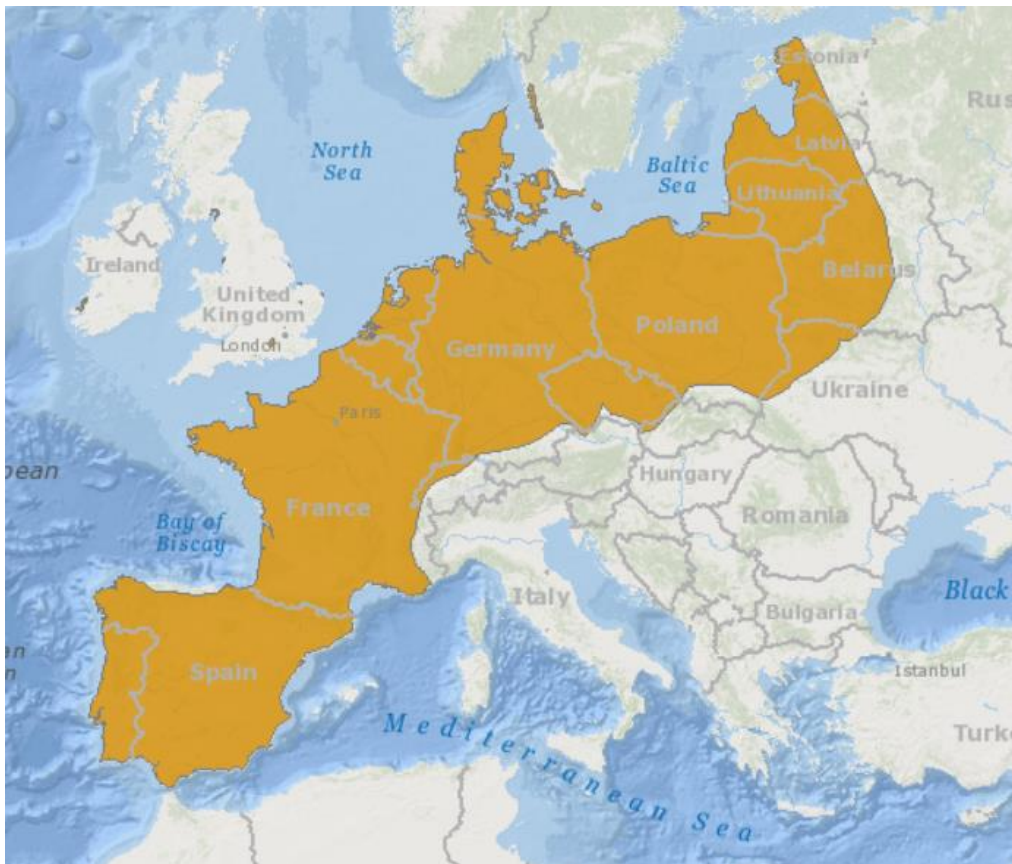
Ce travail présente une évaluation de la pertinence des actions et des méthodes suggérées par le projet *Life in Quarries* et propose des recommandations pour une application concrète par les carriers (**Annexe 15**). Il lance également des pistes de réflexion quant à l'utilisation de méthodes quantitatives et innovantes pour des applications futures. Les résultats obtenus peuvent s'appliquer de façon concrète dans le suivi et la conservation d'une espèce menacée en Wallonie, le crapaud calamite, et dans la gestion de milieux pionniers dont elle dépend.

Annexes

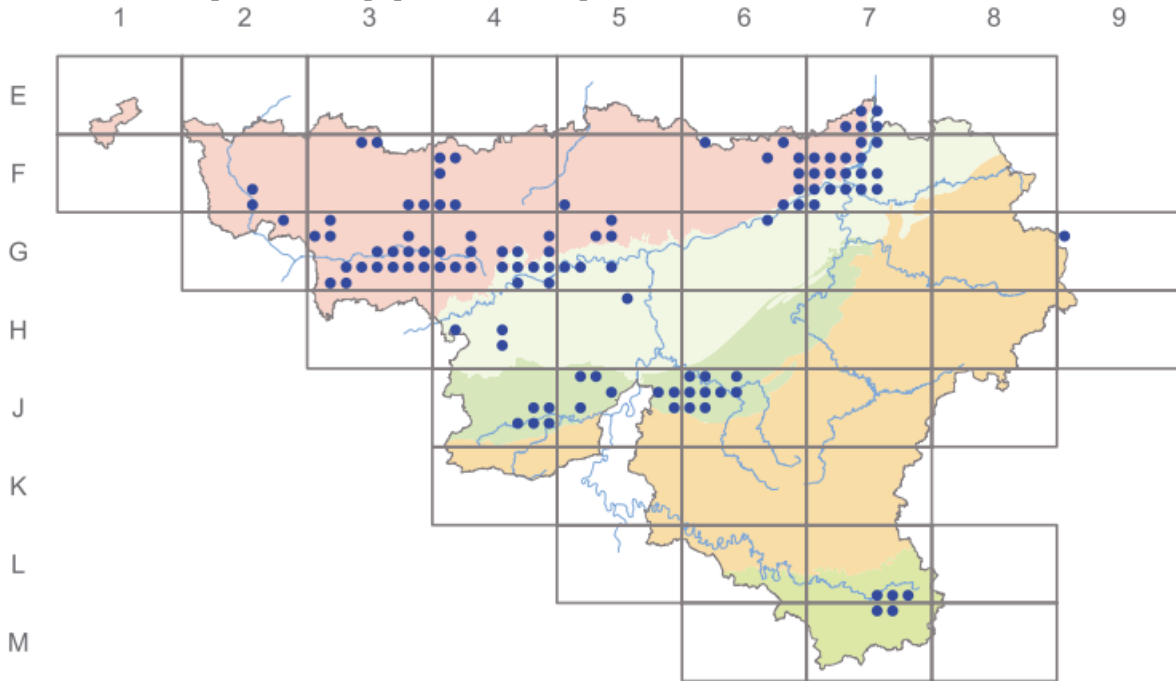
Annexe 1 : *Epidalea calamita* (Laurenti, 1768).



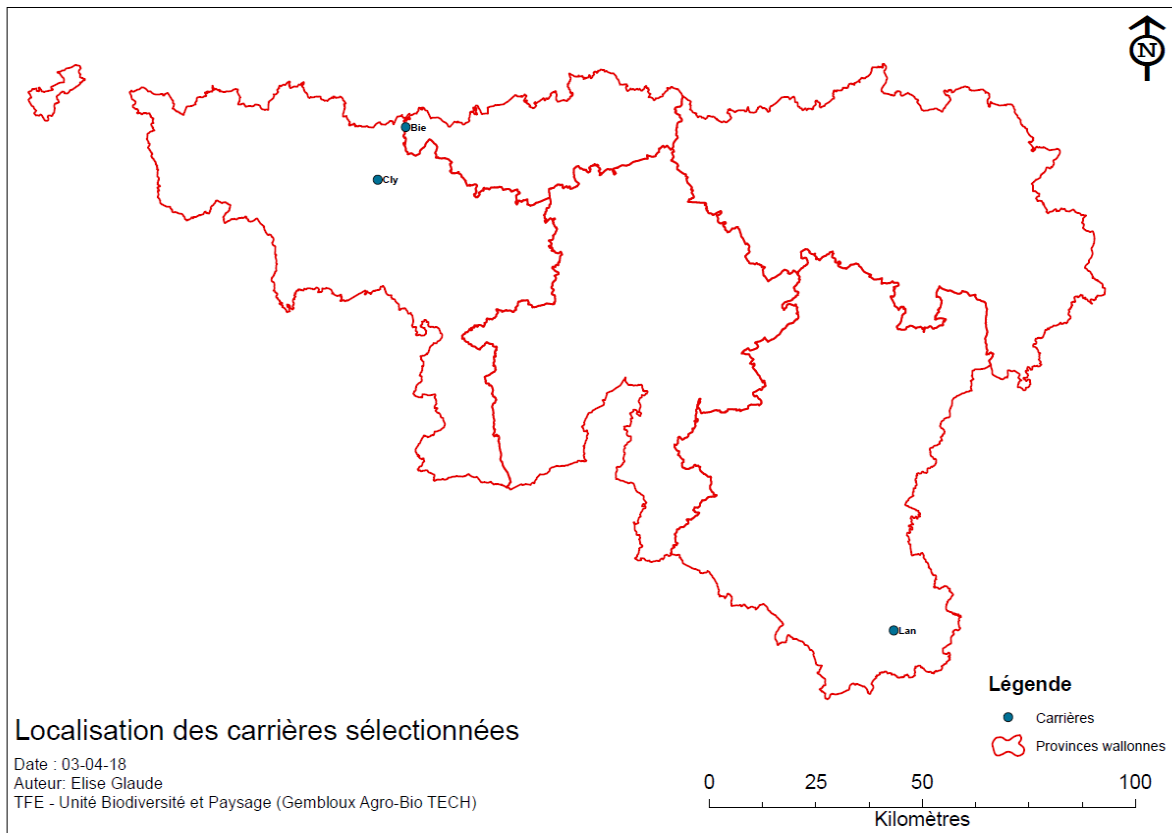
Annexe 2 : Aire de répartition du crapaud calamite à l'échelle internationale (Beja et al., 2009).



