

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Université Badji Mokhtar- Annaba  
Faculté des sciences  
Département de Biologie  
Laboratoire d'Écologie des Systèmes Terrestres et Aquatiques



## THÈSE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie  
Spécialité : BIODIVERSITÉ, ÉVOLUTION ET ÉCOLOGIE DE LA SANTE

# Caractérisation et Ecologie des peuplements d'Amphibiens dans le Nord-Est Algérien

Présenté par :

M<sup>me</sup> Bouzid Selma Ep Ouelaa

### Directrice de thèse

M<sup>me</sup> Bouslama Zihad Professeure Université Badji Mokhtar Annaba

### Co-directeur de thèse

M<sup>r</sup> Pierre Joly Professeur Univ. Claude Bernard, Lyon1 France

### Président

M<sup>r</sup> Bensouilah Mourad Professeur Université Badji Mokhtar Annaba

### Examineurs

M<sup>me</sup> Mesbahi Amina Maître de conférence Université Badji Mokhtar Annaba

M<sup>r</sup> Tiar Ghoulem Maître de conférence Université d'El Tarf

M<sup>r</sup> Lamara Ali Docteur Ecole Vétérinaire d'Alger

2018/2019



---

*« Les espèces qui survivent ne sont pas les espèces les plus fortes, ni les plus intelligentes, mais celles qui s'adaptent le mieux aux changements. »*

*« La sélection naturelle recherche, à chaque instant et dans le monde entier, les variations les plus légères ; elle repousse celles qui sont nuisibles, elle conserve et accumule celles qui sont utiles. »*

---

*Charles Darwin*

## Remerciements

*Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire « Écologie des Systèmes Terrestres et Aquatiques » Faculté des sciences, Université de Badji Mokhtar Annaba, sous la direction du Pr Zihad BOUSLAMA.*

*Et du laboratoire « Écologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés » de l'Université Claude Bernard, Lyon 1 France, sous la direction du Pr Pierre JOLY.*

*Mon profond remerciement va tout d'abord vers le **Pr. BOUSLAMA Zihad** qui m'a accueillie au sein de son laboratoire EcoSTaQ, et qui, à travers toutes ces années, a su m'orienter, me soutenir et m'encourager dans les bons comme dans les mauvais moments de ce parcours. Je tiens à la remercier pour sa disponibilité et son dévouement pour que ce travail aboutisse.*

*J'exprime mon estime et ma reconnaissance au **Pr. Pierre JOLY** d'avoir accepté de codiriger cette thèse, durant laquelle, il m'a ouvert les portes de son laboratoire et m'a reçue au sein de son équipe. Vous avez toujours répondu présent, par vos orientations, vos encouragements et par le temps investi dans ce travail. J'ai énormément appris à vos côtés, et je vous en suis très reconnaissante.*

***Pr. BENSOUILAH Mourad**, de l'université de Annaba, je vous remercie chaleureusement d'avoir bien voulu présider le jury de cette thèse et d'apporter vos remarques pertinentes.*

*Je tiens à exprimer mes profonds remerciements au **Dr. Amina SALHI MESBAHI**, de l'université de Annaba, d'avoir accepté de faire parti du jury, et de m'avoir beaucoup apporté du côté humain tant que du scientifique.*

*Au **Dr. Ghoulem TIAR**, de l'université d'El Tarf, pour ses précieux conseils et ses encouragements.*

*Au **Dr. Ali LAMAR** de l'école vétérinaire d'Alger, de faire également partie du jury.*

*Je tiens aussi à remercier mes examinateurs pour avoir pris le temps de lire et de juger ce modeste travail, ainsi que pour leurs remarques et expertise.*

*Je tiens à exprimer mes plus hautes considérations à la **Direction Générale des Forêts, la DGF**, et à la circonscription de Séraïdi, dont la collaboration et l'aide ont été précieuses. Je les remercie d'avoir mis à ma disposition des agents pour m'accompagner durant mes nombreuses sorties en forêt.*

*La réalisation de ce travail n'aurait pas pu aboutir sans la participation de toute l'équipe de **Green Ground**, je citerai en particulier mes amis et collègues : **Mohcen Allem, Amir Boulemtafes, Nadir, et Salah**, qui m'ont accompagné sur le terrain, et surtout d'avoir toujours répondu présent, mille merci à toute l'équipe.*

*Je n'oublierai pas mes collègues amphibiens et amis **Dr. Khaled Merabet et Mokrane Karar**, de l'université de Bejaia, merci pour votre aide et partage scientifique.*

*À toute l'équipe du laboratoire EcoSTAg, auprès de qui j'ai passé toutes ces années, vous avez participé par un mot, un encouragement ou avec de longues discussions, merci à : **Mouna, Hana, Wafa, Souad, Kenza, Linda, Amina, Imed, Raouf, Amine, Badis, Mira et Mohcen**. Sans oublier : **Sihem, Khaoula et Moufida**.*

*À l'équipe du LEHNA à Lyon, merci à **Odile Grolet** de m'avoir transmis ses connaissances sur la squelettochronologie dans de la bonne ambiance, à **Lara Konecny** pour sa gentillesse et son assistance dans toutes les manipulations génétiques. Aux doctorants : **Mylène, Julia et Hugo** pour leur bon accueil et leurs conseils.*

## Dédicaces

*Mon plus grand soutien et ma plus grande fierté est ma **FAMILLE**, je ne saurais exprimer toute la gratitude et l'amour que je leur porte. Aussi je dédie ce modeste travail :*

*À la personne la plus forte et la plus merveilleuse qui n'ait jamais existé, à mon modèle « **MA MAMAN** » tu es partie sans assister à ce jour, mais tu sais combien tu as énormément contribué. Tu m'as accompagné dans mes sorties, tu m'as encouragé quand ça n'allait pas, et tu continues, de là où tu es, à me donner de la force. Allah t'a appelé, hélas trop tôt... pour inshallah un monde meilleur et, qu'il t'accueille en son vaste paradis.*

*À mon père, **Omar**, merci pour ta présence, ta disponibilité et ton aide durant toutes ces années.*

*À mon époux, **Kheireddine Ouelaa**, tu es mon bras droit et ma force, je ne serais pas là aujourd'hui sans tes encouragements, ta motivation et ton amour. Merci de toujours croire en moi, pour ta patience, puisses-tu trouver ici toute ma gratitude et mon affection.*

*À mes deuxièmes parents **Hanifa** et **Belkacem Ouelaa**, je vous suis reconnaissante pour votre présence et votre soutien.*

*À ma sœur **Amina** et son mari **Mehdi**, je ne saurais vous exprimer toute ma gratitude tant votre présence m'est si précieuse. Un grand merci pour tout.*

*À ma sœur **Hanifa** et son mari **Djaber**, tu es une sœur pas une amie, merci de faire partie de ma vie.*

*À mon frère **Khaled**, merci de toujours me booster, et ma sœur **Chaffia** de m'avoir accueillie durant mes stages.*

*À ma belle-sœur et mon beau-frère d'avoir été présents.*

*À toutes mes nièces et neveux : **Marouene, Sofiane, Merieme, Nazim, Ines, Adem, Ilyes, Meyssa, Ayoub, Chaïma, Zina, Djawed et Elias**. Vous me redonnez toujours le sourire.*

*À tous mes proches que je n'ai pu citer,*

*Je vous aime.*

# Caractérisation et Écologie des peuplements d'Amphibiens dans le Nord-est Algérien

## Résumé

L'Afrique du nord est une zone biogéographique à forte diversité du fait de son climat et ses écosystèmes sous l'effet de la double influence de la mer méditerranéenne et du Sahara. L'Algérie, est dotée d'une richesse en zones humides qui abritent une biodiversité extraordinaire, dont les Amphibiens, y sont représentés par un fort taux d'endémisme.

Le présent travail vise à apporter des connaissances sur l'état de la biodiversité et de l'écologie des peuplements d'Amphibiens dans une région du Nord-est Algérien bien connue pour sa richesse en zones humides. Notre étude faite durant deux années consécutives (2014 et 2015) s'articule en trois chapitres complémentaires :

- Réalisation d'un inventaire dans une partie du Nord-est algérien, divisée en quatre principales régions (Edough, Annaba, El Tarf et El Kala).

L'inventaire a montré que neuf (09) espèces peuplent la zone d'étude, ce qui représente près de 75% de la richesse totale (12 espèces) de l'Algérie. Les espèces inventoriées appartiennent à 6 genres : *Pleurodeles*, *Salamandra*, *Discoglossus*, *Pelophylax*, *Hyla* et *Bufo* ; 5 familles : **Salamandridea**, **Alydidea**, **Ranidea**, **Hylidea** et les **Bufonidea** et aux deux ordres : les **Urodèles** et les **Anoures**.

Une description de toutes les espèces est soutenue par la plus récente bibliographie. Le Discoglosse peint et la grenouille verte sont les plus abondantes et les mieux adaptés aux conditions des milieux ; les deux espèces *S. a. algira* et *Bufo spinosus* forment des populations confinées aux milieux situés en altitudes. Les pleurodèles sont plus localisés dans les milieux ouverts à forte pression anthropique. Le *Bufo boulengeri* est l'espèce la plus rare. Une étude écologique des peuplements est appuyée par des indices de diversité. La région de l'Edough se démarque par la richesse la plus importante enregistrée, qui est égale à 8 espèces.

- Une étude phylogénétique de la sous espèce emblématique : l'urodèle « *Salamandra algira algira* » de l'Edough, a été réalisée.

Connue pour avoir une distribution discontinue en Algérie, l'Edough est considéré comme étant sa limite Est. L'analyse du gène mitochondrial D-loop d'une population de 52 individus, vient confirmer le statut phylogénétique de notre population par rapport aux autres populations algériennes et marocaines.

- L'étude squelettochronologique, réalisée pour la première fois en Algérie, apporte des informations pertinentes pour la compréhension des traits d'histoire de vie de l'espèce.

La détermination de l'âge des individus, par le dénombrement des lignes d'arrêt de croissance (LACs), enregistre une longévité maximale de 18 ans chez les deux sexes, avec un important recrutement de jeunes adultes [4-6 ans]. La taille des femelles varie entre 120-210 mm et celle des mâles entre 130- 180 mm, le dimorphisme sexuel de taille est en faveur des femelles. Les relations entre âges et la taille totale (SVL+LT) sont fortement corrélées, on remarque une croissance en deux temps, elle est plus rapide chez les mâles (se ralentie à partir de 7 ans) et continue chez les femelles (à partir de 9 ans).

Les résultats de l'ANCOVA des 12 traits morphologiques des deux sexes ne sont pas significatifs à l'exception de la taille de la queue. Le phénotype des Salamandres de l'Edough présente une originalité dans la coloration. Des diverses tâches blanches sont observées sur différentes parties du corps (ventre, côtés, queue et pattes), ainsi qu'une importante coloration rouge. Nous présenterons une brève description d'une association entre tâches rouges et points blancs, sous une appellation d'ocelles rouges « eye-spotted ».

Le présent travail a permis d'atteindre les objectifs fixés. D'une part, une étude écologique et descriptive des peuplements d'Amphibiens dans différents milieux, et d'autre part, l'étude d'une population de l'espèce emblématique de la région de l'Edough qui apporte des connaissances sur certains de ces traits d'histoire de vie. Ce travail met en évidence l'importance de la région de l'Edough, et de la mise en place de stratégies de conservation et de suivi des Amphibiens.

**Mots-clés :** Amphibiens, Inventaire, *Salamandra algira algira*, ADNmt, Squelettechronologie, Coloration, Nord-est algérie, Edough.

# Characterization and Ecology of Amphibian stands in northeastern Algeria

## Abstract

North Africa is a biogeographic zone with high diversity because of its climate and ecosystems due to the double influence of the Mediterranean Sea and the Sahara. Algeria is endowed with a wealth of wetlands that are home to an extraordinary biodiversity, including amphibians, which are represented by a high rate of endemism.

The present work aims to provide knowledge on the state of biodiversity and ecology of amphibian populations in a region of northeastern Algeria well known for its richness in wetlands. Our study conducted for two consecutive years (2014 and 2015) is divided into three complementary chapters :

- Realization of an inventory in a part of Northeast Algeria, divided into four main regions (Edough, Annaba, El Tarf and El Kala).

The inventory showed the presence of nine (09) species in the study area, which represents nearly 75% of the total wealth (12 species) of Algeria. Inventoried species belong to 6 genera : *Pleurodeles*, *Salamandra*, *Discoglossus*, *Pelophylax*, *Hyla* and *Bufo* ; 5 families : *Salamandridea*, *Alydidea*, *Ranidea*, *Hylidea* and *Bufoidea*, and at two orders : the *Urodeles* and the *Anures*. A description of all species is supported by the most recent bibliography. The painted frog and the green frog are the most abundant and best adapted to the conditions of the environment ; the two species *S. a. algira* and *Bufo spinosus* form populations confined to environments located at altitudes. The pleurodelae are more localized in open environments with high anthropic pressure. *Bufoes boulengeri* is the rarest species. An ecological stand survey is supported by diversity indices. The Edough region stands out with the highest recorded wealth, which is equal to 8 species.

- A phylogenetic study of the emblematic subspecies, the "*Salamandra algira algira*" urodele of Edough, was carried out.

Known for having a discontinuous distribution in Algeria, Edough is considered to be its eastern limit. D-loop mitochondrial gene analysis of a population of 52 individuals, confirms the phylogenetic status of our population compared to other Algerian and Moroccan populations.

- The skeletochronology study, conducted for the first time in Algeria, provides relevant information for understanding the life history traits of the species.

The determination of the age of the individuals, by the counting of the stop lines of growth (LAGs), has a maximum longevity of 18 years for both sexes, with a large recruitment of young adults [4-6 years]. Female size varies between 120-210 mm and that of males between 130-180 mm, sexual size dimorphism is in favor of females. The relationships between ages and total size (SVL + LT) are strongly correlated, we notice a growth in two times, it is faster in males (declines from 7 years) and continues in females (from 9 years).

The ANCOVA results of the 12 morphological traits of both sexes are not significant with the exception of tail size. The Salamander phenotype of Edough is original in coloring. Various

white spots are observed on different parts of the body (belly, sides, tail and legs), as well as an important red coloring. We will present a brief description of an association between red and white spots under the name of "eye-spotted".

This work has achieved the objectives set. On the one hand, an ecological study and description of amphibian populations in different environments, and on the other hand, the study of a population of the emblematic species of the Edough area that brings knowledge about some of these life history traits. This work highlights the importance of the Edough area, and the implementation of amphibian conservation and monitoring strategies.

**Keywords :** Amphibians, Inventory, *Salamandra algira algira*, mtDNA, skeletochronology, Coloration, Northeast Algeria, Edough.

## وصف واکولوجيا البرمائيات في شمال شرق الجزائر

### ملخص

تعد شمال أفريقيا منطقة بيوجغرافية متنوعة للغاية بسبب مناخها ونظمها الإيكولوجية تحت التأثير المزدوج للبحر الأبيض المتوسط والصحراء. تتمتع الجزائر بثروة من الأراضي الرطبة التي تعد موطنًا للتنوع البيولوجي الاستثنائي، بما في ذلك البرمائيات، والتي تمثلها نسبة عالية من التوطن.

تهدف الرسالة الحالية إلى توفير المعرفة حول حالة التنوع البيولوجي والإيكولوجيا لتسوية البرمائيات في المنطقة الشمالية الشرقية من الجزائر، المعروفة بغناها في الأراضي الرطبة. تنقسم دراستنا التي أجريت لمدة عامين متتاليين (2014 و2015) إلى ثلاثة فصول متكاملة:

- تحقيق جرد في جزء من شمال شرق الجزائر، مقسم إلى أربع مناطق رئيسية (إيدوغ، عنابة، الطارف والقالة)

أظهر الجرد أن تسعة (09) أنواع تملأ منطقة الدراسة، والتي تمثل ما يقرب من 75٪ من إجمالي الثروة (12 نوعاً) من الجزائر. الأنواع المخترعة تنتمي إلى 6 أجناس: *Pleurodeles*، *Salamanca*، *Discoglossus*، *Pelophylax*، *Hyla* و *Bufo*؛ 5 أسر: *Bufonidea*، *Hylidae*، *Ranidae*، *Alydidae*، *Salamandridea* وفي أمرين: *Urodèles*، *Anoures*. ويدعم وصف جميع الأنواع من أحدث المراجع. يعتبر *The Green Frog* و *The Painted Discoglossus* الأكثر وفرة والأفضل تكيفاً مع الظروف البيئية؛ يشكل النوعان *S. a. algira et Bufo spinosus* مجتمعين محصورين في البيئات الواقعة على ارتفاعات. *Pleurodeles* أكثر محلية في البيئات المفتوحة ذات الضغط البشري العالي. *Bufo* *boulengeri* هو أندر الأنواع. يتم دعم مسح الموقف البيئي من خلال مؤشرات التنوع. تتميز منطقة إيدوغ بأعلى الثروة المسجلة، والتي تساوي 8 أنواع.

- تم إجراء دراسة في علم الوراثة من سلالات رمزية: *Salamanca algira algira*

معروفاً بتوزيعه غير المتواصل في الجزائر، ويعتبر إيدوغ الحد الشرقي. دراسة الفيلوجينية حيث تم خلالها تحليل جينات الميتوكوندريا D-loop لعينة مكونة من 52 فرد، تأتي لتثبت الحالة الفيلوجينية لعينتنا مقارنة بالسكان الجزائريين والمغاربة الآخرين.

- توفر دراسة الهياكل العظمية التي أجريت لأول مرة في الجزائر، معلومات ذات صلة لفهم سمات تاريخ حياة النوع.

تحديد عمر الأفراد، عن طريق تعداد خطوط النمو (LACs)، يبلغ الحد الأقصى لطول العمر 18 عامًا لكلا الجنسين، مع تجنيد كبير من الشباب [6-4 سنوات]. يتراوح حجم الأنثى بين 120 و210 ملم، وحجم الذكور ما بين 130 - 180 ملم، إزدواج الشكل الجنسي لصالح الإناث. ترتبط العلاقات بين الأعمار والحجم الكلي (SVL + LT) ارتباطاً وثيقاً، نلاحظ حدوث نمو مرتين، وهو أسرع في الذكور (انخفاض من 7 سنوات) ويستمر في الإناث (من 9 سنوات).

نتائج ANCOVA من الصفات المورفولوجية 12 من كلا الجنسين ليست كبيرة باستثناء حجم الذيل. لنمط الظاهري السمندر من Edough هو الأصلي في التلوين. يتم ملاحظة بقع بيضاء مختلفة على أجزاء مختلفة من الجسم (البطن، الجانبين، الذيل والساقين)، وكذلك اللون الأحمر الكبير. سنقدم وصفاً موجزاً للعلاقة بين البقع الحمراء والبيضاء تحت اسم الرموش الحمراء "المرقطة بالعين".

لقد حقق هذا العمل الأهداف المحددة. من ناحية، دراسة بيئية وصفية لمجموعات البرمائيات في بيئات مختلفة، ومن ناحية أخرى، دراسة لسكان الأنواع الرمزية في منطقة إيدوغ التي تجلب المعرفة حول بعض سمات تاريخ الحياة هذه. يسلط هذا العمل الضوء على أهمية منطقة Edough، ويفتح الباب أمام وضع استراتيجيات المراقبة البرمائيات.

كلمات البحث: إيدوغ، البرمائيات، الجرد، ADNmt، *Salamanca algira algira*، Squelettochronologie، التلوين.