Annexe 3 : Répartition des populations de crapaud calamite en Wallonie (Graitson et al., 2007).



Annexe 4 : Localisation des sites carrières sélectionnés.



Annexe 5 : Protocole d'encodage sur la plateforme OFFH proposée par le DEMNA.

L'encodage a été effectué sur la plateforme OFFH proposée par le DEMNA, selon le protocole présenté ci-dessous. Les termes en gras correspondent au vocable d'édition proposé par la plateforme. Les termes en italique représentent les noms des éléments créés lors de l'encodage.

Trois **stations** ont été créées, correspondant aux trois sites carriers visités : *Bie_TFE*, *Cly_TFE* et *Lan_TFE*.

Au sein de chaque **station**, une **liste** a été créée pour chaque type de relevé :

- *Mares* : relevé des paramètres environnementaux ponctuels
- *Visites mares* : relevé des paramètres environnementaux observés à chaque visite et le suivi des pontes/têtards
- *Plaques* : relevé du nombre d'individus adultes sous les plaques
- *CMR* : relevé du nombre d'individus adultes capturés au cours des sessions de capture/recaptures

Chaque **liste** a été répliquée pour chaque visite effectuée, formant ainsi différentes **conditions**. Ces **conditions** présentent la date de visite ainsi qu'une légende, encodée dans le registre *commentaires*.

- *Mares* : une seule **condition**.
 - o Légende : mare LIFE (O/N) // Ensoleillement (%) // recouvrement en végétation terrestre (%) // substrat (A/B/G/R/S/X) // pente (%) // type (Ba/De/Ff/FI/Fo/Ma/Or/Pu) // agglomération (O/N) // Note
- *Visites mares* : une **condition** par visite, 5 au total.
 - o Nom : « Visites mares » n° - date [ex : « Visites mares » 1 – 18/04]
 - o Légende : profondeur max (m) // surface (m²) // recouvrement végétation aquatique (%) // pH // oxygène (mg/L) // température (°C) // Note
- *Plaques* : une **condition** par visite, 5 au total.
 - o Nom : « Visites plaques » n° - date [ex : « Visites plaques » 1 – 18/04]
- *CMR* : deux ou trois **conditions**, en fonction du nombre de sessions effectuées au sein du site.
 - o Nom : CMR_01 pour la capture, CMR_02 et CMR_03 pour les recaptures

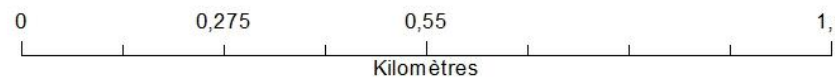
Pour les différentes **conditions**, des **observations** ont été créées :

- *Mares* et *Visites mares* : une observation par mare.
 - o Le nom des mares est renseigné dans le registre *Coll.* et est construit par la première lettre du site associé au numéro de la mare (ex : B_01 pour la 1^{ère} mare de Bierghes).
 - o Le nombre de pontes observées est renseigné dans le registre *N*, les paramètres environnementaux et la présence de têtards sont encodés dans le registre *commentaire* selon la structure de légende définie plus haut.
- *Plaques* : une observation par plaque.
 - o Le nom des plaques est renseigné dans le registre *Coll.* et est construit par la première lettre du site associé à l'intitulé « P1 » ainsi qu'au numéro de la plaque (ex : BPI_01 pour la première plaque de Bierghes).
 - o Le nombre d'individus observés sous les plaques est renseigné dans le registre *N*.
- « *CMR* » : une nouvelle observation par sexe et par sous-zone est créée.
 - o Le nom des sous-zones est renseigné dans le registre *Code utilisateur* et est construit par l'intitulé « SZ » associé au numéro de la sous-zone (ex : SZ_01).
 - o Le nombre d'individus capturés est renseigné dans le registre *N*, le sexe dans le registre *Sexe*.



Sous-zones et Zones à plaques - Carrière de Bierghes

Date: 08-08-18
 Auteur: Elise Glaude
 TFE - Unité Biodiversité et Paysage (Gembloux Agro-Bio Tech)



Légende

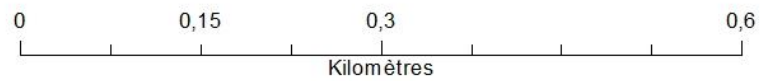
- Mares
- Plaques
- Zones à Plaques
- Sous-Zones
- Limites des sites

(b)



Sous-zones et Zones à plaques - Sablière Lannoy

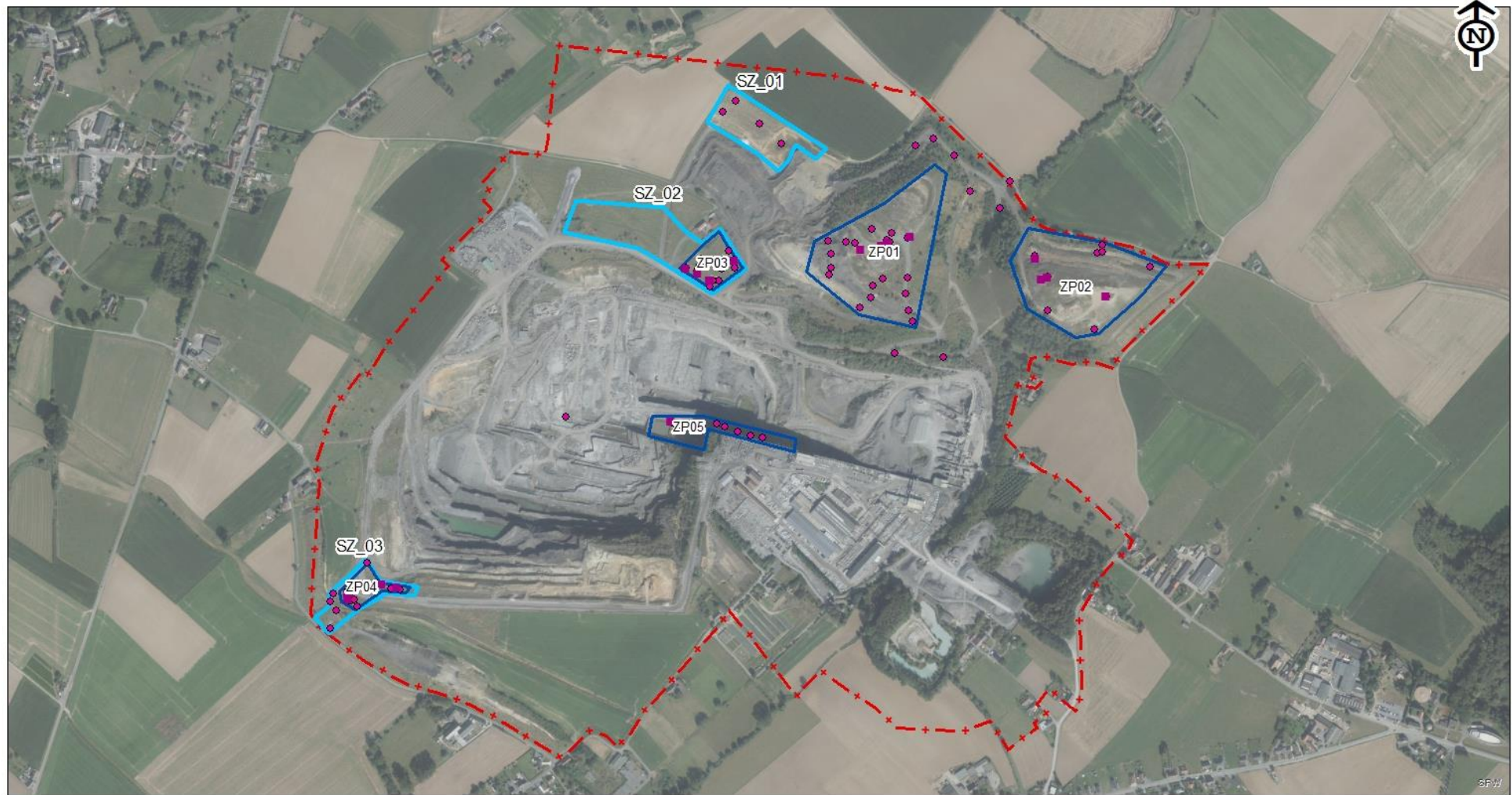
Date: 08-08-18
 Auteur: Elise Glaude
 TFE - Unité Biodiversité et Paysage (Gembloux Agro-Bio Tech)



Légende

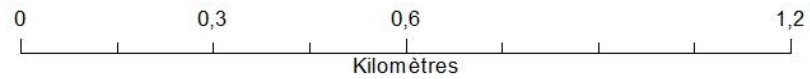
- ◆ Mares
- Plaques
- Zones à Plaques
- Sous-Zones
- ⊕ Limites des sites

(c)



Sous-zones et Zones à plaques - Carrière du Clypot

Date: 08-08-18
 Auteur: Elise Glaude
 TFE - Unité Biodiversité et Paysage (Gembloux Agro-Bio Tech)



Légende

- ◆ Mares
- Plaques
- Zones à Plaques
- Sous-Zones
- ⋈ Limites des sites

Annexe 7 : Dispositif photographique utilisé pour la phase de marquage. L'objectif de l'appareil photo et la lampe de poche stylo s'engagent dans 2 ouvertures au niveau du couvercle de la boîte (20 cm x 24 cm (base) ; 24 cm (hauteur)). Une boîte de Pétri (90 mm x 14 mm) est disposée dans le fond de la boîte et est maintenue fermée par 3 cales en bois dont la hauteur peut être ajustée.

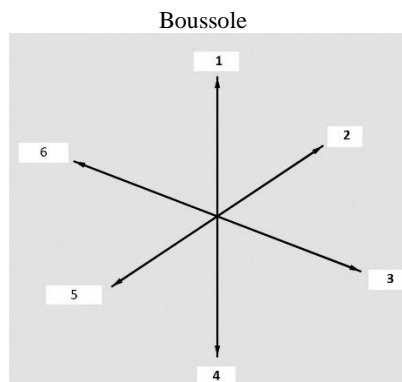


Annexe 8 : Récapitulatif du protocole de recapture.

Matériel

- Seau/éprouvette/gants/lampes de poche
- 1 dé
- Table de nombres aléatoires

	1	2	3	4	5	6
1	6	13	10	2	11	23
2	4	25	19	20	4	15
3	24	19	20	13	9	6
4	20	27	9	3	22	11
5	8	29	21	12	27	10
6	4	12	12	2	23	21

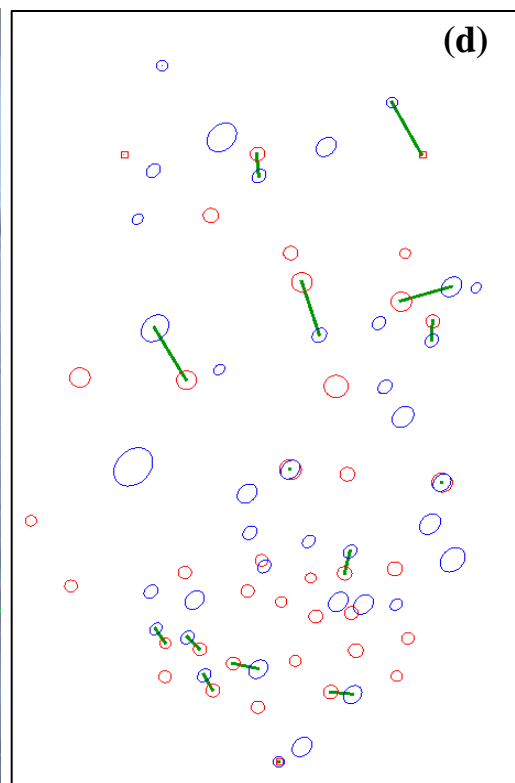
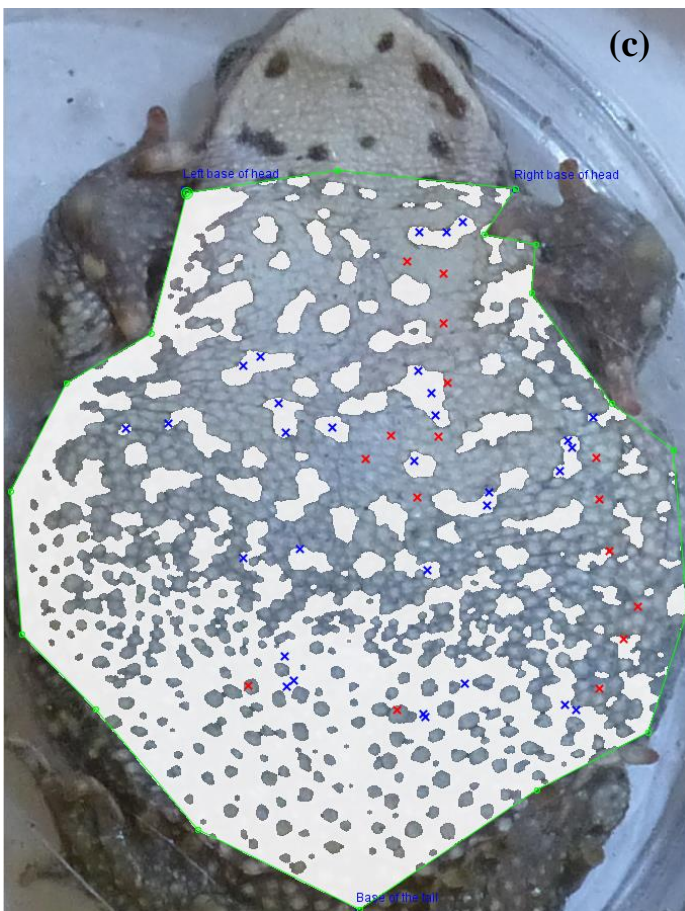
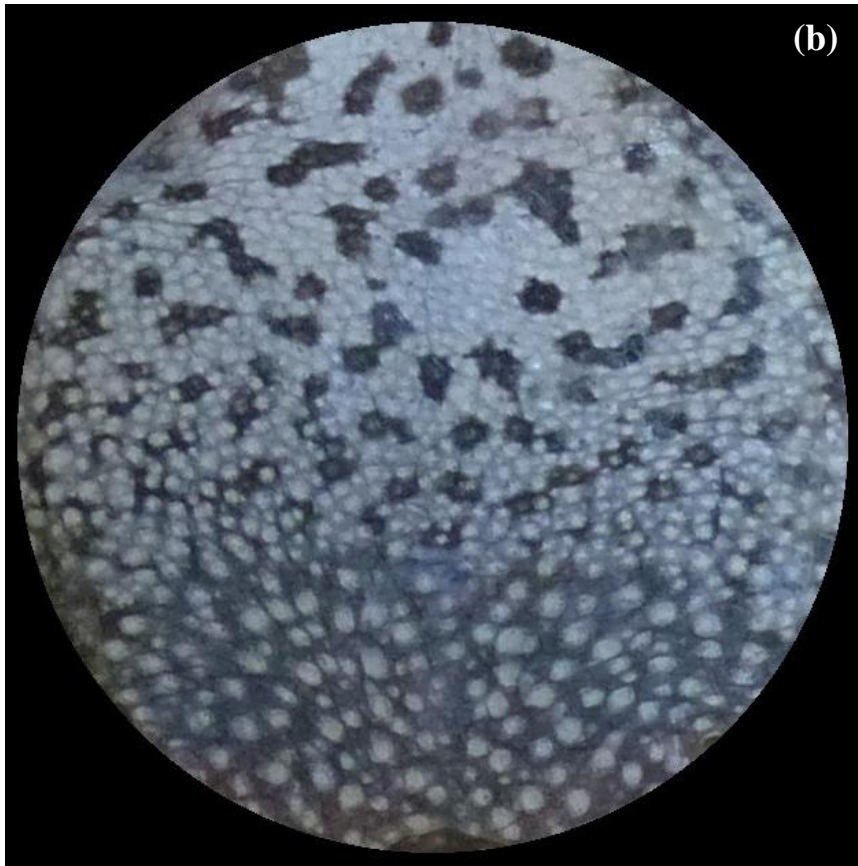


Mise en œuvre

1. Démarrer au point déterminé aléatoirement par cartographie
2. Lancer le **dé** pour déterminer la direction à prendre à l'aide de la **boussole**
3. Pendant 3 minutes, parcourir un transect de 50 mètres de long (sur 3 mètres de large) dans cette direction. Capturer tous les individus rencontrés de façon à parcourir la distance de 50 mètres dans le temps imparti.
 - En cas d'obstacle, celui-ci peut être soit franchi s'il ne présente pas de risques, soit évité en continuant la capture.
 - À la frontière de la sous-zone, le **dé** doit être relancé afin de définir une nouvelle direction à l'aide de la **boussole** pour finir le transect.
4. Une fois le transect effectué :
 - Utiliser la **table de nombres aléatoires** en lançant le dé à deux reprises. Le 1^{er} lancer correspond au numéro de la colonne, le 2^e lancer au numéro de la ligne. Le chiffre indiqué représente un nombre de secondes.
 - Utiliser la **boussole** en lançant de nouveau le dé.
 - Marcher pendant le nombre de secondes trouvé dans la direction indiquée sans capturer aucun individu. L'arrêt correspond à un nouveau point de départ de transect de capture.
5. Retour à l'étape 2
6. Répéter l'expérience
 - Zone 30 minutes-homme : de façon à ce que l'équipe effectue un total de 10 transects dans la sous-zone.
 - Zone 60 minutes-homme: de façon à ce que l'équipe effectue un total de 20 transects dans la sous-zone.
 - Zone 90 minutes-homme: de façon à ce que l'équipe effectue un total de 30 transects dans la sous-zone.