## Liste des Figures

<b>Figure 01:</b> Squelette d'une grenouille, mise en évidence des caractéristiques importantes dans la locomotion. (After Pough, Janis et et Heiser, 2001).....	9
<b>Figure 02:</b> Les différentes étapes d'accouplement chez <i>Salamandra salamandra</i> (Scheilch et al, 1996). .....	12
<b>Figure 03:</b> Accouplement axillaire de <i>Bufo bufo</i> (A) et de <i>Rana arvalis</i> (B). Accouplement lombaire de <i>Discoglossus pictus</i> (C) et de <i>Pelodytes punctatus</i> (D) (d'après G.A. Boulenger) (Angel, 1946) .....	13
<b>Figure 04:</b> Mâle <i>Discoglossus</i> des excroissances de reproduction (brosses copulatrices à gauche, rugosité sur les pattes postérieurs à droite) (Bouزيد, 2014). .....	13
<b>Figure 05:</b> Disque buccal de têtard d'anoures avec les denticules. a) têtard de <i>Bufo bufo</i> , b) têtard de <i>Pelophylax saharicus</i> . (Scheilch et al, 1996) .....	14
<b>Figure 06:</b> Dessin représentatif d'une larve d'urodèle (à gauche), et un têtard d'anoures (à droite). (Angel, 1946) .....	15
<b>Figure 07:</b> (A) AmphibiWeb, cartographeur par Christina Lew, 2017. (B) Richesse des espèces d'amphibiens du bassin méditerranéen (source IUCN, 2006) .....	18
<b>Figure 08:</b> (A) Les espèces menacées et en voie de disparition par le biome de Wallacean (Michelle Koo, 2014). (B) Répartition des espèces menacées dans les zones méditerranéenne (IUCN, 2006.) .....	20
<b>Figure 09:</b> Division de la zone d'étude en 4 principaux sites: Edough et Annaba (Wilaya de Annaba)(A); El Tarf et El Kala (Wilaya d'El Tarf)(B), Nord-est Algérien. ....	21
<b>Figure 10:</b> Carte géologique schématique du massif de l'Edough et du Cap de Fer (1 /200 000) wilaya d'Annaba ,D'après (HILLY, 1962). .....	24
<b>Figure 11 :</b> Localisation géographique du Parc National d'El-Kala. (DGF, 2009) (In Ghanem, 2014). .....	25
<b>Figure 12:</b> Prospection du site et capture à l'épuisette, Oued Boukrat (Bouزيد, 2015) .....	30
<b>Figure 13:</b> Disposition de la nasse dans l'eau et capture d'un discoglosse (Bouزيد, 2015). .....	31
<b>Figure 14:</b> (A,B) Adultes <i>Pelophylax saharicus</i> ; (C) Têtard de taille importante (Edough) (Bouزيد, 2014). (D) Distribution géographique en Algérie (Matéo et al, 2013). .....	39
<b>Figure 15:</b> (A) Ponte ; (B) Femelle gravide ; (C) Juvenile de <i>Discoglossus pictus</i> (Bouزيد, 2014). (D) Distribution de <i>D.p</i> d'après Matéo et al. (2013). .....	40

<b>Figure 16:</b> (A,B,C) <i>Hyla meridionalis</i> avec différent phénotype (Bouzid, 2015). (D) Distribution de l'espèce en Algérie (Matéo et al, 2013).....	42
<b>Figure 17:</b> (A) Adulte <i>Amietophrynus mauritanicus</i> (Bouzid, 2016). (B) Distribution géographique de l'espèce (Matéo et al. 2013). .....	43
<b>Figure 18:</b> (A,B) Têtards de <i>Bufo boulengeri</i> identifier au laboratoire (Bouzid, 2013). (C) Distribution géographique de l'espèce selon Matéo et al. (2013). .....	44
<b>Figure 19:</b> (A) Amplexus et (B) ponte de <i>Bufo spinosus</i> (Bouzid, 2014). (C) Modèle de niche écologique de l'espèce en Algérie (Ben Hassine et Escoriza, 2017). .....	45
<b>Figure 20:</b> <i>Pleurodeles poireti</i> : (A) Amplexus, (B) juvéniles et (C) larves. (D) Limites de distribution de l'espèce (Edough), IUCN (2010). .....	47
<b>Figure 21:</b> Adulte femelle de <i>Pleurodeles nebulosus</i> (Bouzid, 2014). Distribution selon Matéo et al. (2013). .....	48
<b>Figure 22:</b> (A) Adulte Femelle de Salamandre algira algira ; (B) Larves de S.a.a. (Bouzid, 2015). (C) Distribution de S.a.a en Algérie (Merabet, 2016a). .....	49
<b>Figure 23 :</b> Richesse spécifique des Amphibiens par site. ....	50
<b>Figure 24:</b> Distribution des effectifs selon le stade de développement. (N=3814). .....	51
<b>Figure 25:</b> Abondance relative des individus adultes par espèce. ....	52
<b>Figure 26:</b> Abondance des Amphibiens adultes par site. ....	52
<b>Figure 27:</b> Abondance relative des têtards et larves par espèce. ....	53
<b>Figure 28:</b> Abondance des têtards et larves d'Amphibiens par site. ....	54
<b>Figure 29:</b> Répartition des valeurs des indices de diversité des adultes par site. Shannon (H), Simpson (D-1), Equitabilité (J), Berger-Parker, et Dominance (D). .....	55
<b>Figure 30:</b> Répartition des valeurs des indices de diversité des têtards et larves par site. Shannon (H), Simpson (D-1), Equitabilité (J), Berger-Parker, et Dominance (D). .....	57
<b>Figure 31:</b> Arbre calibré de temps montrant les relations phylogénétiques des représentants du genre <i>Salamandra</i> . Échelle dans millions d'années. (Ben Hassine et al, 2016) .....	68
<b>Figure 32:</b> Structure de l'ADN mitochondrial (Kefi-Ben Atig et al, 2009). .....	70
<b>Figure 33:</b> Localisation géographique de la région d'étude. (Bouzid et al, 2017) .....	75
<b>Figure 34:</b> A et B : Forêt de chêne zeen ( <i>Quercus canariensis</i> ) avec des grosses pierres couvertes de mousses utilisées comme abris par <i>Salamandra algira algira</i> . C : eau de source stagnante contenant des larves de salamandres (Bouzid, 2015). .....	77
<b>Figure 35:</b> Vérification de l'amplification de l'ADNmt par migration sur du gel d'agarose. ....	80
<b>Figure 36:</b> Alignement des séquences dans le logiciel « Seaview ». .....	81

<b>Figure 37 :</b> <i>Arbre phylogénétique d'ADNmt de Salamandra algira du segment Dloop, par l'utilisation du logiciel PhyML (584 pb). (Bouzid et al, 2017).</i> .....	83
<b>Figure 38:</b> Distance entre nos sites et ceux de Merabet et al, 2016b (en vert) et de Escoriza et Ben Hassine, 2014c (en rouge).....	85
<b>Figure 39:</b> Les mesures morphométriques prises sur les Salamandres. D'après Beukema et al, 2013. ....	95
<b>Figure 40:</b> Manipulation sur terrain : anesthésie et amputation de l'orteil.(Bouzid, 2015).....	98
<b>Figure 41:</b> Les différentes étapes de la préparation des coupes de phalanges : (A) préparation de l'orteil, (B) décalcification, (C) coupe au microtome de congélation, (D) coloration. ....	100
<b>Figure 42:</b> Répartition des sexes de la population, N=52.....	101
<b>Figure 43 :</b> Femelle de 6 ans, maturité sexuelle atteinte à l'âge de 3 ans (les flèches numérotées correspondent aux LACs)(Bouzid, 2016). ....	102
<b>Figure 44:</b> Quatre coupes diaphysaires de la troisième phalange de l'orteil, des différentes classes d'âge, traiter avec le colorant Hématoxyline d'Ehrlich. Les LAGs former pendant les périodes d'hivernage. F= Femelle ; M= Mâle et J= Juvénile. ....	103
<b>Figure 45:</b> Histogramme de distribution des âges des mâles et femelles de la population (N=52).....	104
<b>Figure 46:</b> Relation entre l'âge et la taille totale des mâles et femelles. ....	105
<b>Figure 47:</b> Relation entre longueur de corps totale (mm) et masse (g) tant pour femelles que mâles. ....	107
<b>Figure 48:</b> Modèle de coloration de Salamandra algira de l'Edough. A, B : Vue dorsale de la salamandre, la première avec une forte présence de coloration rougeâtre mélangée au jaune, la seconde une coloration typique avec un jaune vif. C : Mâle, D : Femelle, une face ventrale remplie de points blancs et une ligne d'ocelles sur les bords latérodorsales. E : Des ocelles sur la patte postérieure. F : une vue zoomer sur les ocelles. ....	109
<b>Figure 49:</b> Histogramme du haut : Fréquence des points blancs sur les quatre parties du corps. Histogramme du bas : Fréquence des ocelles. Barre fermée : mâle, barre ouverte : femelle. ....	110

# Liste des Tableaux

<b>Tableau 01:</b> Position taxonomique des Amphibiens .....	8
<b>Tableau 02:</b> Moyennes des températures de l'Edough (station météorologique de Séraïdi) des années 2014-2015.....	27
<b>Tableau 03:</b> La liste des espèces d'Amphibiens inventoriés dans notre région d'étude : le Nord-Est Algérien. ....	37
<b>Tableau 04:</b> Valeurs des indices de diversité chez les adultes. ....	55
<b>Tableau 05:</b> Valeurs des indices de diversité chez les têtards et les larves.....	56
<b>Tableau 06:</b> Résumé des principales caractéristiques de chaque espèce et ses menaces. (Bouزيد, 2019).....	62
<b>Tableau 07:</b> Données géographiques des sites d'échantillonnage.....	76
<b>Tableau 08:</b> Séquences des primers et les conditions de PCR appliqués pour l'amplification des fragments d'ADN mitochondriaux. (Steinfartz et al. 2000 ; Beukema et al. 2010 ; Merabet et al. 2016) .....	79
<b>Tableau 09:</b> Caractères sexuels externes chez Salamandra algira algira (Rebelo et Leclair, 2003).....	97
<b>Tableau 10:</b> Résultats de corrélation de Pearson (âge/taille) N=46.....	106
<b>Tableau 11:</b> Description statistique des âges et de la longueur de notre population. ....	106
<b>Tableau 12:</b> Résultats de la corrélation de Pearson (taille/poids) N=45. ....	107
<b>Tableau 13:</b> Moyenne et écart-type des mesures morphologiques des mâles et des femelles, résultats de la covariance de N=46, p=0.5, intervalle de confiance 90%. ....	108

## Liste des abréviations

**ADNmt**.....ADN mitochondrial

**ANCOVA**.....Analyse de covariance

**D-loop**.....Displacement loop

**EN**.....En danger

**IUCN**.....Union internationale pour la conservation de la nature

**LAC**.....Lignes d'arrêt de croissance

**LC**.....Préoccupation mineur

**MCS**.....Marque de croissance squelettique

**PNEK**.....Parc national d'El Kala

**SSD**.....Dimorphisme sexuel de taille

**VU**.....Vulnérable

# Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction générale.....	1
Objectifs et structuration de la thèse .....	5
Chapitre I : Biodiversité et caractérisation des peuplements d'Amphibiens.....	7
I.    Modèle biologique.....	7
1.1    Classification des Amphibiens.....	7
1.1.1    Les Anoures.....	8
1.1.2    Les Urodèles.....	9
1.1.3    Les Cécilies (Apodes ou Gymnophiones) .....	10
1.2    Le dimorphisme sexuel .....	10
1.3    Les modalités de la reproduction .....	10
1.3.1    L'accouplement chez les Urodèles.....	11
1.3.2    Amplexus chez les Anoures .....	12
1.3.3    Le développement des œufs .....	13
1.3.4    Le développement des têtards-larves .....	14
1.4    Le mode de défense des Amphibiens .....	15
1.5    La régénération d'organes.....	16
1.6    Le régime alimentaire .....	16
1.7    Les prédateurs des Amphibiens .....	17
1.8    L'endémisme dans la région méditerranéenne .....	17
1.9    Les principales menaces .....	19
II.    Matériels et méthodes.....	21
2.1    Zone d'étude.....	21
2.2    Les sites d'études.....	21
2.1.1    Annaba .....	22
2.1.2    Edough .....	23

2.1.3	El Tarf .....	24
2.1.4	El Kala.....	24
2.1.5	Le couvert végétal .....	25
2.1.6	Caractéristiques climatologiques .....	27
2.1.6.1	La température.....	27
2.2	Méthodologie de l'inventaire .....	28
2.2.1	Capture et détection.....	29
2.2.1.1	Pêche à l'épuisette dans les sites aquatiques.....	29
2.2.1.2	Capture à la nasse .....	30
2.2.1.3	Capture à la main .....	31
2.2.2	La détection auditive et visuelle .....	32
2.2.2.1	Détection des anoues chanteurs .....	32
2.2.2.2	Détection visuelle des Amphibiens.....	32
2.3	Caractérisation des peuplements d'Amphibiens .....	32
2.4	Traitement des données .....	35
III.	Résultats .....	36
3.1	Biodiversité des Amphibiens et description des espèces.....	36
3.1.1	Les espèces de l'ordre des Anoues .....	38
3.1.1.1	Famille des Ranidés .....	38
3.1.1.2	Famille des Alytidés.....	39
3.1.1.3	Famille des Hylidés.....	41
3.1.1.4	Famille des Bufonidés.....	42
3.1.2	Les espèces de l'ordre des Urodèles .....	46
3.1.2.1	Famille des salamandridés .....	46
3.2	Les indices structuraux du peuplement .....	49
3.2.1	La richesse spécifique .....	49
3.2.2	L'abondance absolue et relative des espèces .....	50
3.2.2.1	Analyse des indices de diversité des adultes.....	54
3.2.2.2	Analyse des indices de diversité des têtards et des larves .....	56
IV.	Discussion .....	58
	Contexte et objectifs.....	64
	Chapitre II : Etude phylogénétique d'une population de « <i>Salamandra algira algira</i> » de l'Edough.....	66
I.	Généralités sur le modèle biologique et quelques rappels et définitions .....	66
1.1	Qu'est-ce qu'une population ?.....	66
1.2	Description de <i>Salamandra algira</i> (Bedriaga, 1883).....	66
1.2.1	Description .....	66

1.2.2	Historique de la Salamandre Nord-africaine .....	67
1.3	Le matériel génétique.....	69
1.3.1	La Mitochondrie .....	69
1.3.2	L'ADN mitochondrial.....	69
1.3.3	Qu'est-ce-que la D-loop et pour quelle raison la privilège-t-on ? .....	70
1.3.4	Vitesse de mutation de l'ADN mt .....	71
1.3.5	Le mode de transmission de l'ADN mt .....	72
1.3.6	ADN mitochondrial plutôt que ADN nucléaire ?.....	72
1.4	La phylogénie et l'arbre phylogénétique.....	72
1.4.1	Définition de la phylogénie .....	72
1.4.2	L'arbre phylogénétique .....	72
1.5	Méthodes d'analyses phylogénétiques.....	73
1.5.1	Méthodes de maximum de parcimonie .....	73
1.5.2	Méthodes de maximum de vraisemblance (Likelihood) .....	74
II.	Matériels et méthodes.....	75
2.1	Région d'étude .....	75
2.2	Choix des sites d'étude.....	75
2.3	Méthode d'échantillonnage .....	76
2.3.1	Manipulation sur terrain .....	77
2.3.2	Manipulation au laboratoire .....	78
2.3.2.1	Extraction d'ADN au chelex.....	78
2.3.2.2	Amplification de l'ADN par PCR .....	78
2.3.2.3	Les logiciels utilisés.....	80
III.	Résultats .....	82
IV.	Discussion .....	84
	Contexte et objectifs.....	87
	Chapitre III : Etude des traits d'histoire de vie d'une population de « <i>Salamandra algira algira</i> » de l'Edough, par la méthode squelettochronologie.....	89
I.	Qu'est-ce que la squelettochronologie ? .....	89
1.1	Histomorphologie.....	89
1.2	Formation des lignes d'arrêt de croissance LACs .....	89
1.3	Dédoublment des lignes d'arrêt de croissance .....	91
1.4	La mise en œuvre de la méthode .....	91
1.5	Variations interpopulationnelles et intersexuelles de la longévité écologique des animaux.....	92
1.6	Longévité et maturité sexuelle .....	92
1.7	Résorption endostéale .....	93
1.7.1	Destruction des premières LAC formées .....	93

1.7.2	Croissance différentielle des divers éléments squelettiques .....	94
1.8	Les mesures morphométriques et dimorphisme sexuel de taille .....	94
<b>II.</b>	<b>Matériels et méthodes.....</b>	<b>97</b>
2.1	Les manipulations sur terrain .....	97
2.1.1	Détermination du sexe .....	97
2.2	Manipulation au laboratoire .....	99
2.3	Traitements des données.....	100
<b>III.</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>101</b>
3.1	Sexe ratio .....	101
3.2	La maturité sexuelle.....	101
3.3	La structure d'âge.....	102
3.4	La courbe de croissance.....	105
3.5	Description biométrique de l'échantillon .....	106
3.6	Morphométrie et dimorphisme sexuel de taille de la Salamandre .....	107
3.7	Description du pattern de coloration .....	108
<b>IV.</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>111</b>
	Conclusion générale et perspectives .....	114
	Références bibliographiques.....	118

# INTRODUCTION GENERALE



## **Introduction générale**

La biodiversité invoque toujours la richesse et l'équilibre de la planète, mais également une préoccupation mondiale à laquelle doit faire face la société d'aujourd'hui. Sa distribution n'étant pas uniforme à travers les écosystèmes, elle se démarque dans certaines régions du globe par une richesse et un taux d'endémisme très élevés, on parle des points chauds de biodiversité ou « biodiversity hotspots » (Myers et al, 2000).

Parmi ces hotspots on a les zones humides, qui représentent environ 1% de la planète et sont considérées comme les habitats les plus menacés sur terre (Hamblen et al, 2011), avec environ 10% des espèces et un tiers des vertébrés actuellement connus (Vié et al. 2009, Strayer et Dudgeon, 2010).

Pour les scientifiques, limiter cette perte de biodiversité est un réel défi du fait du manque de connaissances sur la distribution des espèces et leur taux de disparition (Magurran et al. 2010). Ces connaissances sur la répartition sont primordiales pour : la biologie de conservation par la mise en place de plans d'action et de gestion adaptés, pour la définition d'aires de conservation et les études d'impact environnemental où les inventaires de la biodiversité sont obligatoires (Gibbons, 2003).

On compte parmi ces points chauds la région méditerranéenne, du fait de ses fonctions passées de refuges glaciaires (Petit et al., 2002) et celles de refuges actuels (Quezel et Médail, 2003). En effet, la situation géographique de l'Afrique du Nord l'avantage considérablement : d'une part elle est considérée comme une entité biogéographique aux caractéristiques originales (Blondel et Aronson, 1999), et d'autre part l'influence de la mer et du désert, associée à des processus d'orogénèse ont déterminé les conditions de forts endémismes (Huseman et al. 2013 ; Jaskula, 2015).

Cette diversité est plus relative chez les Amphibiens, effectivement, la rive africaine héberge une faible richesse en espèces, mais enregistre un taux important d'endémisme (Fahed et al., 2015), et ce en raison du climat méditerranéen aride : 64% des espèces y sont endémiques (Cox et al., 2006).

Ces vertébrés représentent la première classe animale la plus touchée par la dégradation de la biodiversité. Stuart et al. (2004) ont montré que les Amphibiens présentaient un déclin et un risque d'extinction massive supérieure à celui des oiseaux et des mammifères, avec près de 1856

espèces menacées (soit 32%) sur un total avoisinant les 7000 espèces connues à l'échelle mondiale.

Les dernières décennies ont enregistré des extinctions alarmantes avec la disparition de 168 espèces (AmphibiaWeb). Les causes de ce déclin sont nombreuses mais les principales menaces sont :

1. La destruction et la fragmentation de leur habitat sous l'action anthropique.
2. Les maladies émergentes notamment la chytridiomycose.
3. Les changements climatiques.

L'association de ces menaces à l'échelle globale, peut représenter un facteur de menace très important pour les organismes dépendant de l'eau (Blaustein et al., 1990, 2003 ; Marsh et Trenham, 2001 ; Houlahan et al, 2000 ; Fahed et al., 2015).

En Algérie, les études herpétologiques ont été longtemps négligées, ça ne semblait pas être un domaine attirant pour les chercheurs, et beaucoup moins en ce qui concerne les Amphibiens. Les travaux pionniers remontent au XVIII<sup>e</sup> siècle par des ouvrages descriptifs mais précieux notamment les travaux de : Shaw (1743) « voyage en Barbarie et au Levant » ou encore le travail de l'abbé Poiret (1789) « Voyage en Barbarie, ou lettre écrite de l'ancienne Numidie », qui mentionne pour la première fois le genre Pleurodèle en Algérie. Au siècle suivant comprenait l'apparition de plus d'études notamment ceux de Gervais (1836, 1848, 1857), Guichenot (1850), Strauch (1862), Lataste (1881), ou encore les nombreux travaux de Boulenger (1885, 1889, 1891), mais l'éminent travail de Doumergue (1901) en Oranie reste à ce jour l'une des références en herpétologie Algérienne.

Depuis les recherches se sont faites de plus en plus rares, voir pas d'étude, jusqu'à l'apparition du livre « Amphibians and reptiles of North Africa » de Schleich et al. (1996), ce guide aborde plusieurs aspects liés à la biologie, la reproduction et l'écologie de toutes les espèces de Reptiles et Amphibiens d'Afrique du Nord et attribue un total de 12 espèces d'Amphibiens à l'Algérie.

Les espèces Nord-africaines ont été séparées de leurs parents européens lors de l'ouverture du détroit de Gibraltar après la crise de salinité Messénienne il y a de cela environ 5,7 millions d'années (Scheilch et al, 1996). Ces oscillations climatiques dans la zone du Maghreb ont

modifié l'environnement, dont certaines zones présentent des conditions inadaptées à la présence des espèces, c'est ce qu'on appelle aujourd'hui « des barrières naturelles ».

Les transitions rapides de climat (de l'humide à l'aride) produisent des changements dans la composition des assemblages des Amphibiens, en bloquant les déplacements des espèces métriques et en favorisant ainsi la spéciation allopatrique des espèces (Recuero et al, 2012 ; Escoriza et Ben Hassine, 2015).

La topographie et le climat sont les principaux facteurs favorisant la biodiversité. Les chaînes montagneuses de l'Atlas et du Rif (au Maroc), jouent le rôle de barrières naturelles et de refuges climatiques (Beukema et al, 2010 ; Nicolas et al, 2015) entre les espèces. Un autre modèle de divergence suit une distribution Est-Ouest, qui est probablement associé à des transgressions marines historiques dans des vallées fluviales ou à des périodes de fluctuations climatiques allant de conditions humides à hyperarides (Dinis et al, 2018).

On peut constater ce modèle chez les Amphibiens d'Algérie, notamment chez les espèces d'anoures : « *Hyla meridionalis* » et « *Pelophylax saharicus* » (Ruceuro et al, 2012 ; Nicolas et al, 2015). Au Maroc, la diversité est plus accentuée chez l'urodèle *Salamandra algira* avec la présence de trois sous espèces « *Salamandra algira tingitana* (Donaire-Barroso et Bogaerts, 2003) ; *Salamandra algira spelaea* (Escoriza et Comas, 2007) et *Salamandra algira splendens* (Beukema et al, 2013) ». Ce phénomène est souvent attribué aux facteurs environnementaux et géographiques qui jouent le rôle de barrières naturelles. Cependant il reste beaucoup de questions en suspens concernant les espèces dans le Maghreb malgré les récentes études phylobiogéographiques.

Dans cette thèse, l'un des points importants est la région d'étude notamment la péninsule de l'Edough, étant le seul massif cristallin extrême connu dans tout le Maghreb. Il a subi un isolement géographique ancien durant le miocène (Carranza et Wade, 2004). Cette région est caractérisée par une ambiance bioclimatique humide (Seltzer, 1946).

Selon Vela et Benhouhou (2007), dans le Nord de l'Algérie, les secteurs les plus remarquables pour l'endémisme, sont la côte oranaise suivie par la Kabylie. Quant aux espèces rares, c'est la Numidie littorale qui arrive en tête.

Les Amphibiens sont connus pour être d'excellents bioindicateurs de l'environnement et sont souvent étudiés à des fins de détermination de l'état des écosystèmes. Ainsi, étudier la dynamique de leurs populations permet de comprendre les variations démécologiques et les

changements dans les communautés en fonction des changements de la qualité d'habitat (Wake, 1991 ; Pechmann, 2003 ; Thirion et al, 2016).

Ces poïkilothermes, sont dépendants des conditions climatiques qui influencent non seulement sur leur distribution (limites de tolérance) et l'abondance de leurs espèces, mais aussi sur le rythme et la durée des saisons de croissance chez ces espèces (Dajoz, 1982 ; Duellman et Trueb, 1986). Le climat est considéré comme un facteur clé déterminant la distribution des espèces d'Amphibiens en raison des limites étroites imposées par leur physiologie (Araujo et al., 2006 ; Hua et Wiens, 2010).

Cependant, des adaptations génétiques peuvent parfois compenser en partie les conditions climatiques défavorables. Ainsi, chez certaines espèces d'Amphibiens, des populations de milieux froids démontrent une croissance plus rapide que des populations de même espèce vivant dans des milieux où la saison de croissance est plus longue (Berven, 1982 ; Conover et Present, 1990 ; Augert et Joly, 1993). Alors qu'en général, les individus de populations vivant en haute latitude ou en haute altitude grandissent plus lentement que leurs congénères de régions plus au sud ou dans des basses terres (Hemelaar, 1988) (In Laurin, 1994). Ces facteurs abiotiques jouent un rôle prépondérant sur la taille des individus tant à l'état adulte qu'à l'état embryonnaire.

Etudier la structure d'âge d'une population fournit des données importantes pour comprendre son écologie, y compris la construction de tables de mortalité et l'évaluation de traits de vie tels que : le taux de croissance, le taux de survie à l'âge adulte, l'espérance de vie à l'âge adulte et la maturité sexuelle. Les tables de mortalité et la structure par âge étant des outils essentiels pour comprendre la dynamique des populations sachant que l'exactitude de l'estimation de l'âge est essentielle pour les écologistes des populations et les biologistes de la conservation. Notant que l'âge d'un individu ne peut pas être connu avec exactitude, mais seulement estimé.

Nous avons choisi l'étude démographique de la population de salamandre dans la région de l'Edough, sa limite Est de distribution, à des altitudes environnant les 750 m en utilisant la méthode squelettochronologique, ce qui nous permettra en plus d'estimer l'âge et d'étudier certains des traits d'histoire de vie de l'espèce.

C'est dans ce contexte que s'est structurée la problématique de cette thèse qui repose sur une étude écologique pouvant apporter de nouvelles données en Algérie.

## Objectifs et structuration de la thèse

Le travail de cette thèse s'appuie sur une approche pluridisciplinaire qui réunit écologie, phylogénie et squelettochronologie. Notre but principal à travers ce travail est d'étudier un groupe taxonomique dans une région considérée comme un point chaud de biodiversité et d'endémisme (Vela et Benhouhou, 2007) : le Nord-Est de l'Algérie.

Les approches utilisées sont simplistes mais pertinentes visant à apporter des connaissances sur des taxons très peu étudiés jusque-là en Algérie.

La thèse s'organise ainsi sur trois principaux chapitres, chaque chapitre est structuré de la façon suivante : une introduction sous forme de généralités appropriées à chaque thématique ; une partie matériels et méthodes, les résultats qui seront discutés indépendamment à la fin de chaque chapitre.

Les objectifs de ce travail se construisent de la façon suivante :

- i. Quelles sont les espèces d'Amphibiens présentes dans une partie du Nord-est de l'Algérie ? Présentation et caractérisation des peuplements par des indices écologiques.
- ii. Définir le statut phylogénétique d'une population de Salamandre de l'Edough par rapport aux autres populations algériennes et marocaines, en se basant sur l'analyse de l'ADN mitochondrial.
- iii. Etude de certains traits d'histoire de vie de la population de Salamandre à travers la technique squelettochronologique : structure d'âge, courbe de croissance, morphométrie et coloration.

**Le premier chapitre** sera consacré à l'étude de la biodiversité, à travers un inventaire qualitatif et quantitatif, les résultats feront l'objet d'une description de toutes les espèces recensées. La caractérisation des peuplements sera appuyée par des traitements d'indices écologiques.

**Le second chapitre** portera sur une étude génétique « la phylogénie » de la sous espèce emblématique de la région de l'Edough : « *Salamandra algira algira*, (Bedriaga, 1883) », par l'utilisation du gène D-loop de l'ADN mitochondrial. La découverte des sous-espèces au Maroc, a suscité notre curiosité sur nos populations, les résultats de ce chapitre présenteront un arbre phylogénétique de toutes les populations Maghrébines.

**Le troisième chapitre** sera consacré à l'étude squelettochronologique. Cette technique est beaucoup utilisée chez les Reptiles et les Amphibiens. En effet, elle permet d'obtenir diverses informations sur l'espèce à partir de l'âge des individus, et ses résultats sont importants pour la biologie de la conservation. Les résultats obtenus dans notre présent travail sont considérés comme étant les premières données en Algérie.

A la fin de chaque chapitre, nous discuterons les résultats obtenus avec les plus récentes publications. Nous conclurons par une conclusion générale qui reliera les résultats de chaque chapitre. Des perspectives seront également proposées pour un bon suivi des Amphibiens et la nécessité de la mise en place de stratégies de conservation tant à l'échelle nationale qu'en Afrique du Nord.

# CHAPITRE I

## BIODIVERSITE ET CARACTERISATION DES PEUPLEMENTS D'AMPHIBIENS



# Chapitre I : Biodiversité et caractérisation des peuplements d'Amphibiens

## I. Modèle biologique

### 1.1 Classification des Amphibiens

Autrefois connus sous le terme de « Batraciens », les Amphibiens sont des tétrapodes de la classe des vertébrés occupant une position intermédiaire entre les Poissons et les Reptiles. Étymologiquement parlant, le mot « Amphibien » vient du grec et signifie « double vie » qui décrit l'aptitude essentielle de ces animaux à vivre dans deux mondes : l'aquatique, celui de leurs ancêtres les poissons, adapter au développement des larves et le terrestre, qu'ils ont été les premiers à coloniser, pour les postes métamorphosés et les adultes (Berroneau et al, 2010). Ce changement d'habitat lors du développement de l'animal implique une modification de l'organisme pour permettre l'adaptation au nouvel environnement. La grande majorité d'entre eux possède des branchies pendant le jeune âge, servant à respirer l'oxygène dissous dans l'eau. Ils possèdent deux membres antérieurs avec quatre doigts et deux membres postérieurs avec cinq doigts (Miaud et Muratet, 2004). Ces vertébrés à la peau nue et souvent abondamment pourvue de glandes, sont ectothermes = poïkilothermes : c'est-à-dire qu'ils ne peuvent réguler leur température interne et sont dépendants des conditions thermiques de leur milieu. De ce fait, durant les mois les plus froids, ces animaux économisent leurs dépenses énergétiques en hibernant la majeure partie de l'hiver, et ce stade de vie ralentie peut parfois aller jusqu'à une immobilité complète de l'organisme. Ils s'abritent sous la terre, sous une souche ou une pierre et même au fond de l'eau dans la vase (Grosselet et al, 2001. Mamou, 2011). Dans les régions où l'hiver est plus clément, les Amphibiens peuvent ne pas hiberner, mais lors des grandes chaleurs, ils se cachent dans les hauteurs recherchant ainsi de la fraîcheur et des températures plus clémentes ou stagner leur activité, on parle alors d'estivation.

Aujourd'hui, on dénombre près de 7000 espèces dans le monde. On distingue trois ordres très différents morphologiquement (Tab. 01) : **Anoures** regroupant les grenouilles et crapauds, **Urodèles** les salamandres et tritons et les **Cécilies** appelés également Gymnophiones, est le groupe le moins étudié, ce sont des Apodes.

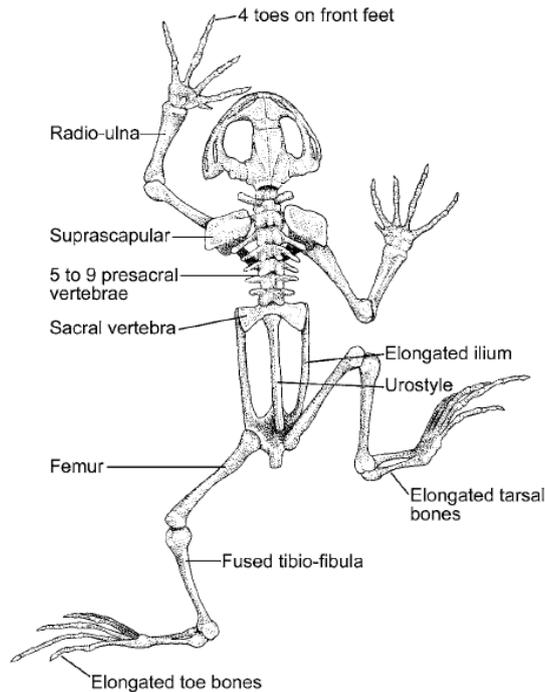
**Tableau 01:** *Position taxonomique des Amphibiens*

Règne : Animalia
Sous-règne : Bilateria
Embranchement : Chordata
Sous-embranchement : Vertebrata
Super-classe : Tetrapoda
Classe : Amphibia
Ordre : <b>Anoura, Urodela, Gymnophiona</b>

### **1.1.1 Les Anoures**

La plupart des dispositions taxonomiques récentes reconnaissent environ 30 familles d'anoures, avec environ 350 genres et presque 5300 espèces (Wells, 2007). Cet ordre regroupe les crapauds, grenouilles et rainettes. Ils se caractérisent à l'état adulte par leur corps trapu et court, dépourvus de queue, des pattes postérieures plus développées que les antérieures par l'adjonction d'un segment supplémentaire qui leur permet de sauter (Angel, 1946). Les doigts et les orteils sont plus ou moins réunis par des palmures leur facilitant la nage et le déplacement dans le milieu aquatique (Fig. 01). Leur tête est plutôt plate et large avec une ceinture pelvienne (Thurre, 2009).

Au stade larvaire, leur progéniture appelée communément têtard, est très différente de l'adulte, une tête arrondie et une longue queue, garnie de branchie pour la respiration. La peau est nue ou verruqueuse, recouverte souvent de nombreuses glandes éparses, néanmoins, chez les crapauds elles forment deux saillies allongées : des parotides (Doumergue, 1901).



**Figure 01:** *Squelette d'une grenouille, mise en évidence des caractéristiques importantes dans la locomotion. (After Pough, Janis et et Heiser, 2001).*

### 1.1.2 Les Urodèles

De récentes classifications des Urodèles (appelés également : Caudata) reconnaissent 10 familles avec 60 genres et plus de 400 espèces (Wells, 2007). Représentés par les salamandres et les tritons, ils sont caractérisés par un corps allongé et la présence d'une queue bien développée, tant à l'état larvaire qu'à l'adulte. Leur bouche est grande et pourvue de dents sur les deux mâchoires et au palais. Les dents palatines sont disposées sur deux rangées parallèles ou obliques entre elles, droites ou courbes (Miaud et Muratet, 2004).

Les larves des urodèles ont déjà la forme des adultes, sauf qu'ils sont huppés de branchies. Le squelette est pourvu de côtes plus ou moins développées et la peau est lisse, nue et finement verruqueuse. Ils ont deux paires de membres subégaux les antérieurs à 4 doigts et les postérieurs à 5 orteils. Les urodèles ne chantent pas mais font entendre de légers cris (Doumergue, 1901 ; Angel, 1946 ; Miaud et Muratet, 2004).

Ils ne sont pas tous des espèces aquatiques, certains se noient dans l'eau profonde à l'état adulte (notamment les salamandres) par conséquent, ils choisissent des eaux peu profondes pour

y déposer leurs larves. Certaines espèces sont plus aquatiques tels les tritons, qui sont de bons nageurs grâce à leur queue bien développée.

### **1.1.3 Les Cécilies (Apodes ou Gymnophiones)**

Ce sont des créatures dépourvues de pattes et ressemblent à des vers de terre, ils ont une longueur de 30 cm, mais ils peuvent atteindre 1,3m de long. Ils ont de très petits yeux et sont souvent aveugles (Raven et al, 2007). Cet ordre est distribué dans le continent Américain (Amérique centrale et du Sud), en Afrique de l'ouest et centrale, Asie du sud, Australie et Madagascar. Aucune espèce de ce groupe n'est signalée en Afrique du nord (Mamou, 2011).

## **1.2 Le dimorphisme sexuel**

Le dimorphisme sexuel chez les Amphibiens peut être saisonnier ou permanent. Il se manifeste particulièrement à la saison des reproductions par des colorations particulières, chez certains urodèles mâles, la coloration est plus vive et variée. Des productions cornées de la peau, la présence de glandes, des différences dans la taille des deux sexes, le développement de crêtes dorsale ou caudale, et de palmure (notamment chez les tritons), le gonflement du cloaque chez les femelles. (Angel, 1946 ; Miaud et Muratet, 2004).

Les mâles des Anoures, quant à eux, montrent souvent des bras plus puissants que leurs compagnes, des pouces fortement gonflés nommés « brosses copulatrices » pour qu'ils puissent bien s'attacher aux femelles lors de l'amplexus. Ou encore des rugosités épineuses qui peuvent se voir sur la poitrine de certaines espèces tel le *D. pictus*. Le trait le plus évident reste la présence de sacs vocaux, externes ou internes, très variables en dimension, et l'émission de chants pour la séduction des femelles (Angel, 1946).

## **1.3 Les modalités de la reproduction**

Les modalités de la reproduction chez les Amphibiens sont diversifiées, elles récapitulent le processus de la sortie des eaux. En effet, la plupart ces espèces (grenouilles, crapauds, reinettes et tritons) pondent des milliers d'œufs dans l'eau ou à proximité et leur reproduction est aquatique (ovipare) alors que chez les salamandres, la reproduction est interne et sont dit

ovovivipares. La reproduction s'exprime par des signaux visuels (Urodèles) ou acoustiques (Anoures) (Grosselet et al., 2001).

Le passage de l'œuf à la larve (éclosion) marque le passage d'un stade immobile à un stade libre, le passage de la larve au juvénile (métamorphose) se traduit par de grands changements anatomiques et physiologiques pour l'adaptation à la vie terrestre (Miaud et Muratet, 2004).

Une plus grande diversité est remarquée chez les salamandres, chez certaines espèces, les femelles donnent naissance à des larves ou des jeunes déjà métamorphosés, ou pondent des œufs d'où sortiront directement, à l'éclosion, des jeunes métamorphosés (Arnold et Oviden, 2004). La fécondation et le développement embryonnaire sont terrestres alors que le développement larvaire est mixte. Les embryons se développent dans l'oviducte, y effectuent leur éclosion et le début du développement larvaire. Les larves grandissent en consommant leurs importantes réserves vitellines. La femelle va ensuite les déposer dans l'eau où elles achèveront leur développement jusqu'à la métamorphose et le passage en milieu terrestre. Ces espèces sont dites « ovovivipares » (Miaud et Muratet, 2004).

Au Maroc, la sous-espèce *Salamandra algira tingitana* (Donaire-Barroso et Bogaerts, 2003) a une reproduction vivipare : le développement des larves se fait à l'intérieur des femelles qui pondent des jeunes métamorphosés.

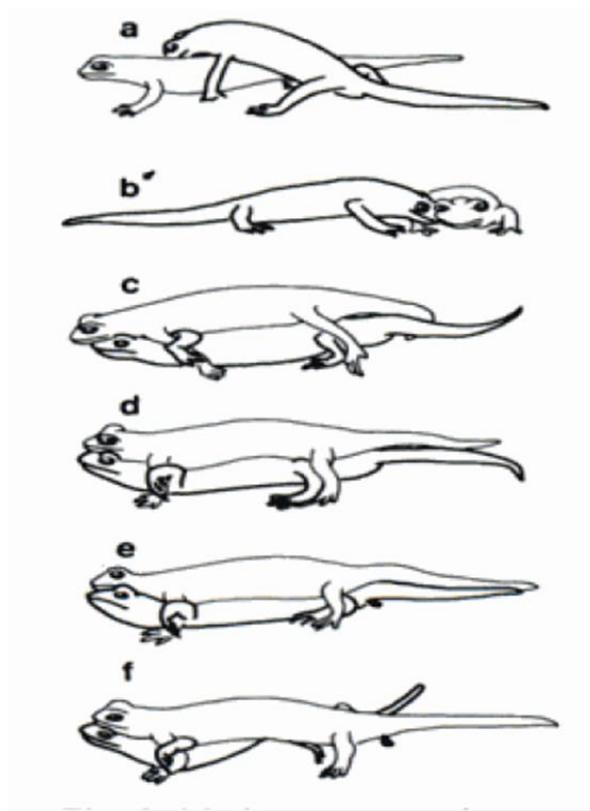
Les Urodèles et les Anoures ont développé des comportements reproducteurs originaux et caractéristiques, adaptés à leur mode de vie.