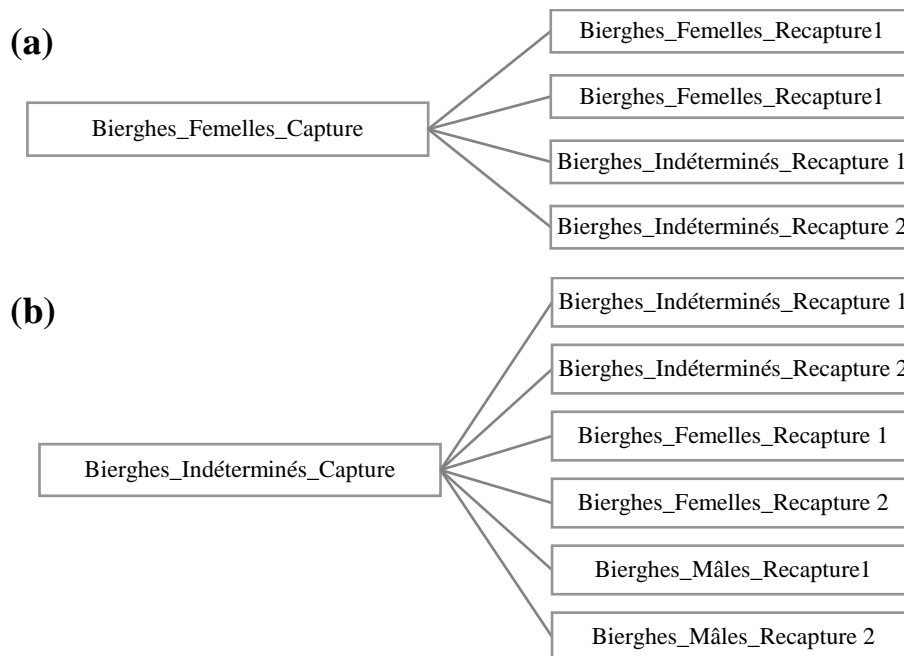
Annexe 9 : Préparation des photos pour les deux logiciels : (a) photo originale recadrée, (b) Wild-ID, (c) et (d) I3S Pattern +. La photo (b) a été recadrée et recoupée pour délimiter l'endroit d'intérêt (le ventre) pour le logiciel Wild-ID. La photo (c) présente la création de l'empreinte produite avec le logiciel I3S Pattern + : les lignes vertes identifient le contour de l'endroit d'intérêt, les croix bleues identifient les pixels de l'avant-plan et les croix rouges les pixels de l'arrière-plan. Le nuage blanc correspond à la classification avant-plan/arrière-plan produite en réponse par le logiciel. La photo (d) représente la comparaison des éléments de référence de l'individu étudié (ronds rouges) à ceux d'un autre individu (ronds bleus). Les correspondances (« feature pairs) entre les deux empreintes sont représentées par des segments verts. Le score étant élevé, les deux photos analysées ne proviennent probablement pas du même individu.





Unknown individual: Bie_1704_025.jpg
Found individual: P1120554.jpg
Nr of feature pairs: 15
Score: 128,64

Annexe 10 : Représentation schématique des comparaisons effectuées avec les logiciels de photo-identification pour les individus femelles (a) et indéterminés (b) de Bierghes. Les individus femelles capturés dans le site de Bierghes ont été comparés aux individus femelles des recaptures du même site ainsi qu'aux individus de sexe indéterminé des recaptures du même site. Les individus indéterminés capturés dans le site de Bierghes ont été comparés aux individus de sexe indéterminé des recaptures du même site, ainsi qu'aux individus mâles et femelles des recaptures du même site.



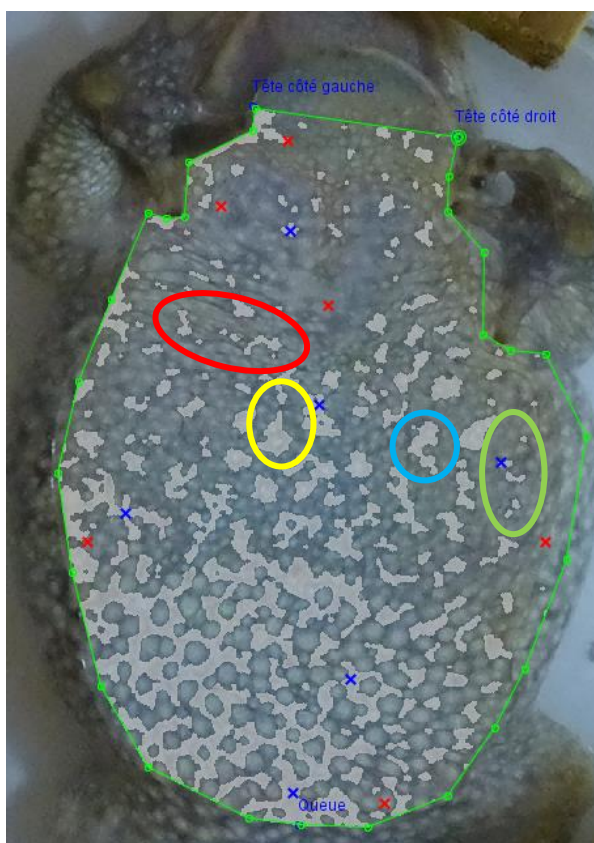
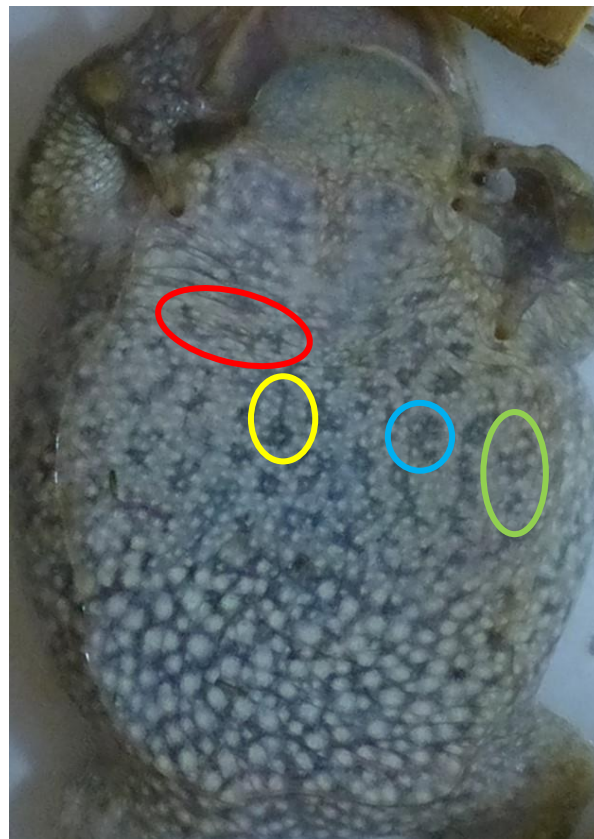
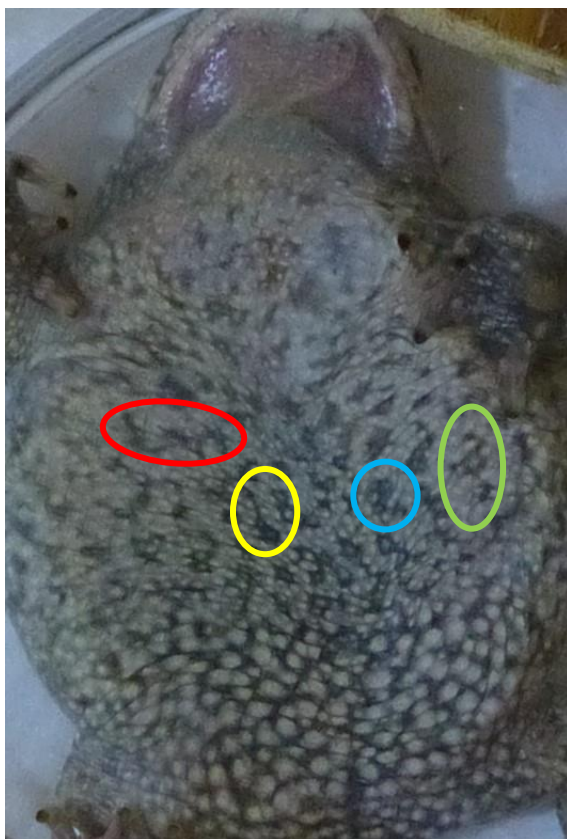
Annexe 11 : Nombre d'individus capturés en fonction du sexe, au cours des différentes sessions de CMR au sein de chaque site carrier. Légende : *F* = Femelles, *M* = Mâles, *I* = Indéterminés.