### **1.3.1 L'accouplement chez les Urodèles**

Lors de la période de reproduction, les individus des deux sexes effectuent une migration de leur site terrestre vers leur site aquatique. Les mâles, ayant acquis des caractères sexuels secondaires qui traduisent leur maturité, exécutent une parade nuptiale complexe durant laquelle ils libèrent des phéromones sexuelles. Les spermatozoïdes des Caudata sont contenus dans de minces enveloppes isolées nommées spermatophores qui, déposés dans l'eau par le mâle, sont saisis par les lèvres cloacales de la femelle, ces spermatozoïdes serviront à féconder les ovocytes lors de la ponte (Angel, 1946 ; Miaud et Muratet, 2004).

Chez la salamandre la fécondation se déroule sur la terre. Les mâles sortent durant les nuits pluvieuses et attendent, dressés sur leurs pattes antérieures, le passage d'une femelle. Lorsque

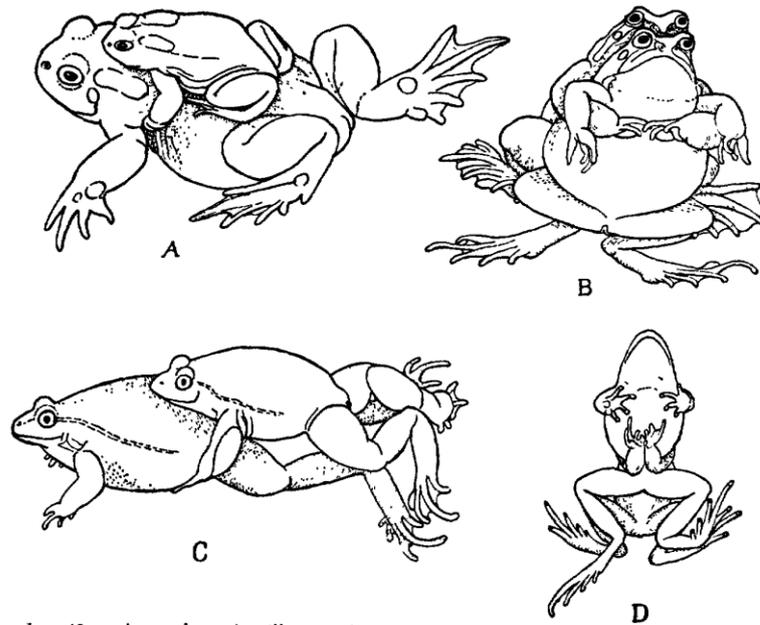
celle-ci est repérée, ils se précipitent et essaient d'enlacer ses membres antérieurs « amplexus brachial » (Fig. 02). Une fois dans cette position, le mâle frotte son museau sur la paroi du plancher buccal de la femelle et il dépose un spermatophore sur le sol puis pivote sur le côté pour laisser la place à la femelle qui le capte dans son cloaque (Miaud et Muratet, 2004).



**Figure 02:** Les différentes étapes d'accouplement chez *Salamandra salamandra* (Scheilch et al, 1996).

### 1.3.2 Amplexus chez les Anoures

Une fois arrivés sur le site de ponte, les mâles attirent les femelles par leur chant. Avec des bras musclés, il se cramponne sur le dos de la femelle dans une position caractéristique de son espèce. On a deux sortes de position (Fig. 03), soit un accouplement axillaire où le mâle agrippe la femelle sous les aisselles, soit en la saisissant dans la région de l'aîne, c'est un accouplement lombaire. Cette étreinte est facilitée par les rugosités épineuses ou « brosses copulatrices » (Fig.4), des doigts qui s'atténuent ou disparaissent après la période de la reproduction. Ces excroissances peuvent aussi exister sous les bras, sous le ventre et même aux orteils. La femelle pond des ovocytes mûrs dans l'eau, le mâle relâche les spermatozoïdes pour les féconder (Miaud et Muratet, 2004).



**Figure 03:** Accouplement axillaire de *Bufo bufo* (A) et de *Rana arvalis* (B). Accouplement lombaire de *Discoglossus pictus* (C) et de *Pelodytes punctatus* (D) (d'après G.A. Boulenger) (Angel, 1946)



**Figure 04:** Mâle Discoglosse des excroissances de reproduction (brosses copulatrices à gauche, rugosité sur les pattes postérieures à droite) (Bouzid, 2014).

### 1.3.3 Le développement des œufs

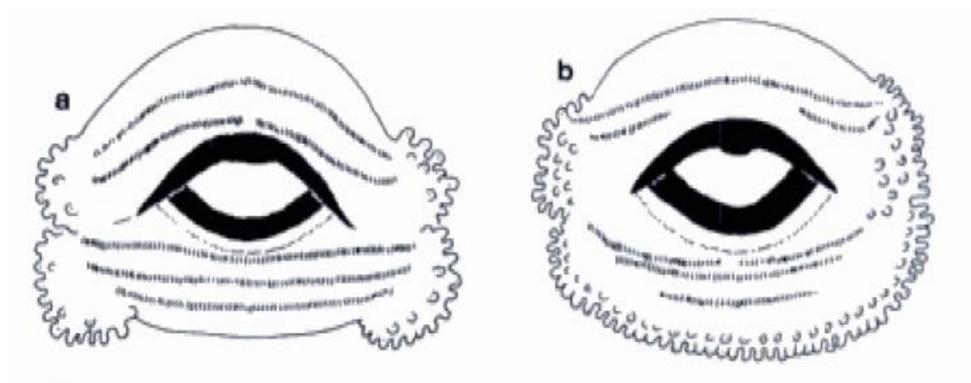
La plupart des Amphibiens abandonnent leurs œufs dès que la ponte est terminée, mais chez certaines espèces ils apportent un soin tout particulier à leur progéniture, protégeant tantôt les œufs, tantôt les larves.

Les œufs sont du type hétérolécithe. Le développement embryonnaire débute par une segmentation totale et inégale. La vitesse de développement est variable et dépend de la température de l'eau (Miaud et Muratet, 2004).

#### 1.3.4 Le développement des têtards-larves

Le développement d'un têtard (Anoures) (Fig. 06) passe par divers stades. Après l'éclosion, la respiration est branchiale, mais elle est rapidement remplacée par des branchies internes recouvertes d'un repli de la peau qui ne laisse qu'un orifice externe, le **spiraculum** par où s'échappe l'eau qui a baigné les branchies. C'est à ce moment des métamorphoses que commence l'état de têtard proprement dit. La position de cet orifice est variable selon les espèces. Les Anoures possèdent un bec corné : une ouverture buccale munie de deux pièces cornées, dont les rebords disposent de fines dents en rangées transversales (Fig. 05). Cette structure est associée à leur alimentation (filtreur, racleur, herbivore, détritivore), et leur disposition sert dans la détermination des espèces. Au moment de la métamorphose, celle-ci tombe et est remplacée par une bouche classique (Miaud et Muratet, 2004).

La peau s'épaissit en fonction des stades de développement, et le jeune doit passer au milieu aérien à la fin de la métamorphose. La peau externe est constituée de couche de cellules mortes aplaties et kératinisées : c'est la mue. Disparition de la queue et apparence de la membrane tympanique pour les Anoures (Angel, 1946 ; Miaud et Muratet, 2004).

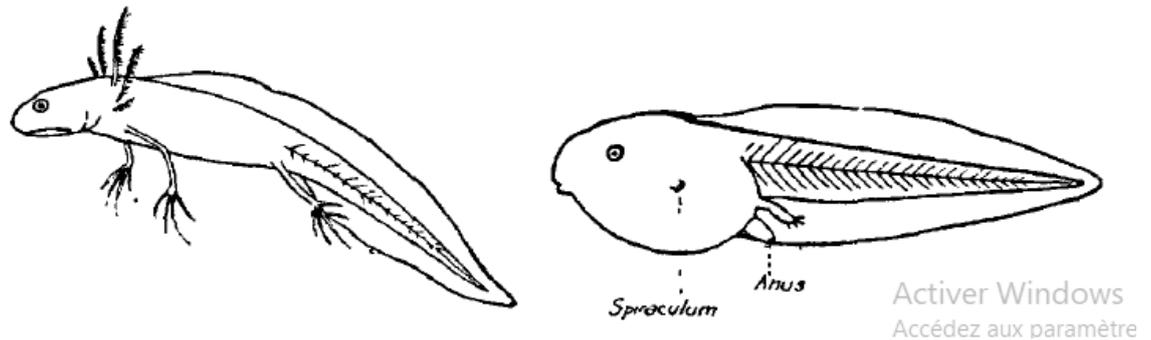


**Figure 05:** Disque buccal de têtard d'anoures avec les denticules. a) têtard de *Bufo bufo*, b) têtard de *Pelophylax saharicus*. (Scheilch et al, 1996)

Les larves d'Urodèles (Fig. 06) possèdent à la naissance 3 houppes branchiales, une denture spéciale, des membranes caudales et dorsales. Les différents stades de développement pour

atteindre la métamorphose se marquent par des modifications importantes de la morphologie larvaire. La bouche se transforme en fonction du régime alimentaire, les yeux sont plus proéminents, le tube anal disparaît, le rétrécissement/disparition des branchies et la coloration des juvéniles ou de l'adulte apparaît (Miaud et Muratet, 2004).

Les différents stades de développement par lequel passent les larves et têtards avant la métamorphose sont appelés stades de Gosner (Gosner, 1960).



**Figure 06:** Dessin représentatif d'une larve d'urodèle (à gauche), et un têtard d'anoures (à droite). (Angel, 1946)

#### 1.4 Le mode de défense des Amphibiens

La capacité des Amphibiens à vivre dans deux milieux différents fait que leur adaptation physiologique leur permet une double respiration : pulmonaire et par la peau.

En effet, leur peau joue un rôle important dans la fonction respiratoire ; mais pas que, elle joue un autre rôle dans leur protection (peau rugueuse contenant de nombreuses glandes sur l'ensemble du corps). Certaines espèces (la plupart des crapauds et salamandres) sont munis de deux grandes glandes parotoïdes au niveau de la tête juste derrière les yeux. Ces glandes constituent leur arme de défense, car dépourvus de tout autres moyens de défense, ces animaux restent très fragiles. Ces glandes sécrètent deux sortes de venins plus ou moins actifs : venin muqueux et venin granuleux, dont les propriétés toxiques ou irritantes éloignent la majorité de leurs ennemis. Les téguments contiennent parfois une quantité plus ou moins grande de sels calcaires qui protègent la tête et le corps en formant un bouclier fort rigide. Elles renferment également les chromatophores dont les mouvements modifient rapidement la coloration de l'animal exemple de la reinette.

Ce venin est purement défensif. Toutefois les Amphibiens peuvent être maniés sans crainte car ils sont dépourvus de moyens d'inoculation (Miaud et Muratet, 2004 ; Angel, 1946).

## 1.5 La régénération d'organes

La régénération d'organes mutilés a été observée depuis longtemps, particulièrement dans le groupe des Caudata. Cette remarquable habileté chez les Salamandridés de régénérer des structures complexes tels que la queue, les membres, la rétine, la moelle épinière et même des sections du cœur et du cerveau se reconstituent durant n'importe quel stade de leur cycle de vie (Brookes et Kumar, 2002 ; Carlson, 2007 ; Parish et al, 2007 ; Singh et al, 2010 ; Tanaka et Reddien, 2011). Les Salamandridés sont également capables de s'auto-soigner, en réparant les blessures profondes (Godwina et al, 2013).

## 1.6 Le régime alimentaire

La majorité des Amphibiens se nourrissent essentiellement d'animaux vivants qui sont généralement avalés en entier (Arnold et Ovenden, 2004 ; Mamou, 2011). La jeune larve/têtard se nourrit aussi bien d'algues microscopiques que de plantes supérieures comme par exemple du plancton, détritiques, particules de matière organique en suspension et faune microbienne associée. Mais les larves/têtards deviennent peu à peu carnivores, elles se détruisent mutuellement, prélevant sur la population aquatique des mares et des étangs les œufs et les têtards de leurs congénères et même ceux de leur propre espèce. Le cannibalisme est plus accentué chez les têtards et juvéniles et plus rares chez les adultes (Ben Hassine et Nouira, 2009).

Leur régime alimentaire se compose essentiellement d'insectes, de petits mollusques, des lombrics et tous autres petits vertébrés qui constituent cependant leur principale nourriture. Leur voracité est très grande, les œufs et les alevins de poissons sont également très recherchés. Toutefois, le régime alimentaire reste variable en fonction de la disponibilité des ressources des milieux, de leur structure et la compétition entre les espèces (Angel, 1946 ; Miaud et Muratet, 2004).

Le régime alimentaire des espèces *Pelophylax saharicus* et *Discoglossus pictus* se compose essentiellement de crustacé (clopote), d'insecte (coléoptère), et d'annélide (myriapode), l'étude de Ben Hassine et Nouira (2009) met en avant le caractère opportuniste et la capacité d'adaptation aux conditions changeants des milieux de *D. pictus*.

## 1.7 Les prédateurs des Amphibiens

Etant des animaux clés dans la chaîne alimentaire, les Amphibiens ont de nombreux ennemis, en plus de l'homme qui les utilise comme des sujets d'études et d'expériences. Ils sont victimes des oiseaux aquatiques, de certains reptiles notamment les serpents, des crustacés, de poissons et de leurs propres congénères ; sans compter les animaux parasites depuis les vers jusqu'aux protozoaires (on peut citer les sangsues).

En Algérie, plusieurs reptiles aquatiques : *Emys orbicularis*, *Mauremys leprosa* et *Natrix maura* sembleraient être des prédateurs des Amphibiens. Escoriza et Ben Hassine (2017), ont observé un *Natrix maura* un serpent qui lors de sa capture a régurgité un juvénile de *Pleurodeles poireti*. Ainsi que beaucoup d'autres oiseaux : la cigogne blanche *Ciconia ciconia* et le héron garde-bœufs *Bulucus ibis*.

## 1.8 L'endémisme dans la région méditerranéenne

La région méditerranéenne est bien connue pour sa riche biodiversité, mais elle se distingue particulièrement par son endémisme. Liée à son caractère de climat méditerranéen, alternance entre périodes d'inondation et de sécheresse, ses zones humides et mares temporaires sont sans doute les milieux les plus remarquables et les plus menacés. L'isolement biogéographique et la complexité géographique du territoire de la région font l'originalité de ses espèces (mare temporaire de la méditerranée, 2004).

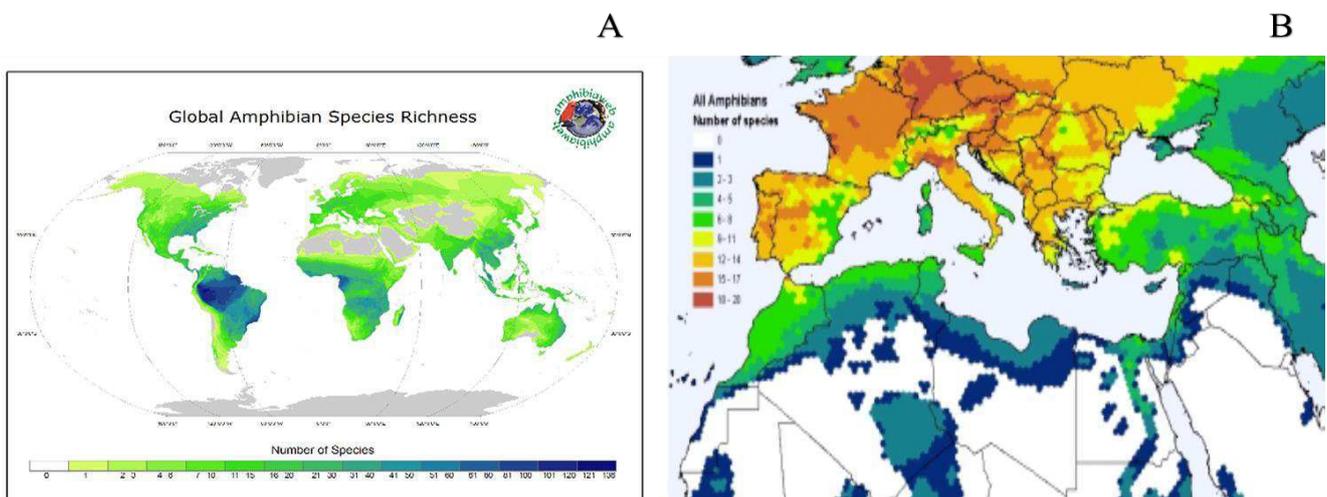
L'endémisme y atteint 58,7 % au niveau des espèces, ce qui est supérieur à la plupart des autres groupes botaniques et zoologiques (50 % chez les plantes vasculaires, 44 % chez les poissons d'eau douce, 46 % chez les papillons, 17 % chez les oiseaux) à l'exception des reptiles (62 %).

La diversité taxonomique des Amphibiens (Fig. 07) est également élevée avec 19 genres, 10 familles et 2 ordres soit respectivement 4,3 %, 22,2 % et 66,6 % du total mondial.

Les familles les mieux représentées sont les Discoglossidae avec 73,3 % des espèces mondiales (11 sur 15), les Pelodytidae avec 66,6 % des espèces mondiales (2 sur 3), les Salamandridae avec 35,8 % et les Protéidae avec 16,6 % des espèces mondiales. Au niveau des genres, 7 des 19 genres présents dans la région méditerranéenne en sont strictement endémiques : *Discoglossus*, *Chioglossa*, *Euproctus*, *Salamandrina*, *Pleurodeles*, *Proteus* et *Speleomantes*, et

plusieurs y sont majoritairement représentés : *Pelodytes*, *Pelobates*, *Alytes*, *Mertensiella* et *Triturus*. Parmi ceux-ci, beaucoup correspondent à des lignées anciennes à forte valeur patrimoniale. C'est le cas du genre *Pleurodeles*, constitué de 3 espèces appartenant à un groupe très primitif de Salamandridés.

Le discoglosse peint (*Discoglossus pictus*) de la famille des Alytidae est pratiquement endémique dans la région. Parmi les tritons et les salamandres, on trouve 54% des espèces mondiales de la famille Salamandridae dans la région, dont cinq genres endémiques. Deux genres sont présents au Maghreb (*Salamandra* et *Pleurodeles*) et se distinguent par des espèces endémiques et emblématiques à l'Afrique du Nord, notamment le Pleurodèle de Poiret (*Pleurodeles poireti*) endémique à l'Edough.



**Figure 07:** (A) *AmphibiWeb*, cartographier par Christina Lew, 2017. (B) *Richesse des espèces d'amphibiens du bassin méditerranéen* (source IUCN, 2006)

De récentes études ont démontré un endémisme plus accentué au Maghreb, notamment entre le Maroc et l'Algérie avec des sous-espèces de Salamandre, et du Discoglosse scovazzi endémique du Maroc. Selon une étude de l'UICN publiée en 2006, près d'une espèce sur quatre est considérée comme en danger d'extinction. Cela résulte probablement du fait de la prédominance des zones arides et semi-arides.

## 1.9 Les principales menaces

Les Amphibiens sont la classe de vertébrés la plus menacée mondialement (Fig. 08 A), avec près d'un tiers menacé d'extinction (Blaustein et Wake, 1995 ; Stuart et al. 2004 ; UICN, 2006). Ce taux alarmant qui pèse sur eux est fortement dû au fait de leur utilisation de différents milieux au cours de leur vie. En effet leur développement biphasique fait qu'ils sont obligatoirement dépendants de la présence et la qualité de leur milieu aquatique. La perméabilité de leur peau, fait qu'ils sont très sensibles à la qualité de leur milieu.

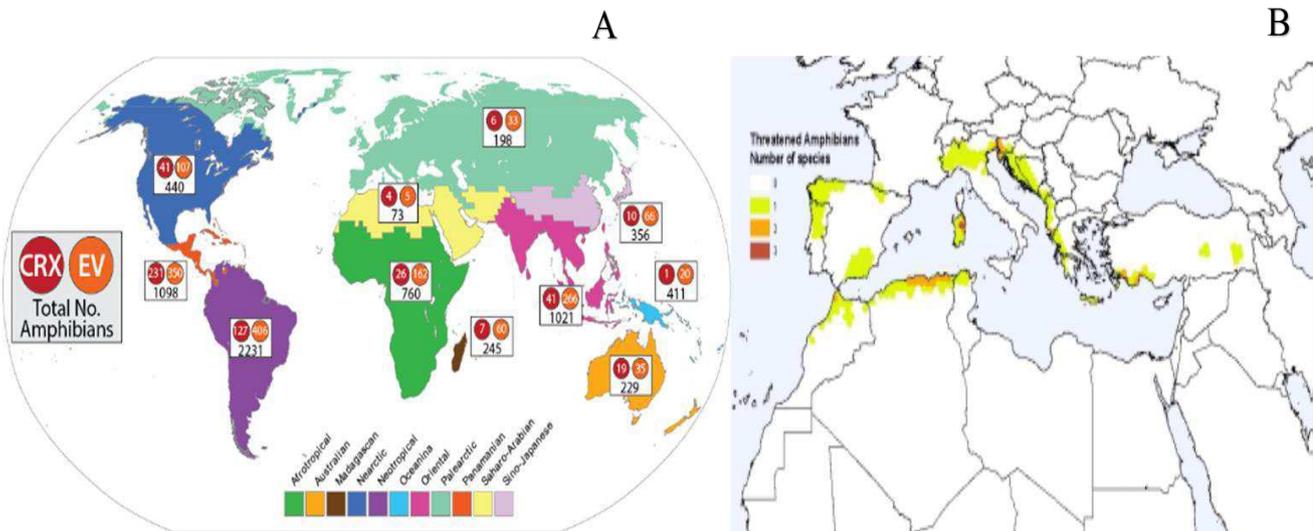
Ces milieux aquatiques ou zones humides aussi importantes et riches soient-elles, ne sont pas à l'abri d'utilisations irrationnelles. En effet, elles subissent le drainage au profit de l'agriculture, des défrichements illégaux, des incendies volontaires, des pollutions d'origines diverses et des assèchements consécutifs dus au pompages excessifs qui ne cessent de les rogner peu à peu. L'ampleur de ces dégradations et leur influence sur la structure, la composition et la pérennité de ces formations affecte directement les Amphibiens.

En plus de la dégradation des habitats, ces derniers subissent de nombreuses autres menaces notamment la pression anthropique et l'expansion démographique. L'intensification de l'exploitation forestière, les ruptures de connectivité sont des facteurs limitants pour les Amphibiens. En plus des changements climatiques, des maladies infectieuses (l'épidémie de la chytridiomycose) et divers types de pollutions (acidification du milieu, augmentation des rayonnements UV-B) ou introduction d'espèces exotiques (Blaustein et al., 2003 ; El Hamoumi et Himmi, 2010).

Bien que le pourcentage d'espèces menacées d'Amphibiens soit élevé dans le bassin méditerranéen (Fig. 08 B), il reste inférieur à la moyenne globale de 32,5% (Stuart *et al.* 2004). On compte près de 57,5% (ce qui équivaut 61 espèces) espèces de préoccupation mineure LC. Le niveau de menace varie considérablement entre les ordres. Le niveau de menace pour les grenouilles et les crapauds est relativement bas ; seules neuf espèces (14,1%) sont menacées. Parmi les salamandres et les tritons, le pourcentage d'espèces menacées est plus élevé 42,9% (18 espèces).

Les foyers de concentration des espèces en péril sont très peu nombreux. Il s'agit de la Sardaigne, du nord de l'Algérie, de l'ouest de la Slovénie et du sud-ouest de la Turquie. En résumé, 25,5% des espèces d'Amphibiens de la Méditerranée sont menacées, à raison de 0,9% En danger critique d'extinction, 12,1% En danger et 12,1% Vulnérables (IUCN, 2006).

En Algérie, on peut catégoriser 2 espèces en tant que vulnérable : la salamandre (*Salamandra algira*) et le crapaud commun (*Bufo spinosus*) et une espèce en danger d'extinction le pleurodèle de Poiret (*Pleurodeles poireti*) du fait de sa distribution géographique qui se limite à la région de l'Edough au Nord-Est.

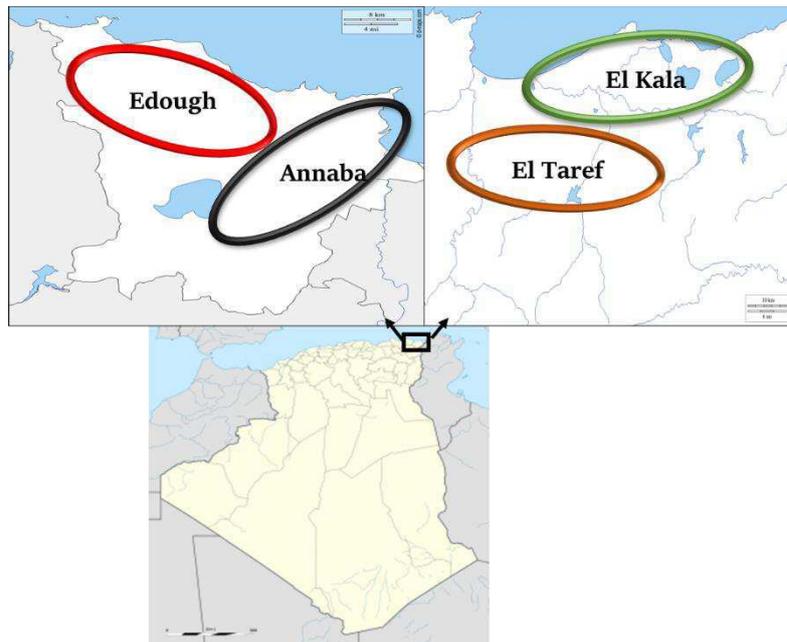


**Figure 08:** (A) Les espèces menacées et en voie de disparition par le biome de Wallacean (Michelle Koo, 2014). (B) Répartition des espèces menacées dans les zones méditerranéennes (IUCN, 2006.)

## II. Matériels et méthodes

### 2.1 Zone d'étude

Pour notre étude, nous avons choisi une zone du Nord-est algérien, bien connue pour sa richesse en zones humides et par sa particularité en espèces rares et endémiques. Cette région inclue deux principales villes (Fig.09) : Annaba et El Taref, avec la présence respectivement de la chaîne montagneuse de l'Edough et du parc national d'El Kala dont les zones humides sont mondialement reconnues et protégées par l'UNESCO.



**Figure 09:** Division de la zone d'étude en 4 principaux sites: Edough et Annaba (Wilaya de Annaba)(A); El Taref et El Kala (Wilaya d'El Taref)(B), Nord-est Algérien.

### 2.2 Les sites d'études

La présence des Amphibiens dépend étroitement des milieux, chaque espèce a des affinités pour des milieux bien particuliers aux conditions les plus optimales à sa présence et sa reproduction (eau stagnante ou courante, taux d'humidité élevé, profondeur, végétation, altitude...).

La forte densité des animaux (anoures), peu discrète pendant la période de reproduction, facilite le travail d'inventaire, alors qu'en milieu terrestre, l'échantillonnage est plus difficile du fait de leur discrétion et leur activité irrégulière. Les sites de reproduction chez les Amphibiens

peuvent intéresser aussi bien les adultes que les larves et même les pontes. Les larves sont présentes sur les sites pendant de plus longues périodes que les adultes (Lips, 1999 ; McDiarmid et Altig, 1999 ; Fahed et al, 2015).

Durant cette étude, l'échantillonnage s'est déroulé sur une période de deux années (2014-2015) à l'exception des mois de juillet et août où les conditions étaient les moins favorables. Nous avons suivi un protocole qui repose sur la prospection des différents points d'eau à la recherche essentiellement de pontes et des larves/têtards ; les alentours sont également inspectés à la recherche des jeunes métamorphosés (juvéniles) et des adultes sous des cachettes (pierres, feuilles mortes, morceaux de bois...).

Divers sites ont été prospectés dans quatre principaux sites : La région de l'Edough incluant la région de Séraïdi, Bou Zizi, Chetaïbi, Oued el Aneb, et la Marsa, cette région fait partie de la wilaya d'Annaba mais nous l'avons considéré comme une région à part du fait de la diversité de ses milieux (zones forestières et montagneuses). La région de Annaba (ce sont des sites à forte pression anthropique, Bouhamra, Sidi Achour, Kharaza, Aib Amar, Berrahel). La région d'El Tarf (incluant le grand lac des oiseaux, Sebaa, Chatt, Ben Mhidi, Berrihane) et la région d'El Kala ou le P.N.E.K (le parc national d'El Kala). Le choix des sites a été conditionné par les critères d'accessibilité et de sécurité.

Les sites à El Tarf sont à caractères ruraux et ceux d'El Kala sont plus diversifiés, ruraux à forestiers à basses altitudes. En tout 31 points d'eaux ont été échantillonnés, répartie de façon aléatoire entre les régions (un minimum de 5 sites par région), réparties le long d'un gradient altitudinal (des élévations modérées du mont l'Edough). Seuls les sites où une espèce a été détectée, ont été pris en compte.

Nous présentons ci-dessous de façon générale, les sites de l'inventaire.

### **2.1.1 Annaba**

La ville de Annaba se situe à 36° 54' 15" Nord 7° 45' 07" Est. Sa superficie 49 km<sup>2</sup>, elle se situe sur la rive sud du bassin méditerranéen, au Nord-Est de l'Algérie, à 420 km de la capitale Alger et à 100 km de la frontière tunisienne. La ville s'élève au fond d'une baie ouverte à l'est sur le golfe d'Annaba. Elle est dominée à l'ouest par la chaîne de montagnes de l'Edough (1008 m d'altitude). Annaba bénéficie d'un climat méditerranéen connue par ses longs étés chauds et

secs, les hivers sont doux et humides, la neige est rare mais on peut l'admirer sur les hauteurs de Séraïdi. Les pluies sont abondantes et peuvent être diluviennes.

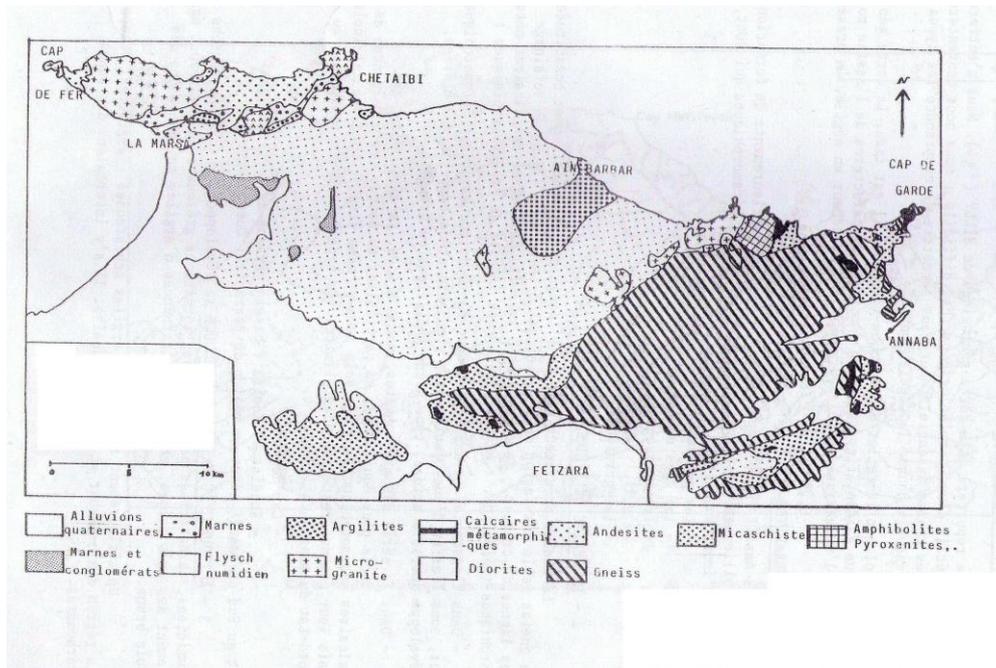
### **2.1.2 Edough**

Le massif de l'Edough (1008m d'altitude) a une position en saillant dans la mer Méditerranée qu'il domine par un versant raide est nettement isolé de la chaîne tellienne par un large croissant de plaines, long de 110 Km et large de 15 Km. (Marre, 1992 ; Belouahem-Abed, 2012) (Fig.10). La péninsule de l'Edough, décrite par Hilly (1957) comme « un ensemble de reliefs d'altitude modérée, véritable îlot montagneux ceinturé par la mer », est caractérisée par de fortes pentes. Le littoral s'étire sur plus de 90 km du cap de Garde jusqu'au cap de Fer (Boulemtafes, 2015).

La région de Séraïdi est un village forestier situé à 850 m d'altitude et à 16 km de la ville de Annaba. Ce village est siégé en pleine montagne de l'Edough, un massif forestier culminant à plus de 1000 m d'altitude.

La chaîne montagneuse s'étend de la presqu'île du Cap de Garde jusqu'au massif du Cap de Fer, une distance de près de 80 km. Le point le plus haut du massif de l'Edough, culminant à 1008 m d'altitude, est le mont Bou Zizi appelé par les anciens le Kef Sbaâ (rocher du lion).

La montagne de l'Edough (Thomas, 1977), porta autrefois le nom de mont Ragoug (Capitaine Maitrot, 1912), à proximité se trouve la colline dite de « l'Egyptienne » (ou de « La Mauresque »). Le massif cristallophyllien de l'Edough domine la mer méditerranéenne au nord, le lac Fetzara et la riche plaine agricole de la ville au nord-est, par la plaine de Senhadja et les massifs de Chétaïbi au nord-ouest sa masse principale, allongée en direction N55°E correspond au djebel Edough proprement dit. L'ensemble comprenait dans les années cinquante 176 sources homologuées et cartographiées, dont certaines connues depuis l'occupation romaine, qui permettent d'assurer l'alimentation en eau potable de la plaine (Arnaud, 1953 ; Hani et al., 1997).



**Figure 10:** Carte géologique schématique du massif de l'Edough et du Cap de Fer (1 /200 000) wilaya d'Annaba ,D'après (HILLY, 1962).

### 2.1.3 El Tarf

D'autre part pour ce qui est de la région d'El Tarf, elle est limitée au Nord par un cordon dunaire bordant la mer méditerranée, à l'Est par l'extrémité du versant Nord des monts de la Medjerda, au Sud-Est par la wilaya de Souk Ahras, au Sud-Ouest par la wilaya d'Annaba. Cette région est considérée comme la plus importante d'un point de vue écologique, compte tenu de sa situation géographique, de son climat, de ses lacs et l'importance de son parc naturel régional (78000 ha) (Marre, 1992).

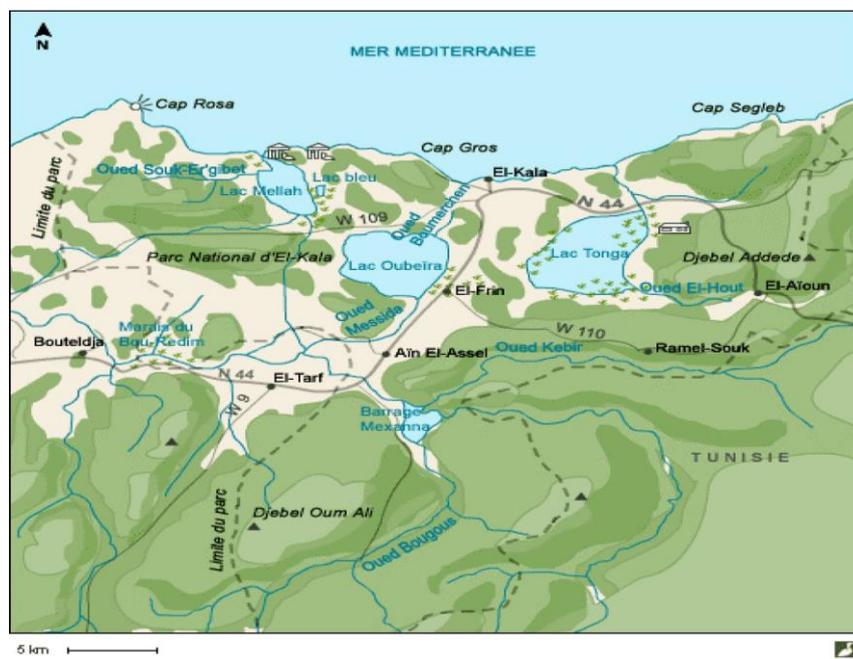
La région d'Annaba et d'El-Kala : il s'agit de la plaine sublittoral d'Annaba en liaison avec celle de Ben M'hidi et de la série des petites plaines ou on distingue d'Est en Ouest : les plaines d'El Frin, d'Ain El Assel, d'El Tarf, de Bouteldja et du lac des oiseaux (Belouahem, 2012).

### 2.1.4 El Kala

Le P.N.E.K (Parc National d'El Kala) est l'un des plus grands parcs d'Algérie, il constitue un patrimoine naturel important par la richesse biologique de ses habitats. D'une superficie de 80.000 ha, il est composé d'une mosaïque particulière d'écosystèmes, caractérisée par des zones

humides dont l'ensemble constitue un complexe considéré comme unique dans le bassin méditerranéen (Ghanem, 2014).

Le PNEK est localisé à l'extrême Nord-Est algérien, il est limité par la mer méditerranée au Nord, les monts de Medjerda au Sud, la frontière algéro-tunisienne à l'Est et les plaines d'Annaba à l'Ouest (Fig. 11). Le relief de la région se compose d'une série de dépressions, dont certaines sont occupées par des formations lacustres et palustres et des hautes collines aux formes variées : des dômes, escarpements, alignements de crêtes généralement couverts par une végétation dense (De Belair, 1990). La région est caractérisée par un réseau hydrologique important formé de sources (Bouredim, Bougles et Oum El-Bhaim), d'oueds (El-Kebir, Bougous et El-Aroug), de nappes et de lacs dont certains sont classés d'importance internationale par la convention de Ramsar.



*Figure 11 : Localisation géographique du Parc National d'El-Kala. (DGF, 2009) (In Ghanem, 2014).*

### 2.1.5 Le couvert végétal

La Wilaya de Annaba occupe une superficie de 141 198 ha (DGF, 2013), elle est classée parmi les villes à grande vocation forestière avec une superficie de 68 824 ha soit un taux de boisement de 48,74 %. Le maquis occupe une superficie importante soit 57,35 % de la superficie forestière. Il s'agit généralement d'un maquis dense composé d'un cortège floristique

du chêne liège très diversifié. Le patrimoine forestier de Annaba est composé d'une mosaïque d'écosystèmes riche et diversifié. On y trouve des forêts de chêne liège, de pin et d'Eucalyptus, des maquis à lentisque et à myrte. Selon le rapport de la DGF (2013), le patrimoine forestier est constitué de (In Necib, 2016) :

**Forêts naturelles** : Chêne liège (*Quercus suber*) 15 309 ha ; Chêne zeen (*Quercus faginea*) à l'état pur : 746 ha ; autres espèces rustiques : Le caroubier (*Ceratonia siliqua*), le châtaigner (*Castanea sativa*), le frêne (*Fraxinus oxyphylla*).

**Forêts artificielles** : *Eucalyptus* 3 315 ha (*Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus gomphocephala*), Pin maritime (*Pinus maritima*) 6 071 ha, Pin pignon (*Pinus pinea*) 200 ha, et autres espèces reboisées : Mimosa (*Acacia cyanophylla*, *Acacia melanoxylon*) et cyprès (*Cupressus sempervirens*).