Site	Sexe	Capture	Recapture 1	Recapture 2
Bierghes	F	7	6	3
	M	26	50	7
	I	3	8	0
	Total	36	64	10
Clypot	F	61	18	
	M	74	66	
	I	2	4	
	Total	137	88	
Lannoy	F	0	0	1
	M	2	0	2
	I	0	0	0
	Total	2	0	3

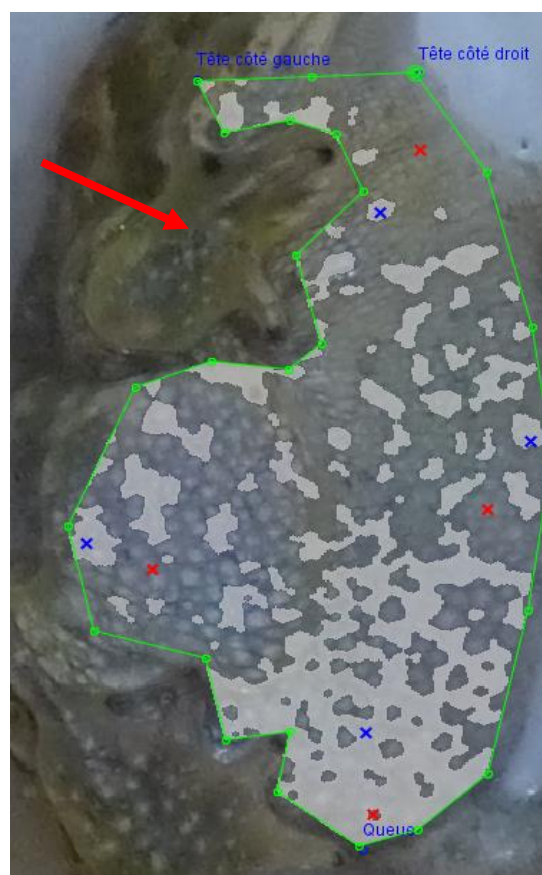
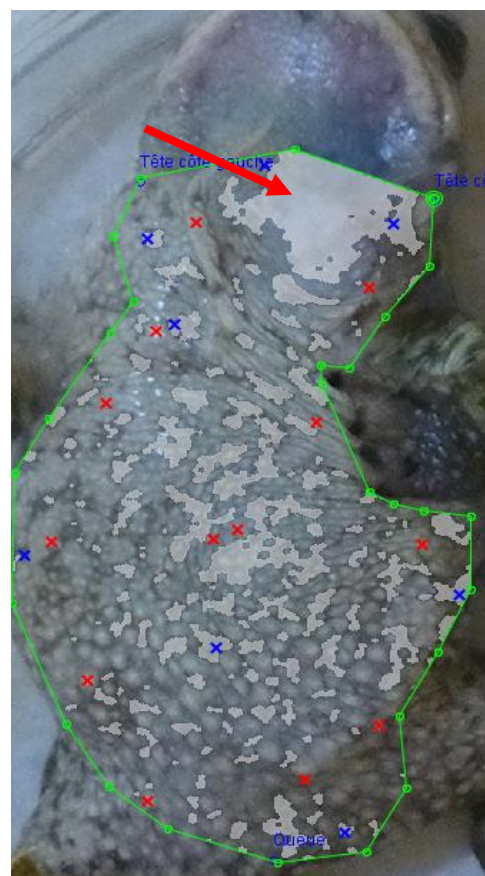
Annexe 12 : Nombre de matchs en fonction du sexe des individus au sein de chaque site carrier.

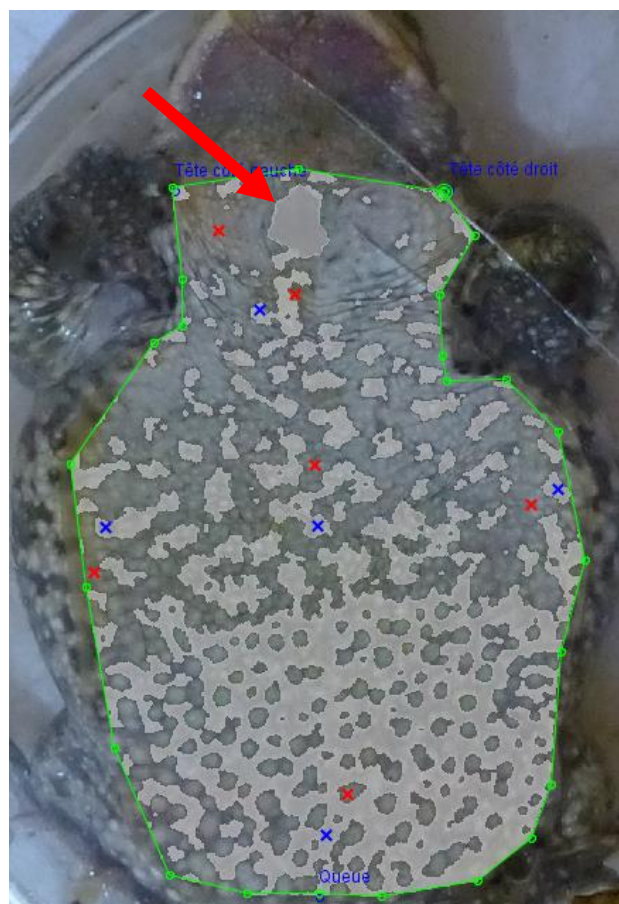
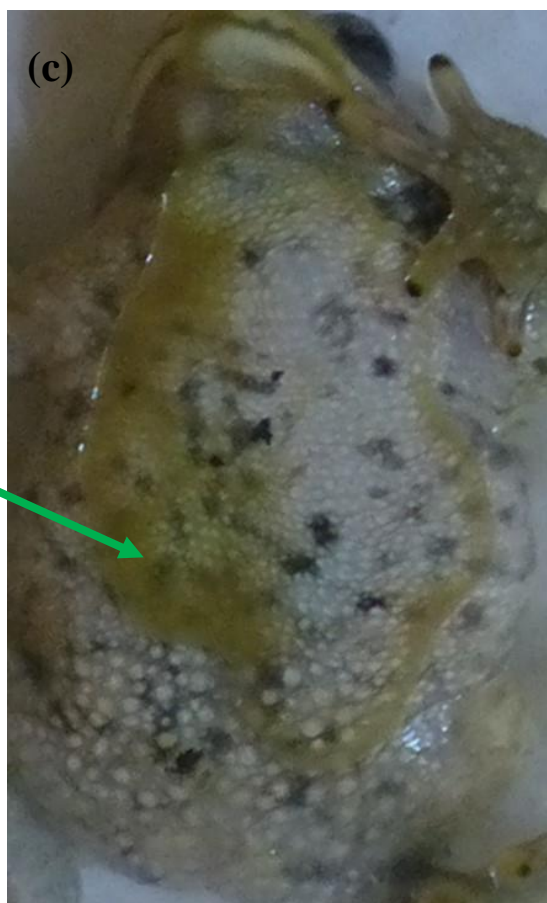
Site\Sexe	Mâles	Femelles	Indéterminés	Total
Bierghes	2	0	0	2
Clypot	20	2	0	22
Lannoy	1	0	0	1
Total	23	2	0	25

Annexe 13 : Photos du même individu (mâle, Clypot), la paire formant un "match". Les photos de gauche sont tirées de la capture, celles de droite de la recapture. Les photos « initiales » sont présentées au-dessus, les empreintes d'après I3S Pattern + en dessous. Les cercles de couleurs identifient des taches distinctives qui aident à la comparaison des photos.



Annexe 14 : Illustration de différents cas de figure rencontrés lors de l'analyse des photos en fonction de leur qualité. Les photos « initiales » sont présentées à gauche, les empreintes d'après I3S Pattern +) droite. (a) Netteté et repli de peau ; (b) Mauvaise position de la patte de l'individu ; (c) Nuage de boue ; (d) Présence d'un caillou. Les flèches rouges identifient les zones mal identifiées par le logiciel, les flèches vertes indiquent les éléments bien identifiés.





Annexe 15 : Executive summary à l'intention des carriers.

Le projet *Life in Quarries* propose différentes actions et méthodes de dénombrement dans le cadre de la gestion dynamique de la biodiversité en faveur du crapaud calamite (*Epidalea calamita* (Laurenti, 1768)), une espèce menacée en Wallonie.

Ce travail de fin d'études évalue la pertinence de l'action – le creusement des mares – et de méthodes de dénombrement – le relevé de la présence de preuves de reproduction dans les mares et le dénombrement des individus métamorphosés sous des plaques à amphibiens. Il propose des conclusions concrètes directement applicables sur le terrain.

Le **creusement de mares** au sein des sites carriers est une action pratique qui permet de participer activement à la protection de cette espèce, en lui fournissant de nouveaux milieux où pondre. Cette étude encourage donc à poursuivre cette action dans la même ligne de conduite que celle déjà adoptée, tout en donnant certaines précisions supplémentaires.

- Les mares creusées devront être **peu profondes**, de **surfaces variées**, **ensoleillées** et devront présenter des **berges en pentes douces** (inférieures à 15°). La gamme de profondeurs optimales est plus large que celle parfois conseillée : des mares jusque 0,5 m de profondeur semblent favorables à l'espèce.
- Les **mares creusées dans le cadre du projet LIFE** respectent déjà ces conditions, et sont donc utiles à la reproduction de l'espèce.
- Les mares seront plus efficaces en termes d'abondance de pontes dans les **secteurs d'activité** de la carrière.

Les méthodes de dénombrement conseillées ne fournissent pas une estimation du nombre d'adultes mâles et femelles de crapauds calamites présents dans la sous-zone étudiée (c'est-à-dire le secteur distinct et isolé, délimité au sein de la carrière présentant des conditions homogènes (relief, végétation, etc.) et occupé par l'espèce d'après les inventaires). Elles permettent toutefois de tirer plusieurs conclusions :

- Le **comptage des individus sous les plaques à amphibiens** semble être un bon indicateur du nombre d'individus **mâles adultes** de la sous-zone.
- Toutes ces méthodes permettent de révéler la **présence de l'espèce** dans les différents secteurs de la carrière.
- Les **actions** qu'elles requièrent sont **profitables à l'espèce** : la visite des mares permet de s'assurer de l'état de celles-ci et de vérifier que les refuges créés par les plaques sont bien occupés par le crapaud calamite, à condition qu'elles soient bien positionnées.
- La **fréquence mensuelle** des visites de suivi conseillée par le projet LIFE est acceptable et le suivi ainsi effectué semble représentatif d'un suivi plus exigeant en termes de temps de travail.

Ce travail a également proposé une analyse critique d'une étude de **capture-marquage-recapture** qui permet d'estimer la taille d'une population. Cette méthode est très exigeante en termes de temps de travail et d'énergie (les capture/recaptures sont effectuées de nuit, etc.). Elle n'est pas envisageable comme méthode de dénombrement proposée aux carriers dans le cadre du suivi du crapaud calamite. Toutefois, si elle est organisée (par une équipe encadrante et extérieure au personnel carrier), la participation des carriers enthousiastes aux différentes phases de terrain est plus qu'encouragée.

Bibliographie

- Agenschat Natuurenbos, 2018. LIFE + Nature FLANDRE. <https://www.natuurenbos.be/projecten/west-vlaanderen/life-project-flandre/flandre/life-nature-flandre-français>
- Amiard P. & van den Brink S., 2016. La population de Crapaud calamite (*Epidalea calamita*) des glacis du fort de Noisy : Estimation de la taille de la population et étude de l'utilisation de son biotope. *ANCA Nouv.* **49**, 25 + annexes.
- Amiard P. & van den Brink S., 2017. La population de Crapaud calamite (*Epidalea calamita*) des glacis du fort de Noisy : Estimation de la taille de la population et étude de l'utilisation de son biotope. Résultats 2017. *ANCA Nouv.* **49 bis**, 8.
- Anrys P., 2016. Carrières et biodiversité. In: *Life in Quarries : Initial Workshop*. 1-43.
- Arak A., 1988. Callers and satellites in the natterjack toad: evolutionarily stable decision rules. *Anim. Behav.* **36**(2), 416-432.
- Banks B. & Beebee T.J.C., 1987. Factors influencing breeding site choice by the pioneering amphibian (*Bufo calamita*). *Holarct. Ecol.* **10**(April 1986), 14-21.
- Barandun J. & Reyer H.-U., 1997. Reproductive ecology of *Bombina variegata*: characterisation of spawning ponds. *Amphib. - Reptil.* **18**(2), 143-154.
- Barlas A.-C., 2014. Sauvegarde du Crapaud calamite (*Epidalea calamita*) dans les zones agricoles du Canton de Genève en Suisse.
- Bécart E., Aubry A. & Emmerson M., 2007. *Monitoring the conservation status of natterjack toad (Bufo calamita) in Ireland, 2004 - 2006*, Irish Wildlife Manuals, National Parks and Wildlife Service, Department of the Environment, Heritage and Local Government, Dublin, Ireland.
- Beebee T., Cabido C., Eggert C., Mestre I.G., Iraola A., Garin-barrio I., Grif R.A., Miaud C., Sanuy D., Sinsch U. & Tejedo M., 2012. 40 years of natterjack toad conservation in Europe. *FrogLog* **101**(March), 40-44.
- Beebee T.J.C., Wilkinson J.W. & Buckley J., 2009. Amphibian declines are not uniquely high amongst the vertebrates: Trend determination and the British perspective. *Diversity* **1**(1), 67-88.
- Beja P., Kuzmin S., Beebee T., Denoel M., Schmidt B., Tarkhnishvili D., Ananjeva N.B., Orlov N.L., Nyström P., Ogodowczyk A., Ogielska M., Bosch J., Miaud C., Tejedo M., Lizana M. & Martinez Solano I., 2009. *Epidalea calamita* (errata version published in 2016). *IUCN*. <http://www.iucnredlist.org/details/54598/0>, (20/02/2018).
- Benes J., Kepka P. & Konvicka M., 2003. Limestone Quarry as Refuges for European Xerophilous Butterflies. *Conserv. Biol.* **17**(4), 1058-1069.
- Bétard F., 2013. Patch-Scale Relationships Between Geodiversity and Biodiversity in Hard Rock Quarries : Case Study from a Disused Quartzite Quarry in NW France. *Geoheritage* **5**(2), 59-71.
- Bishop P.J., Angulo A., Lewis J.P., Moore R.D., Rabb G.B. & Moreno G., 2012. The Amphibian Extinction Crisis - what will it take to put the action into the Amphibian Conservation Action Plan? *Surv. Perspect. Integr. Environ. Soc.* **5**(2), 97-111.
- Blankenhorn H.J., 1972. Meteorological Variables Affecting Onset and Duration of Calling in *Hyla arborea* L. and *Bufo calamita* L. *Oecologia* **9**, 223-234.
- Bolger D.T., Vance B., Morrison T.A. & Farid H., 2011. Wild- - ID User Guide : Pattern Extraction and Matching Software for Computer- - Assisted Photographic Mark- - (January), 1-12.
- Carrières Unies de Porphyre, 2018. La carrière de Bierghes-Rebecq. <http://www.cup.be/fr/presentation/la-carriere-de-bierghes-rebecq>, (03/04/2018).
- CCB Cementir Holding, 2016. Gisements. <http://ccb-cementir.be/gisement/>, (03/03/2018).