Le couvert végétal de l'Edough est constitué d'espèces à affinité européenne, méditerranéenne et tropicale. C'est une véritable mosaïque de milieux diversifiés, façonnée par l'action combinée du climat et du réseau hydrologique. L'étage humide à hiver tempéré à froid caractérisé par des altitudes supérieures à 800- 900m dans les Djebels de l'Edough, il représente l'aire du Chêne zeen. Enfin, l'aspect particulier de la région réside aussi dans la présence de populations relictuelles d'espèces végétales et animales dont l'aire de distribution actuelle est soit franchement tropicale soit franchement européenne (Benyacoub, 1993) (Hamra- Kroua, 2005 ; Ghanem, 2014). Ces populations seraient maintenues depuis au moins le tertiaire grâce à la présence de 25 000 hectares de zones humides combinée à une température moyenne élevée. Junca (1954) et Joleau (1936) insistent sur le caractère biogéographique particulier de cette région, où des traces de l'ancien climat tropical Nord- Africain côtoient une faune et une flore aux affinités autant tropicale qu'européenne (in Hamra- Kroua, 2005 ; Ghanem, 2014).

Riche d'environ 850 espèces, la flore du PNEK se caractérise par une diversité structurale et un fort taux d'endémisme. Avec 231 espèces rares et très rares, appartenant à 62 familles et représentant 27% de la flore du Parc, soit 15% de la flore rare à l'échelle nationale (in Ghanem, 2014). La végétation de la région est principalement formée de chêne liège (43000 ha), chêne zeen (2716 ha), aulnaie (3000 ha), peupliers et ormes (621 ha), pin maritime (5153 ha) et pin d'Alep (20 ha) (DGF, 2008 in Tiar, 2014).

## 2.1.6 Caractéristiques climatologiques

Le climat par ses différents facteurs joue un rôle déterminant sur la vie des êtres vivants. C'est un facteur important dans la vie et l'évolution d'un écosystème. Il a une influence directe sur la faune et la flore (Samraoui et De Belaire 1997), notamment les ectothermes : les Reptiles et Amphibiens qui sont directement liés aux facteurs climatiques.

Le climat d'Annaba est un climat doux, pluvieux en hiver, chaud et subhumide en été avec une moyenne maximale de 32°C en août et une moyenne minimale de 6,58°C en janvier.

### 2.1.6.1 La température

La température représente un facteur limitant de toute première importance car, elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne de ce fait la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'êtres vivants dans la biosphère (Ramade, 1984).

Le tableau 02 résume les températures moyennes, maximales et minimales pour les années d'échantillonnage. Ces données ont été recueillies à la station météorologique de Séraïdi.

*Tableau 02: Moyennes des températures de l'Edough (station météorologique de Séraïdi) des années 2014-2015.*

	Janv.	Ferv.	Mars	Avri.	Mai	Juin.	Juil.	Aou.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.
T° moyenne	12,3	11,8	13,05	15,5	19	22,7	25,1	26,2	24,7	21,8	17,4	12,8
T° maximale	16,6	16,3	17,3	21,3	24,9	28,4	30,8	31,4	30,1	27,1	22,4	18
T° minimale	13,5	7,2	8,8	9,7	13	17,1	19,5	21,1	19,4	16,5	12,5	7,7

### 2.1.6.2 Les précipitations

En Algérie, la pluviométrie peut être soumise à l'orographie et aux influences maritimes. En effet, la répartition de la pluviométrie subit 03 influences : l'altitude, les conditions topographiques, la longitude et enfin l'éloignement à la mer (Ali Tatar, 2010).

Les précipitations ont un rôle très important en région méditerranéenne. Elles sont caractérisées

par leur régime irrégulier et leur répartition inégale (sécheresse de l'été) (Toth, 1987). Les connaissances sur les précipitations de l'Est algérien sont partielles et très dispersées. Il s'agit d'un régime méditerranéen avec une décroissance rapide des pluies du Nord vers le Sud, à climat humide à aride puis désertique (Tir, 2009).

Les précipitations sont abondantes, la pluviométrie annuelle est de 630 mm. En hiver les précipitations sont importantes avec un maximum de 100 mm en janvier et en décembre et sont rares en été avec 0mm en juillet.

### **2.1.6.3 Le vent**

Les vents dominants sur le littoral du Nord-est algérien sont de direction Nord-Ouest, modérés à forts en hiver, soufflant une grande partie de l'année. Ils apportent les précipitations les plus importantes venues de l'Atlantique. Le Sirocco souffle principalement en été venant du Sud-est assèche l'atmosphère et favorise, avec les températures élevées, les incendies de forêts (Benyacoub et al., 1998 ; in Tiar, 2014). En hiver, la fréquence des vents dominants se regroupe dans les directions Ouest et Nord-ouest, tandis qu'en été les vents soufflent souvent du Sud vers l'Ouest. Les vents du Nord sont généralement secs alors que les vents du Sud amènent les pluies orageuses et le Sirocco (Le Houérou, 2001 ; in Tiar, 2014).

## **2.2 Méthodologie de l'inventaire**

Les Amphibiens colonisent des milieux très diversifiés. Ils peuvent être discrets ou bruyants, diurnes ou nocturnes. Leurs comportements font qu'il n'existe pas une méthode spécifique d'inventaire pour l'ensemble des espèces suspectées dans une région. Afin de réussir un inventaire et optimiser nos résultats, il est nécessaire de combiner les différentes techniques permettant de détecter les Amphibiens (Miaud, 2005).

La détection des espèces peut se révéler compliquée dans les milieux où elles sont peu visibles, notamment dans les écosystèmes aquatiques. Trois principales méthodes de détection sont à différencier : la détection à vue, la détection par le chant et la détection par le piégeage. Ces trois méthodes sont actuellement largement utilisées mais elles présentent quelques

inconvenients. Les Amphibiens sont en effet plus actifs durant la période de reproduction et donc plus facilement observables durant les nuits chaudes et humides (Jean, 2013).

Les Amphibiens migrent de leur lieu d'hivernage à leur lieu de reproduction ou de mise bas et parcourent des distances parfois importantes (Parrain, 2010).

Afin de procéder à l'inventaire, différents types de milieux ont été prospectés. Nous avons adopté plusieurs méthodes de détection et de capture adaptées à chaque espèce et à chaque milieu.

Les prospections ont été réalisées avec une intensité plus importante lors des périodes de reproduction (hiver pour les espèces précoces et printemps pour les autres espèces). Basé sur un gradient altitudinal et latitudinal, nous avons prospecté différents types d'écosystèmes : mare temporaire, mare au bord des routes, des lacs, des dépressions qui se remplissent qu'en hiver, des sources d'eau courante. Notons que toutes les prospections et captures étaient diurnes. Les Amphibiens sont détectés à vue, au chant ou par capture.

## **2.2.1 Capture et détection**

### ***2.2.1.1 Pêche à l'épuisette dans les sites aquatiques***

Les larves et têtards sont capturés à l'aide d'une épuisette à maille fine permettant à la fois un déplacement suffisamment rapide dans l'eau et un vide de maille assez fin pour retenir les petits individus. Cette technique consiste à réaliser des mouvements d'épuisette par aller et retour, et en raclant le fond de l'eau (Fig. 12) car les têtards et larves s'y dissimulent pour se nourrir et se camoufler, et à proximité des différents habitats (dans la végétation aquatique, le long des berges...). Le contenu de l'épuisette est retourné dans un récipient à fond clair afin de pouvoir les identifier. La détermination se fait sur place pour certaines espèces et pour les plus difficiles, elle sera réalisée sous binoculaire au laboratoire. Tous les individus seront relâchés quand la pêche sera terminée.

Pour les adultes, la capture à l'eau n'est pas toujours évidente surtout pour les anoues. La pêche à l'épuisette permet de capturer les pleurodèles, grenouilles vertes et les discoglosses, dans les milieux accessibles et relativement peu profonds (fossés, mares, étangs, bordures de rivières et lacs).

L'effort de pêche est noté (tel que le nombre de coup d'épuisette) ce qui pourrait donner une estimation des abondances des peuplements.



*Figure 12: Prospection du site et capture à l'épuisette, Oued Boukrat (Bouzid, 2015)*

#### **2.2.1.2 Capture à la nasse**

La nasse est un piège connu pour son utilisation principalement dans la pêche des poissons, mais aussi pour certains insectes, des tortues et des amphibiens. Ce piège est en forme d'entonnoir avec une seule ouverture. Nous avons fabriqué nos propres nasses à partir de bidons d'eau qu'on coupe au début de la forme conique (au-dessus vers le bouchon) qu'on replace dans le sens contraire afin de former une entrée en entonnoir (Fig. 13). Nous avons peu utilisé cette méthode, car elle ne fonctionne pas pour tous les sites et nécessite de revenir le lendemain afin de les vider pour éviter de tuer les individus capturés.



*Figure 13: Disposition de la nasse dans l'eau et capture d'un discoglosse (Bouzid, 2015).*

### **2.2.1.3 Capture à la main**

Les Amphibiens utilisent régulièrement des abris (bois, pierres, feuilles mortes etc.) pour se reposer, que l'on pourra inspecter avec profit. Les individus (Tritons, crapelets et grenouillettes) nouvellement métamorphosés, ainsi que des juvéniles, se cachent souvent sous ces abris proches de leur milieu aquatique. Les Salamandres sont observables en période d'accouplement (automne, printemps et même en hiver doux). On pourra les capturer au sol directement à la main. Cette méthode n'est pas évidente du fait de l'agilité de certaines espèces, mais elle demeure une méthode efficace notamment pour les espèces de la famille des bufonidés et des salamandridés.

La migration de reproduction des sites terrestres aux sites aquatiques est également un moment privilégié pour détecter les Amphibiens. On parcourt un trajet proche des sites aquatiques. Une standardisation de la méthode (par l'utilisation d'itinéraires standards : transect) permet de mesurer des tendances d'évolution des peuplements d'une année à une autre.

## **2.2.2 La détection auditive et visuelle**

### **2.2.2.1 Détection des anoures chanteurs**

Le chant des grenouilles, rainettes et crapauds est spécifique et permet d'identifier les différentes espèces. On choisit des points d'écoute permettant de couvrir des zones potentielles de présence d'espèces. Les chants peuvent être diurnes et nocturnes. Une quantification des peuplements est là encore possible (utilisation de points d'écoute clairement localisés et durée d'écoute standard), en terme comparatif d'une année à une autre. On veillera cependant à contrôler les conditions climatiques des journées ou nuits d'écoute car l'activité de chants des Amphibiens est fortement influencée par la température et le vent (Miaud, 2005).

### **2.2.2.2 Détection visuelle des Amphibiens**

La détection visuelle peut être considérée comme l'observation directe des adultes, des jeunes métamorphosés, des têtards ou encore des œufs et pontes.

La recherche des œufs et des pontes dans les milieux aquatiques est une méthode souvent fructueuse pour révéler la présence de différentes espèces.

## **2.3 Caractérisation des peuplements d'Amphibiens**

Afin d'étudier et de caractériser la structure et la composition des communautés d'Amphibiens, les analyses les plus fréquemment utilisées restent les méthodes univariées. Du fait de leur simplicité et de leur calcul simple, ces méthodes permettent de caractériser les tendances générales des communautés, d'en étudier les variations et d'en déduire les causes sous-jacentes.

L'exploitation des résultats obtenus de l'inventaire permet de caractériser les peuplements d'Amphibiens par l'analyse des indices suivants :

- les descripteurs statistiques, abondamment utilisés et permettant de décrire de manière quantitative les peuplements : Richesse Spécifique (S), Abondance (A), Dominance.

- les indices de diversité, basés sur des formules plus complexes et illustrant la complexité des peuplements (Indice de Shannon Wiener (H'), indice d'équitabilité de Piélu (J'), Indice de Simpson.

- **Richesse spécifique :**

La richesse spécifique  $S$  donne une information sur le nombre d'espèces inventoriées sur un site. La richesse spécifique totale est le nombre d'espèces présentes dans l'espace considéré (Blondel, 1979) ; la richesse spécifique moyenne est le nombre moyen d'espèces présentes dans les différents échantillons prélevés. Elle est liée à la qualité du territoire mais aussi à sa superficie et sa situation géographique

$S =$  nombre d'espèces de la zone d'étude

- **Abondance :**

En écologie, l'abondance d'une espèce est le nombre total d'individus de cette espèce ou le nombre d'individus par unité d'espace.

$A =$  nombre d'individus d'une espèce

- **L'abondance relative :**

L'abondance relative d'une espèce compare le nombre d'individus de l'espèce et le nombre total d'individus.

- **Les indices de diversité et l'équitabilité :**

Divers indices permettent d'évaluer la diversité d'un habitat à partir de ces données simples. Deux principaux indices ont été développés : *l'indice de Simpson et l'indice de Shannon Wiener*. Peet (1974) les a classés en deux catégories :

- l'indice de Shannon dans les indices de type I, sensibles aux variations d'importance des espèces les plus rares.

- l'indice de Simpson dans les indices de type II, sensibles aux variations d'importance des espèces les plus abondantes.

Ces deux indices issus d'un calcul de probabilité prennent en compte le nombre d'espèces (richesse spécifique) et l'abondance relative des espèces. Ils s'accompagnent souvent d'un indice d'équitabilité qui varie entre 0 et 1. Plus l'équitabilité est proche de 1, plus les espèces sont équi-réparties, c'est-à-dire qu'elles présentent un nombre d'individus équivalent et qu'aucune d'elles n'est dominante par rapport à l'autre. En effet, il se peut qu'un grand nombre d'espèces soit inventorié (i.e. une grande richesse spécifique) mais qu'une espèce domine les autres en nombre d'individus.

Un habitat diversifié devrait tendre vers une grande richesse spécifique et une bonne équirépartition.

**L'indice de Shannon et Weaver (1949) H'** est calculé comme suit :

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

Où :  $p_i$  = abondance proportionnelle ou pourcentage d'importance de l'espèce :  $p_i = n_i/N$  ;  $S$  = nombre total d'espèces ;  $n_i$  = nombre d'individus d'une espèce dans l'échantillon ;  $N$  = nombre total d'individus de toutes les espèces dans l'échantillon.

Cet indice mesure le degré de complexité d'un peuplement. Une valeur élevée de cet indice correspond à un peuplement riche en espèces dont la distribution d'abondance est équilibrée.

A l'inverse, une valeur faible de cet indice correspond soit à un peuplement caractérisé par un petit nombre d'espèce pour un grand nombre d'individus, soit à un peuplement dans lequel il y a une espèce dominante. Cet indice est généralement suivi par l'équitabilité de Pielou.

**L'indice de Simpson D :**

Cet indice a été proposé par Simpson en 1965. Il mesure la probabilité que deux individus sélectionnés au hasard appartiennent à la même espèce.

Pour un échantillon infini, l'indice est donné par :

$$D = \sum_{i=1}^S p_i^2$$

Pour un échantillon fini :

$$D = \sum \frac{n_i(n_i - 1)}{n(n - 1)}$$

Où :  $p_i$  = proportion des individus dans l'espèce  $i$  ;  $n_i$  = nombre d'individus dans l'espèce  $i$  ;  $n$  = nombre total d'individus.

L'indice est inversement proportionnel à la diversité. De ce fait, une autre formulation a été proposée afin d'établir un indice directement représentatif de l'hétérogénéité en retranchant l'indice de Simpson à sa valeur maximale : 1 (Pielou, 1969 ; Pearson et Rosenberg, 1978).

**L'équitabilité de Pielou J :**

La diversité maximale d'un peuplement  $H'_{Max}$  se calcul comme suit :

$$H'_{\text{Max}} = \text{Log } S$$

S : nombre totale d'espèce

$$J' = H' / H'_{\text{max}}$$

L'indice d'équitabilité permet de mesurer la répartition des individus au sein des espèces, indépendamment de la richesse spécifique.

Quand sa valeur est proche de 1, la diversité observée est proche de la diversité maximale. Elle traduit alors une distribution d'abondance proche de l'équilibre.

A l'inverse, quand elle est proche de la valeur 0, la diversité observée est faible et illustre une distribution d'abondance fortement hiérarchisée qui est le reflet d'un environnement simple, contraignant, dans lequel peu de facteurs structurent le peuplement (Benyacoub, 1993).

### **L'indice de Berger-Parker**

Cet indice permet de calculer la proportion de la communauté représentée par l'espèce la plus abondante.

$$D = \frac{N_{\text{max}}}{N_t}$$

$N_{\text{max}}$  est le nombre d'individus de l'espèce la plus représentée.

$N_t$  nombre totale des individus des espèces.

## **2.4 Traitement des données**

Le traitement des données a été effectué séparément pour les adultes et les têtards et larves. L'effectif des adultes regroupe celui des individus capturés ainsi que ceux qui sont dénombrés par comptage dans un point d'eau. Les larves et têtards ont été capturés à l'aide de coups d'épuisette (au moins 10 coups et en fonction de la taille du point d'eau).

Pour les analyses statistiques des résultats, nous avons utilisé des logiciels simples et de base tel que : l'Excel pour les graphes et les tableaux et le Past 3 pour les indices écologiques avec les graphes associés.

### **III. Résultats**

Les résultats de l'inventaire nous ont permis de dresser la liste des Amphibiens présents dans notre région d'étude au Nord-est du pays et en particulier celle de l'Edough. L'étude de Schleich et al. (1996), considérée comme la plus complète et détaillée après ceux des herpétologistes pionniers : Boulenger, (1897) et Doumergue, (1901), reporte la présence de 12 espèces en Algérie. Dans notre travail nous avons pu répertorier 9 espèces, soit environ 75% de la biodiversité amphibienne du pays. Matéo et al. (2013) reporte un total de 14 espèces en Algérie. Les 9 espèces appartiennent à deux ordres, représenté par 5 familles et 6 genres.

La famille des Salamandridés regroupe 2 genres et 3 espèces et représente l'ordre des Urodèles.

Quant à l'ordre des Anoures, il est représenté par 4 familles, 5 genres et 6 espèces : la famille des Bufonidés, la famille des Alytidés, la famille des Hylidés et la famille des Ranidés.

Afin de bien exploiter nos résultats et d'apporter le plus d'informations possibles, nous décrirons toutes les espèces, puis caractériserons les peuplements par des indices écologiques.

#### **3.1 Biodiversité des Amphibiens et description des espèces**

Pour chaque site prospecté, la présence d'une espèce est notée suite à l'observation directe (par capture à l'épuisette ou observation visuelle) : d'adultes, de jeunes métamorphosés, de têtards/ de larves/ de ponte ou à l'identification par le chant des espèces sonores.

Le tableau 03 résume les espèces inventoriées dans la région d'étude, le nom scientifique, nom commun et leur statut de conservation IUCN.

**Tableau 03:** La liste des espèces d'Amphibiens inventoriés dans notre région d'étude : le Nord-Est Algérien.

<b>Ordre</b>	<b>Famille</b>	<b>Nom scientifique</b>	<b>Nom commun</b>	<b>Statut UICN</b>
Urodèles	Salamandridés	<i>Salamandra algira algira</i> , (Bedriaga, 1883)	Salamandre d'Algérie	VU
		<i>Pleurodeles poireti</i> , (Gervais, 1835)	Pleurodèles de poiret	EN
		<i>Pleurodeles nebulosus</i> , (Guichenot, 1850).	Pleurodèles d'Algérie	VU
Anoures	Bufonidés	<i>Bufo spinosus</i> , (Daudin, 1803)	Crapaud commun	LC
		<i>Amietophrynus mauritanicus</i> , (Schlegel, 1841)	Crapaud de barbarie	LC
		<i>Bufotes boulengeri</i> , (Lataste, 1879).	Crapaud vert	LC
	Alytidés	<i>Discoglossus pictus</i> , (Latast, 1878)	Discoglosse peint	LC
	Ranidés	<i>Pelophylax saharicus</i> , (Boulenger, 1913)	Grenouille verte	LC
	Hylidés	<i>Hyla meridionalis</i> , (Boettger, 1874)	Reinette	LC

Afin de mieux décrire les espèces de notre région d'étude, nous proposons une description de chaque espèce, avec la plus récente bibliographie complétée par des observations personnelles.

### 3.1.1 Les espèces de l'ordre des Anoures

Les espèces représentatives de cet ordre sont présentées par famille.