- Conseil de l'Europe, 1982. *Décision 92/72/EEC. Convention de Berne de 1979 relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe.*
- Conseil de l'Europe, 1992. *Directive 92/43/CEE du Conseil du 21 mai 1992 concernant la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages.*
- CSTC, 2018. Classification des roches. <https://www.cstc.be/homepage/index.cfm?cat=publications&sub=tv-nit&pag=228&art=2&niv01=2.2>, (20/02/2018).
- CVRB, 2005. Projet J'Adopte un cours d'eau.
- Dejean T., Miaud C. & Ouellet M., 2010. La chytridiomycose : une maladie émergente des amphibiens. *Bull. la Société Herpétologique Fr.* **134**, 27-46.
- Den Hartog J. & Reijns R., 2016. I³S Pattern manual : Interactive individual identification system, 1-48.
- Denton J.S. & Beebee T.J., 1993. Density-related features of natterjack toad populations in Britain.pdf. *J. Zool.* **229**, 105-119.
- Denton J.S. & Beebee T.J.C., 1996. Double-clutching by natterjack toads *Bufo calamita* at a site in Southern England. *Amphib. - Reptil.* (17), 159-167.
- Denton J.S., Hitchings S.P., Beebee T.J.C. & Gent A., 1997. A Recovery Program for the Natterjack Toad (*Bufo calamita*) in Britain. *Conserv. Biol.* **11**(6), 1329-1338.
- DGO3, 2010. Les carrières en Wallonie : un monde à redécouvrir 133.
- Doody J.S., 1995. A photographic Mark-Recapture Method for Patterned Amphibians. *Herpetol. Rev.* **26**(1), 19-21.
- Draper A. & Froglife, 2016. *Surveying for Amphibians: Tips, Techniques, and Skills to Help you Survey for Amphibians*, 28.
- Dubourg C., Labonté A. & Paquet J., 2018. Construction d'un cadre d'indicateurs de suivi de la biodiversité en carrière pour le projet LIFE+ « Life in Quarries ».
- Eekhout X., 2010. Sampling Amphibians and Reptiles. In: *Manual on field recording techniques and protocols for All Taxa Biodiversity Inventories and Monitoring*. 530-557.
- Eldredge N., 1999. Cretaceous Meteor Showers, the Human Ecological « Niche, » and the Sixth Extinction. In: MacPhee, R.D.. éd. *Extinctions in Near Time : Causes, Contexts, and Consequences*. Kluwer/Academic/Plenum Publishers, New York, 1-15.
- Elgue E., Pereira G., Achaval-Coppes F. & Maneyro R., 2014. Validity of photo-identification technique to analyze natural markings in *Melanophryniscus montevidensis* (Anura: Bufonidae). *Phyllomedusa* **13**(1), 59-66.
- Fediex, 2015. La charte sectorielle « Carrières et Biodiversité ». <http://www.fediex.be/charte-carrieres-et-biodiversite>
- Forman R.T.T., 1995. *Land Mosaics : The Ecology of Landscapes and Regions*. Cambridge University Press éd., 632.
- Gabory O., 2014. La vie là où on ne l'attend pas... Biodiversité et sites d'extraction de matériaux. *Pour* **223**(3), 247.
- Géoportail de la Wallonie, 2018. WalOnMap. <http://geoportail.wallonie.be/walonmap>, (03/03/2018).
- Germano J.M. & Bishop P.J., 2008. Suitability of amphibians and reptiles for translocation. *Conserv. Biol.* **23**(1), 7-15.
- GHdC, 2016. Rapport annuel: Grand hôpital de Charleroi, GHdC asbl, 68.
- Gosselin G., 2006. L'utilisation des roches en Région wallonne : Dossier scientifique réalisé dans le cadre de l'élaboration du Rapport analytique 2006-2007 sur l'état de l'environnement wallon., Etat de l'Environnement wallon, 125.
- Graitson E., 2000. L'intérêt herpétologique des carrières du condroz oriental (province de Liège, Belgique). *Nat. Mosana*.

- Graitson E., 2003. Résultats d'un inventaire des reptiles par la méthode des « plaques refuges » en Région wallonne. *Nat. Mosana* **56**(4), 73-83.
- Graitson E., 2008. L'intérêt herpétologique des milieux rocheux de l'Ardenne centro-orientale (Province de Liège et Luxembourg, Belgique). *Bull. la Société des Nat. Luxemb.* **109**, 83-91.
- Graitson E. & Denoël M., 2007. Le Crapaud calamite (*Bufo calamita* Laurenti, 1768). *In: Bulletin Société Herpétologique Française*. 142-151.
- Graitson E. & Jacob J.-P., 2001. La restauration du maillage écologique : une nécessité pour assurer la conservation de l'herpétofaune en Wallonie. *Nat. Mosana* **54**(2), 21-36.
- Graitson E. & Naulleau G., 2005. Les abris artificiels : un outil pour les inventaires herpétologiques et le suivi des populations de reptiles. *Bull. Soc. Herp. Fr.* **115**, 5-22.
- Harzé M., Benoit L., Boisson S., Monty A., Pitz C., Seleck M. & Grégory M., 2015. Partenariat pour promouvoir la biodiversité dans les carrières belges. *In: REVER*.
- HiedelbergCementGroup, 2009. La biodiversité dans nos carrières.
- Institut Royal Météorologique, 2018. Situation de la sécheresse en Belgique. <https://www.meteo.be/meteo/view/fr/39598799-La+secheresse+actuelle.html>, (10/08/2018).
- IUCN/SSC, 2013. *Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations. Version 1.0*, IUCN Species Survival Commission, Gland, Switzerland, viiii + 57 pp.
- IUCN, 2007. Species extinction – The facts. *Int. Union Conserv. Nat. (Red List)*, 4.
- IUCN, 2017. 2001 Categories & Criteria (version 3.1). http://www.iucnredlist.org/static/categories_criteria_3_1#categories, (20/02/2018).
- 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 - Raîgne et Centre de Recherche de la Nature, des Forêts et du Bois (MRW - DGRNE), Série « Faune - Flore - Habitats » n°2, Namur, 384.
- Jacob J., 2006. L'érosion de la biodiversité : les amphibiens et les reptiles, Etat de l'Environnement wallon, 12.
- Jean Doucet, 1989. Réapparition de la nidification du Hibou grand-duc (*bubo bubo*) en Wallonie. Sa réintroduction en Europe occidentale. *Aves*.
- Kurashina N., Utsunomiya T., Utsunomiya Y., Okada S. & Okochi I., 2003. Estimating the Population Size of an Endangered Population of *Rana porosa brevipoda* Ito (Amphibia: Ranidae) from Photographic Identification. *Herpetol. Rev.* **34**(4), 348-349.
- La biodiversité en Wallonie, 2018a. Crapaud calamite (*Bufo calamita*). <http://biodiversite.wallonie.be/fr/bufo-calamita.html?IDD=50334423&IDC=320>, (20/02/2018).
- La biodiversité en Wallonie, 2018b. Landes des régions tempérées. <http://biodiversite.wallonie.be/fr/f4-landes-des-regions-temperees.html?IDC=1159>
- La biodiversité en Wallonie, 2018c. Les sites Jean Massart (1912). <http://biodiversite.wallonie.be/fr/les-sites-jean-massart-1912.html?IDD=1148&IDC=824>
- Larousse, août-11-2018. Le Petit Larousse. <http://larousse.fr/dictionnaires/francais>, (11/08/2018).
- Laudelout A., 2016. *Actions pour le crapaud calamite en Wallonie*. DGRNE éd., 31.
- Legendre P. & Legendre L., 1988. *Numerical Ecology*, Developments in Environmental Modelling, 20, 870.
- Lemoine G., 2016. Flores et pollinisateurs des villes et des friches urbaines ... Entre nature temporaire et biodiversité en mouvement . *Bull. Soc. Bot. N. Fr.* **69**, 103-116.
- Leskovar C. & Sinsch U., 2005. Harmonic direction finding: A novel tool to monitor the dispersal of small-sized anurans. *Herpetol. J.* **15**, 173-180.

- Life in Quarries, 2017a. *Action A.3 Retour des inventaires biologiques - Carrière de Bierghes - CUP (Rebecq)*. Life in Quarries éd., 40.
- Life in Quarries, 2017b. *Action A.3 - Carrières du Hainaut (Soignies)*. Life in Quarries éd., 30.
- Life in Quarries, 2017c. *Action A.3 Retour des inventaires biologiques - Sablière Lannoy (Châtillon)*. Life in Quarries éd., 35.
- Life in Quarries, 2018. Life in Quarries. <http://www.lifeinquarries.eu/>, (08/02/2018).
- Matthé M., Sannolo M., Winiarski K., Spitzen - van der Sluijs A., Goedbloed D., Steinfartz S. & Stachow U., 2017. Comparison of photo-matching algorithms commonly used for photographic capture–recapture studies. *Ecol. Evol.* **7**, 5861-5872.
- Mermod M., Zumbach S., Aebischer A., Leu T., Lippuner M. & Schmidt B., 2010. Notice pratique pour la conservation du crapaud calamite *Bufo calamita*. Karch Centre de coordination pour la protection des amphibiens et des reptiles de Suisse éd., 21.
- Mettouris O., Megremis G. & Giokas S., 2016. A newt does not change its spots: using pattern mapping for the identification of individuals in large populations of newt species. *Ecol. Res.* **31**, 483-489.
- Meyer F. & Grosse W.-R., 1997. Populationsökologische Studien an Amphibien mit Hilfe der fotografischen Individualerkennung: Übersicht zur Methodik und Anwendung bei der Kreuzkröte (*Bufo calamita*). *Mertensiella* **7**, 79-92.
- Miaud C., 2005. Méthodes d'inventaire et d'identification des Amphibiens.
- Miaud C., 2014. *Protocole d'hygiène pour le contrôle des maladies des amphibiens dans la nature à destination des opérateurs de terrain*, 7.
- Miaud C. & Sanuy D., 2005. Terrestrial habitat preferences of the natterjack toad during and after the breeding season in a landscape of intensive agricultural activity. *Amphib. Reptil.* **26**(3), 359-366.
- Newbold T., Hudson L.N., Hill S.L.L., Contu S., Lysenko I., Senior R.A., Börger L., Bennett D.J., Choimes A., Collen B., Day J., De Palma A., Díaz S., Echeverria-Londoño S., Edgar M.J., Feldman A., Garon M., Harrison M.L.K., Alhousseini T., Ingram D.J., Itescu Y., Kattge J., Kemp V., Kirkpatrick L., Kleyer M., Correia D.L.P., Martin C.D., Meiri S., Novosolov M., Pan Y., Phillips H.R.P., Purves D.W., Robinson A., Simpson J., Tuck S.L., Weiher E., White H.J., Ewers R.M., MacE G.M., Scharlemann J.P.W. & Purvis A., 2015. Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature* **520**(7545), 45-50.
- Parent G.H., 1997. Chronique de la régression des batraciens et des reptiles en Belgique et au Grand-Duché de Luxembourg au cours du XXe siècle. *Les Nat. Belges* **78**, 257-304.
- Pellet J. & Schmidt B.R., 2005. Monitoring distributions using call surveys: Estimating site occupancy, detection probabilities and inferring absence. *Biol. Conserv.* **123**(1), 27-35.
- Pimm S.L. & Brooks T.M., 2000. The sixth extinction : How large, where, and when? In: Raven, P.H. éd. *Nature and Human Society: The Quest for a Sustainable World*. National Academy Press, Washington, D.C., 46-50.
- Ploegsteert, 2011. Réserve naturelle et ornithologique de Ploegsteert (RNOP). <http://www.ploegsteert.com/fr/environnement/reserve-naturelle>
- Portail de l'Environnement Wallonie, 2018. Aperçu des inputs et outputs de l'industrie extractive wallonne. <http://environnement.wallonie.be/enviroentreprises/pages/etatenviindustrie.asp?doc=syn-ext-fio>
- Quarry Life Awards, 2018. The Quarry Life Award. <https://www.quarrylifeaward.com/biodiversity-quarries/typical-quarry-habitats-and-species>
- Rainne Natagora, 2018. Le crapaud calamite. <http://rainne.natagora.be/index.php?id=1301>, (01/03/2018).

- Rannap R., Lõhmus A., Tammaru T., Brigg L., De Vries W. & Bibelriether F., 2012. Northern natterjack toads (*Bufo calamita*) select breeding habitats that promote rapid development. *Behaviour* **149**, 737-754.
- Région Wallonne, 1973. *Loi du 12 juillet 1973 relatif à la conservation de la nature*, Moniteur Belge du 11/09/1973.
- Région Wallonne, 1983. *Arrêté de l'Exécutif régional wallon du 30/03/1983 relatif à la protection de certaines espèces d'animaux vertébrés indigènes vivant à l'état sauvage*, Moniteur Belge du 21/06/1983.
- Région Wallonne, 2002. *Décret du 06/12/2001 relatif à la conservation des sites Natura 2000 ainsi que de la faune et de la flore sauvages*, Moniteur Belge du 14/02/2002.
- Remacle A., 2005. L'inventaire des carrières de Wallonie (Belgique) : présentation générale et aspects entomologiques. *Notes fauniques de Gembloux* **57**(1), 73-79.
- Remacle A., 2007. Etat de la biodiversité dans les anciennes carrières de Wallonie. *Les potentialités d'accueil la vie Sauvage. en milieux rocheux Souterr.* 3.
- Remacle A., 2009. Contribution des anciennes carrières à la biodiversité wallonne. *In: Convention « Les carrières en Région wallonne : inventaire et intérêt biologique » (C45)*. 129.
- Ribeiro J. & Rebelo R., 2011. Survival of *Alytes cisternasii* tadpoles in stream pools: A capture-recapture study using photo-identification. *Amphib. Reptil.* **32**, 365-374.
- Sannolo M., Gatti F., Mangiacotti M., Scali S. & Sacchi R., 2016. Photo-identification in amphibian studies: a test of I³S Pattern. *Acta Herpetol.* **11**(1), 63-66.
- Sanuy D. & Joly P., 2009. Olfactory cues and breeding habitat selection in the natterjack toad, *Bufo calamita*. *Amphib. Reptil.* **30**(4), 555-559.
- Schlüpmann M. & Kupfer A., 2009. Methoden der Amphibienerfassung – eine Übersicht. *Zeitschrift für Feldherpetologie* **15**, 7-84.
- Schmidt B.R., 2005. Monitoring the distribution of pond-breeding amphibians when species are detected imperfectly. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* **15**(6), 681-692.
- Sinsch U., 1988. Temporal spacing of breeding activity in the natterjack toad, *Bufo calamita*. *Oecologia* **76**(3), 399-407.
- Sinsch U., 1992. Structure and dynamic of natterjack toad metapopulation (*Bufo calamita*). *Oecologia* **90**, 489-499.
- Sinsch U., 1997. Postmetamorphic dispersal and recruitment of first breeders in a *Bufo calamita* metapopulation. *Oecologia* **112**(1), 42-47.
- Sinsch U., 2014. Movement ecology of amphibians: from individual migratory behaviour to spatially structured populations in heterogeneous landscapes ¹ · ². *Can. J. Zool.* **92**(6), 491-502.
- Sinsch U., Oromi N., Miaud C., Denton J. & Sanuy D., 2012. Connectivity of local amphibian populations: Modelling the migratory capacity of radio-tracked natterjack toads. *Anim. Conserv.* **15**(4), 388-396.
- Smith M.A. & Green D.M., 2005. Dispersal and the metapopulation in amphibian and paradigm ecology are all amphibian conservation: populations metapopulations? *Ecography (Cop.)*. **28**(1), 110-128.
- Stevens V.M. & Baguette M., 2008. Importance of habitat quality and landscape connectivity for the persistence of endangered natterjack toads. *Conserv. Biol.* **22**(5), 1194-1204.
- Stevens V.M., Leboulengé É., Wesselingh R.A. & Baguette M., 2006. Quantifying functional connectivity: Experimental assessment of boundary permeability for the natterjack toad (*Bufo calamita*). *Oecologia* **150**(1), 161-171.
- Stevens V.M., Wesselingh R.A. & Baguette M., 2003. Demographic processes in a small, isolated population of natterjack toads (*Bufo calamita*) in southern Belgium. *Herpetol. J.*

- Sutherland W.J., 2006. *Ecological census techniques: A handbook*, Trends in Ecology & Evolution. Cambridge, U. of éd., Cambridge University Press, 446.
- Temple H.J. & Cox N.A., 2009. *European Red List of Amphibians*, viii + 32pp + 4pp cover.
- Titeux N., 2000. Ecologie comportementale du crapaud calamite (*Bufo calamita* Laurenti) et caractérisation démographique d'une population isolée en Brabant Wallon.
- Tropek R. & Konvicka M., 2007. Can quarries supplement rare xeric habitats in a piedmont region? Spiders of the Blansky les Mts, Czech Republic. *L. Degrad. Dev.* **19**(1), 104-114.
- UICN, 2008. La liste rouge de l'UICN des espèces menacées : Un outil fondamental pour la conservation.
- Wagner N., Pellet J., Lötters S., Schmidt B.R. & Schmitt T., 2011. The superpopulation approach for estimating the population size of « prolonged » breeding amphibians: Examples from Europe. *Amphib. Reptil.* **32**(3), 323-332.
- Willson J.D. & Gibbons J.W., 2009. Drift fences, coverboards, and other traps. *In: Amphibian Ecology and Conservation.* 229-245.