#### 3.1.1.1 Famille des Ranidés

La grenouille verte *Pelophylax saharicus* (Boulenger, 1913)

*Pelophylax* (Fitzinger, 1843) est le genre qui représente les grenouilles, il se distingue du genre *Rana* (Linnaeus, 1858) (Frost et al, 2006) avec qui il a été longtemps confondu. Aujourd'hui, on compte près de 21 espèces réparti en Eurasie jusqu'en Afrique du Nord (Frost, 2015). Il est représenté en cette dernière par l'espèce *saharicus*.

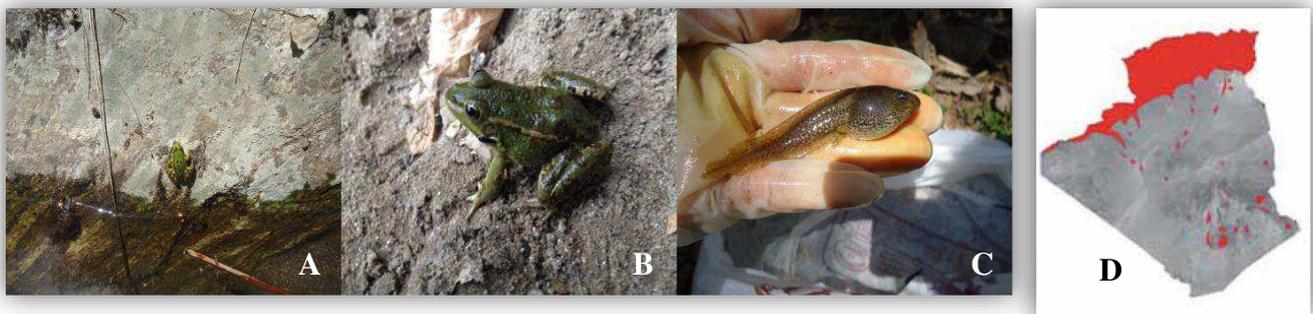
Sa répartition s'étend du nord du Sahara occidentale, au Maghreb jusqu'au Nord de la Lybie et le Nord-ouest de l'Egypte. Uzzell, 1982 démontre par des analyses immunologiques que la grenouille verte du Maghreb était l'espèce voisine de *P. perezi* (distribuer en péninsule Ibérique et au sud-ouest de la France) et non celle de *P. ridibunda*. Suite à des travaux génétiques récents, *P. saharicus* (Fig. 14) est reconnue dans le monde taxonomique comme une espèce distincte confiner à l'Afrique du Nord (Beukema et al, 2013 ; Frost, 2014).

Des travaux génétiques classent cette espèce au Maghreb en deux clades : un se produisant au Maroc reconnu comme la sous-espèce « *Pelophylax saharicus riodeoroi* » (Salvador et Peris, 1975) et le second en Algérie et la Tunisie reconnu comme la sous-espèce « *Pelophylax saharicus saharicus* ». (Matéo et al, 2013). Selon les résultats des travaux de Nicolas et al. (2015), les spécimens du centre Algérien (Alger et Ain Defla) se différencient des deux clades et sont classés dans un troisième clade. Ces résultats ont été confirmés par le récent travail de Beddek et al. (2018).

En Algérie, *P. saharicus* colonise les étages climatiques humide jusqu'à l'aride. Elle est active aussi bien de jour que de nuit. La période de reproduction se situe en avril-mai (Le Berre, 1989 ; Bouali et Oneimi, 2006), nous avons pu observer et écouter des chants d'accouplement dans les milieux urbains de la ville de Annaba, El Tarf et El Kala durant le début du mois de mars et fin avril/mai dans les milieux d'altitude. Nous avons rencontré des têtards de taille importante, près de 5 cm, dans un cours d'eau d'une forêt de chêne zeen à Séraïdi (Fig. 14 C).

Au cours de notre étude, nous avons remarqué que cette espèce était présente dans des milieux au niveau de pollution assez important, et est plus tolérante à des conditions de dégradations des milieux. Les chants des mâles débutent au printemps, grâce à leurs doubles sacs. Des bras plus épais et des coussinets nuptiaux apparaissent durant la période de reproduction. Les membres postérieurs sont longs et palmés. (Doumergue, 1901, Schleich et al, 1996 ; BahaEl Din, 2006). Le phénotype chez la grenouille verte est variable, et cette plasticité reflète une réponse aux facteurs environnementaux (Lansri et al, 2015).

Cette espèce est abondante dans notre région d'étude : en effet sur les 31 sites nous avons pu l'observer dans 26 d'entre eux. Nos résultats sont confortés par ceux de Doumergue, (1901) ; Bons (1957) ; Salvator (1996) et Schleich (1996) qui stipulent que cette espèce est la plus commune ainsi que la plus abondante au Maghreb (Donaire-Barroso et al, 2009 ; Beukema et al, 2013). Sa période d'activité s'étend de Mars à Août et parfois Septembre. Elle cohabite le plus souvent avec les espèces : Discoglosse, la reinette et le Pleurodèle.



**Figure 14:** (A,B)Adultes *Pelophylax saharicus*; (C)Têtard de taille importante (Edough) (Bouzid, 2014). (D)Distribution géographique en Algérie (Matéo et al, 2013).

### 3.1.1.2 Famille des Alytidés

Le discoglosse peint *Discoglossus pictus* (Latast, 1878)

Le discoglosse (*Discoglossus* Otth, 1837) est un genre représentatif de la famille de Alytidae (Fitzinger, 1843) à la distribution exclusive du ouest Palearctic (Vences et al, 2014). Il regroupe 6 espèces distribuées dans la région ouest de la méditerranée, dont deux sont présentes en Afrique du Nord. L'espèce *Discoglossus pictus* est endémique de la région de Sicile, de Malte, de Tunisie, d'Algérie et de l'est du Maroc, il est présent dans le sud de la France et l'est de

l'Espagne (région de Catalogne) en tant qu'espèce introduite (Beukema et al, 2013 ; Matéo et al, 2013).

Au Maghreb, l'étude de populations marocaines *Discoglossus scovazzi*, les a séparés initialement d'autres populations de *D. pictus*. Les résultats moléculaires de Fromhage et al. (2004) et Zangari et al. (2006) révèle une distinction génétique entre les deux Discoglosse et élève *D. scovazzi* au rang d'espèce. Le bassin de la Moulouya constitue la barrière entre les deux espèces *D. pictus* (Est) et *D. scovazzi* (Ouest) (Vences et al, 2014). En Algérie, le discoglosse peint est représentatif de l'espèce *D. pictus* (Fig. 15), sous espèce *D. pictus auritus* (Héron-Royer, 1888).

Cette espèce est relativement terrestre et se trouve largement répandue et de façon continue dans les étages humides et subhumides de l'Est à l'Ouest du pays (Matéo et al, 2013), cependant, sa limite dans les étages arides reste encore méconnue. Considérée comme l'espèce la plus commune dans notre étude, elle est détectée dans les 31 sites durant une longue période annuelle, il affiche une plasticité dans ses exigences écologiques. Se reproduisant dans différents types de milieux et à différentes altitudes (entre 0-1000 m) Seurat, (1930) l'a signalé jusqu'à 1700 m. Les larves peuvent être observés durant toute l'année (Ben Hassine et Escoriza, 2017).

Dans cet inventaire, le discoglosse peint « *Discoglossus pictus* » est incontestablement considéré comme étant l'espèce la plus fréquente et la plus abondante dans la région d'étude. Elle serait probablement la mieux adaptée aux pressions sur leurs écosystèmes. Une large période d'activité, le discoglosse peut se rencontrer durant tout les mois de l'année. Cette espèce est en coexistence avec les espèces : *Salamandra algira*, *Hyla meridionalis*, *Bufo spinosus*, *Pelophylax saharicus* et *Amietophynus mauritanicus*.



**Figure 15:** (A) Ponte ; (B) Femelle gravide ; (C) Juvénile de *Discoglossus pictus* (Bouzid, 2014). (D) Distribution de *D.p* d'après Matéo et al. (2013).

### 3.1.1.3 Famille des Hylidés

La reinette méridionale *Hyla meridionalis*, (Boettger, 1874)

La reinette méridionale ou la reinette verte est une espèce caractérisée par des ventouses au bout des doigts lui permettant de grimper dans la végétation. Sa distribution est méditerranéenne : Italie, sud-est de la France, le Nord-est de l'Espagne, la péninsule ibérique et le Maghreb (Engelmann et al. 1986). Recuero et al. (2007) à partir d'analyses d'ADNmt, suggèrent que la rainette méridionale serait d'ascendance africaine, avec des populations européennes provenant d'une arrivée relativement récente (soit par le biais de la colonisation naturelle ou l'introduction anthropique). Néanmoins, le statut intraspécifique de l'espèce au sein de son aire de répartition reste à clarifier par de futures recherches (Stöck et al. 2008, 2012). (Fahd et al, 2015)

Elle est sensible à l'état de son environnement et notamment à la qualité de l'eau. Confiner aux étages humides (le Nord-est et le centre de l'Algérie constituent des zones d'habitats propices à l'espèce), on peut l'observer jusqu'à 1400m (Ben Hassine et Escoriza, 2017). Matéo et al. (2013) associe cet Anoure à des masses d'eau à la végétation dense dans les régions humides sur toute la côte Algérienne. Dans notre étude, l'espèce a été contracté dans des milieux diversifiés (étangs, mares, ruisseaux, temporaires ou permanents) souvent avec une préférence pour des sites aux formations arbustives (El Hamoumi et al. 2007). *H. meridionalis* (Fig. 16) est considérée comme commune dans la région.

Les têtards de la reinette peuvent être observés dès la fin du mois de février pour les sites à basse altitude, dans les hauteurs, la reproduction est plus tardive et on peut les rencontrer vers le mois de mai. D'après la description faite par Doumergue, (1901), en Oranie, l'accouplement chez *H. meridionalis* a lieu la fin de mars et la métamorphose des têtards en juvénile dure dans les 3 mois (Ben Hassine et Escoriza, 2017).

Dans le Maghreb, *H. meridionalis* présente une diversité, d'après la toute dernière étude de Beddek et al. (2018), les populations de l'Est Algérien et de la Tunisie présenteraient des différences génétiques par rapport aux reste des populations algériennes et marocaines. De ce fait la zone de Kabylie représenterait une barrière géographique entre les populations.



**Figure 16:** (A,B,C) *Hyla meridionalis* avec différent phénotype (Bouzid, 2015).  
(D) Distribution de l'espèce en Algérie (Matéo et al, 2013)

#### 3.1.1.4 Famille des Bufonidés

##### a. Le crapaud berbère *Amietophrynus mauritanicus*, (Schlegel, 1841)

Le crapaud berbère ou le crapaud de mauritanie est endémique de la région maghrébine. Assez commun dans les zones humides, subhumides et semi-arides, on le retrouve le long de la côte Algérienne, dans l'Atlas tellien, les Hauts plateaux et l'Atlas saharien (Schleich et al, 1996 ; Salvador, 1996). *Amietophrynus mauritanicus* (Fig. 17) vit à proximité d'étendues d'eau temporaires ou permanentes généralement plus profondes que celles utilisées par d'autres bufonidés algériens. (Matéo et al, 2013)

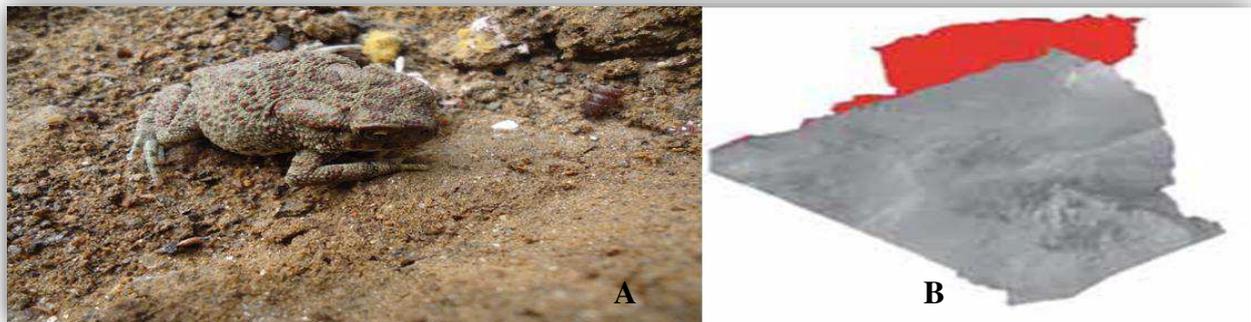
Dans les sites utilisés par ce crapaud, nous avons remarqué que le sol était le plus souvent sablonneux (le cordon dunaire d'El Kala, et à Jnane el Bay Séraïdi), des individus s'enfouissent dans le sable probablement recherchant plus de chaleur. En effet, Warner, (1931) a déjà suggéré qu'*A. mauritanicus* était apparenté aux Bufonidés subsahariens. Ainsi que Harris et Perera, (2009) ont démontré que l'ancien genre « *Bufo* » mauritanicus fait en effet partie d'un clade de crapauds sub-sahariens récemment attribué au genre *Amietophrynus* (Frost et al, 2006). Des analyses mitochondriales et nucléaires récentes (Pyron et Wiens, 2011) ont permis de retrouver une position fondamentale pour *A. mauritanicus* par rapport aux autres membres du genre *Amietophrynus*. (Beukema et al, 2013).

La couleur des individus étant uniforme, le dimorphisme sexuel chez le crapaud de mauritanie se distingue par le chant des mâles en période de reproduction, et les femelles ont

une corpulence nettement plus large que les mâles. Doumergue, (1901) classe l'espèce comme dépendante des saisons de pluie car elle utilise fortement les mares temporaires.

Dans notre inventaire, nous avons rencontré des individus en pleine saison d'automne, les larves peuvent être observées en basse altitudes dès la fin du mois de Mars (observation personnelle).

Sa reproduction dans la partie Nord a lieu entre avril et juin, tandis que les populations sahariennes se reproduisent entre février et avril (Doumergue, 1901).



**Figure 17:** (A)Adulte *Amietophrynus mauritanicus* (Bouzid, 2016). (B)Distribution géographique de l'espèce (Matéo et al. 2013).

#### b. Le crapaud vert *Bufotes boulengeri* (Lataste, 1879)

Le crapaud vert est répandu dans la région paléarctique sous diverses lignées. Stock et al., (2008) démontrent par leur étude la spécificité et l'isolement de la lignée sicilienne et nord-africaine. Vient ensuite l'étude de Speybroeck et al. (2016) « Field guide to the Amphibians and Reptiles » qui reconnaît cette lignée en tant qu'espèce valide « *Bufotes boulengeri* » (Lataste, 1879). Ces auteurs ont proposé de différer d'autres scissions au niveau de l'espèce jusqu'à ce que la situation dans les autres zones de contact soit documentée. Selon eux, *B. boulengeri* est subdivisé en deux sous-espèces : *B. b. boulengeri* et *B. b. siculus* (Stöck et al., 2008) (Nicolas et al, 2018).

Le crapaud vert africain est aujourd'hui attribué à l'espèce, *Bufotes boulengeri* (Stöck et al. 2008 ; Beukema et al. 2013 ; Fahd et al, 2015) sa distribution est continue en Afrique du Nord, s'étendant du Maroc jusqu'en Egypte sous forme de populations fragmentées (Martínez-Solano, Sindaco, et Romano, 2015). Ce crapaud est considéré comme commun au Maghreb

(Schleich et al, 1996) notamment dans les régions semi-arides à arides (Beukema et al, 2013). En Algérie, il est peu fréquent dans les zones humides (Matéo et al, 2013), et il est même considéré comme rare en Numidie (Samraoui et al, 2012). Au sud, c'est l'espèce la plus répandue (Schleich et al, 1996) le point le plus extrême où il a été observé se situe dans le Hoggar (Joger, 1981). Cette espèce de crapaud utilise les oasis, des réservoirs et d'autres cours d'eau temporaires pour se reproduire (Matéo et al, 2013). Préférant les paysages ouverts, *Bufo boulengeri* tolère très bien la sécheresse et la salinité. On peut observer cette espèce généralement en saison de reproduction qui a lieu à partir du mois de février jusqu'à mai.

Dans notre étude, ce crapaud est considéré comme l'espèce la moins rencontrée et donc la plus rare durant toute l'étude. En effet, nous avons pu observer seulement des têtards (Fig. 18) au mois d'avril dans le site de Jnane el Bey (Oued Bakrat). Cet amphibien peut être attribué aux zones semi-arides et arides où les températures sont plus ou moins élevées.



**Figure 18:** (A,B) Têtards de *Bufo boulengeri* identifiés au laboratoire (Bouzid, 2013). (C) Distribution géographique de l'espèce selon Matéo et al. (2013).

### c. Le crapaud commun *Bufo spinosus* (Daudin, 1803)

Le crapaud commun *Bufo bufo* à l'affinité paléarctique a été représenté en Afrique du nord par la sous-espèce *Bufo bufo spinosus* (Pasteur et Bons, 1959 ; Bones, 1972 ; Schleich et al, 1996). Une réévaluation du complexe de *B. bufo* a fait l'objet d'études phylogéographiques (Recuero et al, 2012 ; Arntzen et al, 2013). Suite à ces études et des analyses moléculaires et morphologiques, le *Bufo bufo spinosus* (Lannaenus, 1758) est élevé au niveau d'espèce « le crapaud épineux » *Bufo spinosus* (Daudin, 1803) (Fig. 19) (Garcia-Porta et al, 2012 ; Recuero et al, 2012). Sa distribution s'étend au Maghreb du Maroc jusqu'en Tunisie, en Péninsule

Ibérique et la partie sud de la France. Les limites de distributions dans cette dernière ne sont pas vraiment connues, mais il semblerait que le département du Rhône soit une zone hybride entre les deux espèces.

Cette espèce est inféodée aux régions montagneuses humides à des altitudes élevées, en Algérie, elle a été signalée à Annaba (Seurat, 1930), en Kabylie (Targa, 2013) et à El Ghora (Samraoui et al, 2012), néanmoins, cette dernière reste à confirmer.

Dans notre étude, nous avons rencontré le crapaud à partir de 450m d'altitude, dans des forêts de chêne : *Quercus canariensis* et de *Quercus suber* dans la région de Séraïdi. Etant une espèce nocturne et discrète, le bufo est observé en cherchant sous les pierres, les feuilles mortes et autres débris. Dans les journées de grisaille et de pluie, il peut être rencontré à même le sol, il partage le même habitat que la salamandre et le crapaud de mauritanie. L'espèce est considérée comme rare dans notre étude, nous avons pu observer un amplexus de *Bufo spinosus* à la fin du mois d'avril en pleine ponte. Cette espèce utilise les eaux courantes et très fraîches pour se reproduire.

Le crapaud est actif vers la fin du printemps à partir du mois d'Avril dans les élévations 450m (observation personnelle), mais il peut être rencontré en Mars sous des pierres, en période de repos ; l'espèce peut pratiquer l'estivation en été et l'hibernation en hiver.

En Algérie, cette espèce reste très mal connue, du point de vue écologique et géographique ; sa rareté pourrait être attribuée à son caractère discret, à son activité nocturne et à la faible densité de ses populations ou au manque d'informations.



**Figure 19:** (A) Amplexus et (B) ponte de *Bufo spinosus* (Bouzid, 2014). (C) Modèle de niche écologique de l'espèce en Algérie (Ben Hassine et Escoriza, 2017).

### 3.1.2 Les espèces de l'ordre des Urodèles

L'ordre des Urodèles est représenté par une seule famille « les Salamandridés » regroupant les trois espèces existantes en Algérie, dont une endémique à notre région d'étude.

#### 3.1.2.1 Famille des salamandridés

##### a. Le pleurodèle de Poiret *Pleurodeles poireti* (Gervais, 1835)

Le pleurodèle de Poiret tient son nom à la première personne à l'avoir mentionné en Algérie, l'abbé Poiret (1789) dans son livre « Voyage en Barbarie ». Depuis, plusieurs auteurs ont participé à la modification de sa taxonomie et à sa description à travers des individus récoltés de différentes populations algériennes et tunisiennes (Gervais, 1835, 1853 ; Guichenot, 1850 ; Gray, 1850 ; Lataste, 1881 ; Boulenger, 1882 ; Camerano, 1885 ; Doumergue, 1901 ; Wolterstorff, 1905 ; Carranza et Wade, 2004). Pasteur, (1958) a souligné que le *Pleurodeles poireti* regroupe toutes les populations algéro-tunisiennes, jusqu'à l'étude morphologique et moléculaire de Carranza et Wade, (2004) qui sépare deux taxons bien distincts : le pleurodèle de Poiret (Fig. 20), endémique à une zone géographique restreinte « l'Edough » dans la ville d'Annaba, et le pleurodèle *nebulosus*, qui représente toutes les autres populations algéro-tunisiennes.

Samraoui et al, (2012) rapportent un état de déclin alarmant des populations du pleurodèle de l'Edough, alors que Ben Hassine et al, (2016a) confirme la présence de l'espèce dont la distribution est plus abondante et attribue l'état d'alerte à un manque d'échantillonnage.

Pour notre étude, nous rapportons que ce pleurodèle n'est pas très fréquent, mais il est rencontré plus souvent à l'état larvaire (notamment dans des sites anthropisés). Les larves ont été échantillonnées au niveau des mares temporaires formées aux bords des routes en pleine zone anthropisée ou en périphérie de la ville. À l'Edough, on l'a observé au niveau de chétaïbi, Triaat, El marsa. Les adultes sont plus difficiles à détecter, nous les avons rencontrés dans la région du Lac des oiseaux (région d'El Tarf). Dans la présente étude, nous n'avons pu confirmer la présence de l'espèce au niveau des forêts de l'Edough (aucun individu n'a été détecté en hautes altitudes).

L'espèce est active dès le mois de décembre, et même avant, car nous avons pu observer des individus en amplexus. Les premières larves peuvent être rencontrés dès le mois de février et jusqu'à mai.



**Figure 20:** *Pleurodeles poireti*: (A) Amplexus, (B) juvéniles et (C) larves. (D) Limites de distribution de l'espèce (Edough), IUCN (2010).

b. Le pleurodèle algéro-tunisien *Pleurodeles nebulosus* (Guichenot, 1850).

Le triton d'Algérie est distribué dans les étages humides, sub-humides et semi-aride d'Algérie et de la Tunisie (Matéo et al, 2013). Néanmoins, cette espèce reste absente dans le Nord-ouest du pays. Sa limite est rapportée aux alentours d'Alger et de Blida (Ben Hassine et Escoriza, 2017) et à la wilaya d'El Media par Merabet et al, (2016 c.)

On le différencie du pleurodèle de Poiret, par des traits morphologiques. D'une taille plus grande, une tête plus large et des dents palatines en forme de V (Carranza et Wade, 2004). Le *P. nebulosus* (Fig. 21) se rencontre dès le mois de décembre et les larves sont observées à partir de mars. Le triton se reproduit dans des mares temporaires, ouvertes avec ou sans végétation. Son caractère opportuniste lui offre la possibilité de se reproduire dans divers types de milieux (Ben Hassine et al, 2016a)

Nous avons rencontré cette espèce plutôt dans la région extrême Est, El Kala, elle est absente de la région de l'Edough et de Annaba.



**Figure 21:** Adulte femelle de *Pleurodeles nebulosus* (Bouzid, 2014). Distribution selon Matéo et al. (2013).

c. La salamandre tachetée d’Afrique du nord *Salamandra algira algira*, (Bedriaga, 1883)

La Salamandre nord-africaine (*Salamandra algira*) est considérée comme une espèce relique confinée aux zones méditerranéennes humides et montagneuses du Maroc et de l’Algérie (Schleich et al. 1996, Donaire-Barroso et Bogaerts, 2003 ; Mateo et al, 2013). Elle a été observé pour la première fois en Algérie à Annaba dans le mont Edough, elle a été rapportée dans la région de la Kabylie, Blida (Joger et Steinfartz, 1995 ; Escoriza et al, 2006) et dans l’Ouest dans l’Oranie par Doumergue, (1901).

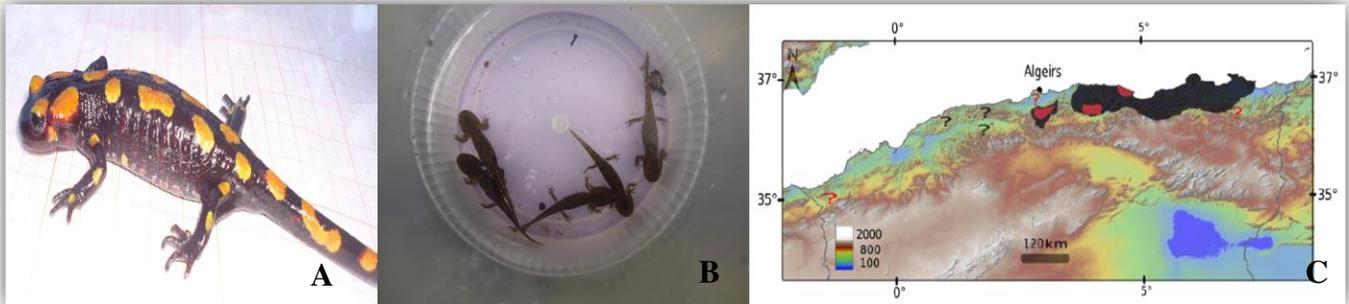
Selon les récentes études génétiques, les populations de Salamandre algérienne appartiennent à la sous-espèce *Salamandra algira algira* (Bedriaga, 1883) (Fig. 22), et sont considérées comme une lignée phylogénétique distincte. Les populations marocaines, comptent trois sous-espèces.

Cet Amphibien est de couleur noire avec des taches jaunes et rouges (fig. 22), notre population présente des particularités dans la coloration (voir chapitre 3) avec la présence de petits points blancs et parfois associer à des tâches rouges.

En Algérie sa répartition est considérée comme discontinue (Escorisa et al, 2006), mais la découverte de deux points de distribution à Skikda et à Jijel, laisse supposer que sa répartition soit continue depuis la partie Nord de Annaba jusqu’en Kabylie.

Dans notre étude, les adultes salamandres sont localisés à différentes hauteurs de l’Edough, à partir de 450 m d’altitude (entre 450-1000 m). Les larves ont pu être rencontrées à plus basse

altitude, on peut l'attribuer au fait de leur reproduction dans des sources d'eau courante qui les déplace. Cette espèce est fortement liée à l'humidité et aux précipitations, elle favorise les milieux en forêts de chêne zeen et parfois de chêne liège non loin des sources d'eaux. Les adultes, dont l'activité est nocturne, sont rencontrés durant les journées dans les abris : sous des pierres, feuilles mortes qui les utilisent pour se reposer. La période propice d'observation de cette espèce s'étend du mois de septembre à mars, quant aux larves, elles peuvent être rencontrées depuis la fin du mois de février jusqu'en été.



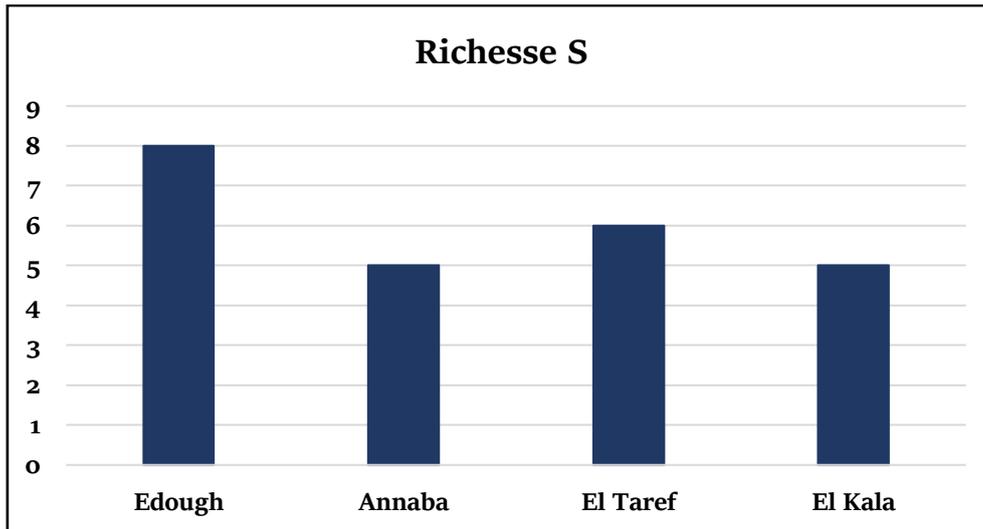
**Figure 22:** (A) Adulte Femelle de Salamandre algira algira ; (B) Larves de S.a.a. (Bouzid, 2015). (C) Distribution de S.a.a en Algérie (Merabet, 2016a).

### 3.2 Les indices structuraux du peuplement

#### 3.2.1 La richesse spécifique

L'histogramme suivant (Fig.23) représente le nombre d'espèce recensées au niveau des 31 points d'eau, et ce durant les deux années d'échantillonnage.

La richesse est répartie de façon quasi uniforme dans les 3 sites ; alors que le site de l'Edough se démarque par la plus grande richesse, avec 8 espèces sur 9 (à l'exception du *Pleurodeles nebulosus*). Suivie par le site d'El Tarf avec 6 espèces et respectivement avec 5 espèces les sites Annaba et El Kala.



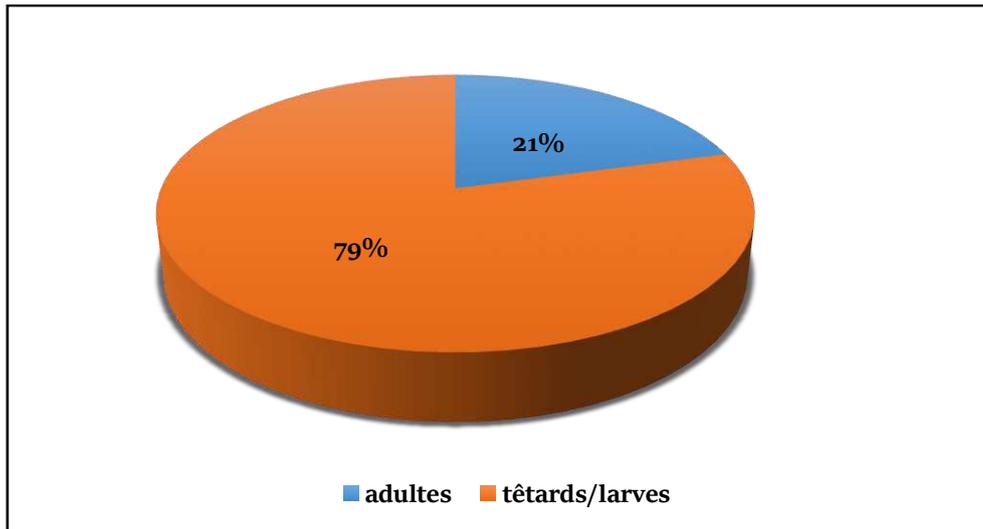
**Figure 23 :** Richesse spécifique des Amphibiens par site.

La répartition quasi homogène entre les trois sites est probablement liée à la faible superficie entre eux. La variation avec l'Edough peut être expliquée par la diversité de ses milieux et des facteurs abiotiques (environnementaux) tel que l'altitude et l'humidité et les facteurs physiologiques des espèces. En effet, la salamandre (*Salamandra algira algira*) et le crapaud épineux (*Bufo spinosus*) sont étroitement liées au facteur altitudinal et de ce fait, à la végétation et au taux d'humidité, d'où leur présence qu'en région d'hauteur en Edough. Les autres espèces sont plus généralistes et même opportunistes.

A l'exception du *Pleurodeles nebulosus*, toutes les espèces recensées sont présentes à l'Edough. Les espèces *Discoglossus pictus*, *Pelophylax saharicus*, *Amietophrynus mauritanicus* et *Hyla meridionalis* sont communes entre Annaba, El Kala et El Tarf, mais ces derniers se distinguent par respectivement la présence de *Pleurodeles poireti*, *Pleurodeles nebulosus*, et les deux *Pleurodeles*.

### 3.2.2 L'abondance absolue et relative des espèces

Nous avons pu dénombrer 3814 individus d'Amphibiens, dans les différents sites. La majorité de l'effectif sont des têtards et des larves (vu la facilité de leur capture) avec un total de 3025 (79,31%) et les adultes (mâle, femelle et juvénile) avec 789 (20,69%) individus (Fig. 24).



**Figure 24:** Distribution des effectifs selon le stade de développement. (N=3814)

L'abondance des espèces diffère selon le stade des individus, la période, le type de milieu et l'altitude. L'espèce la plus abondante est le discoglosse peint (*Discoglossus pictus*) avec une présence dans la quasi-totalité des points : 1721 individus, soit 45,12% de l'effectif total. Il représente 34% des adultes et 48 % des têtards. Cette espèce est largement répandue au niveau du site de l'Edough. Suivie de la grenouille verte (*Pelophylax saharicus*) avec 1079 individus (28,29%), son abondance est de respectivement 29% et 28% pour les adultes et les têtards (Fig. 24.26). L'abondance de cette espèce peut être sous-estimée du fait que sa période de reproduction se prolonge durant l'été (hors période d'échantillonnage).

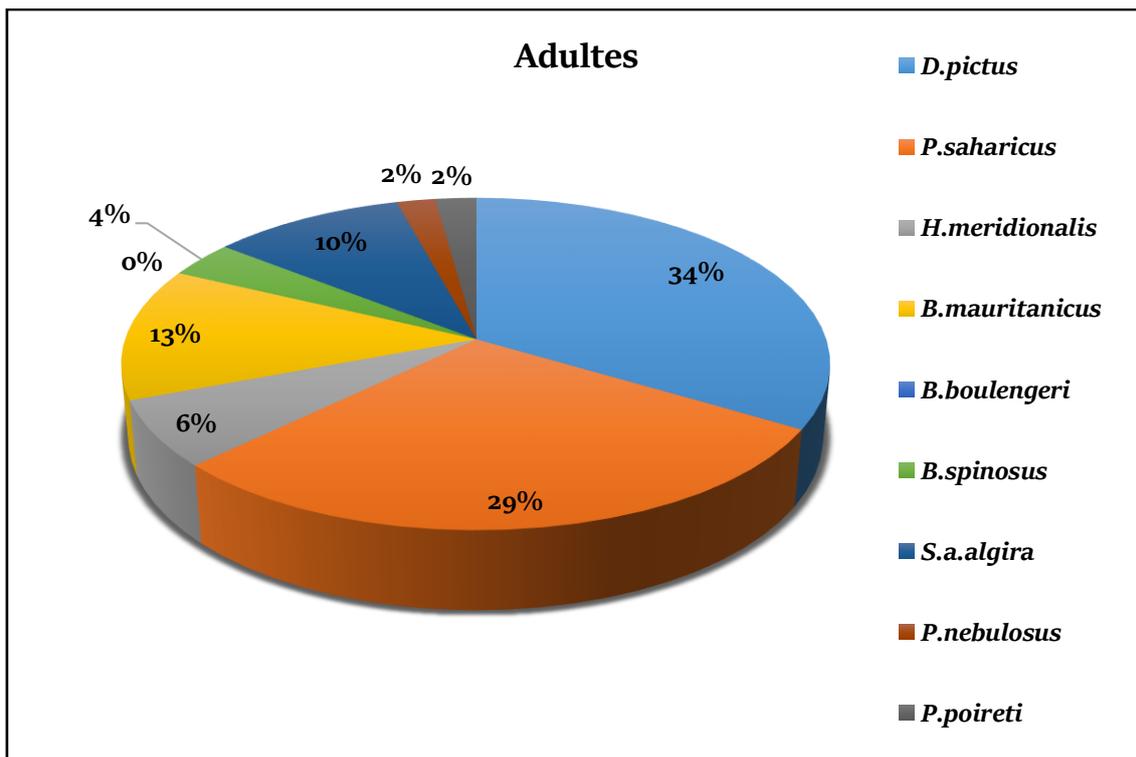


Figure 25: Abondance relative des individus adultes par espèce.

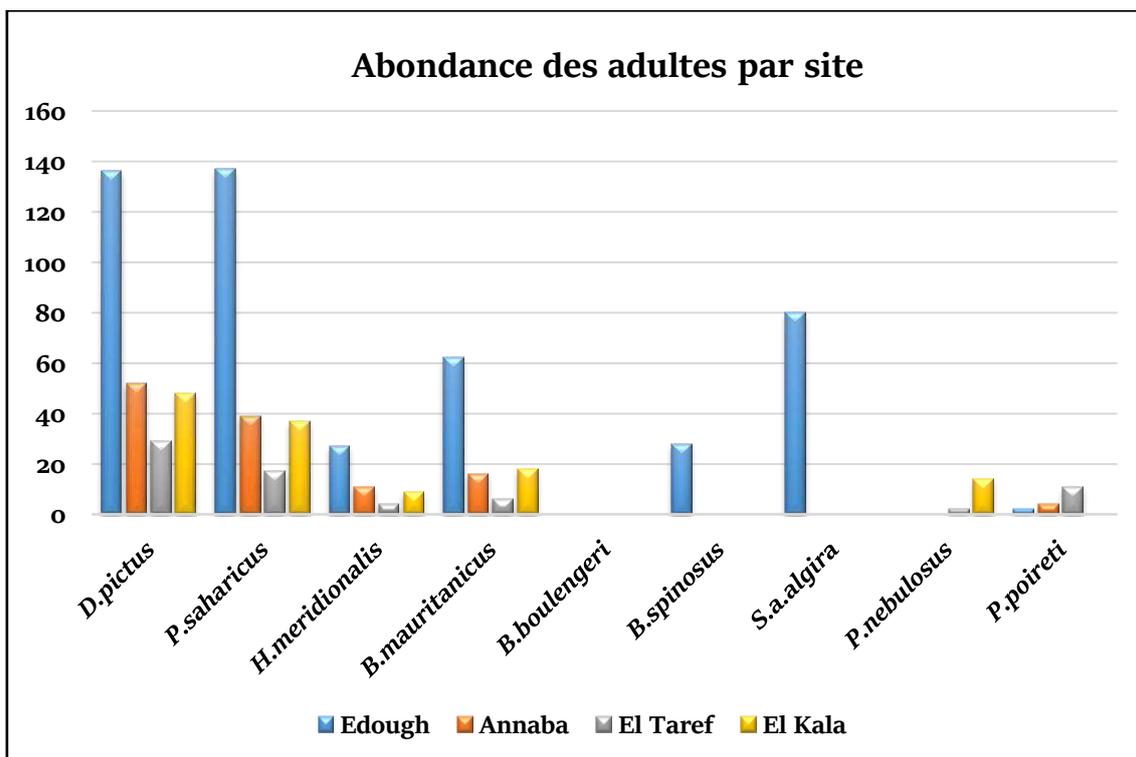


Figure 26: Abondance des Amphibiens adultes par site.

Ces deux Anoures sont suivis par la reinette méridionale (*Hyla meridionalis*) avec 9,75% (n=372), avec une abondance plus importante des têtards (6% des adultes et 11% des têtards).

La salamandre (10% des adultes et 5% des larves) et le crapaud berbère (13% des adultes et 4% de têtards) sont à respectivement 5,87% (n=224) et 6,16% (n=235) de l'effectif total sont plus représentées par les adultes.

L'abondance du crapaud vert représente 2% des têtards (1,83% de l'effectif total) alors qu'il est le moins fréquent ; n'ayant observé aucun adulte, ce taux d'abondance se réfère à l'observation unique de ses têtards dans la région de Jnane El Bey (Oued bakrat) (Fig. 27).

Les deux pleurodèles restent très faibles avec 1,20% (n=46) pour le pleurodèle de Poiret et 1,02% (n=39) pour le pleurodèle nebulosus. Les larves sont plus faciles à trouver, elles représentent respectivement 1% (Fig. 27), alors que les adultes, plus rares, sont représentés par 2% (Fig. 25)

Le crapaud commun ou le *Bufo spinosus* a l'abondance la plus faible, son effectif représente que des adultes : 0,73% (n=28) du peuplement soit 4% des adultes (Fig. 25). En effet, son caractère nocturne très discret fait que cette espèce soit la plus rare et la moins abondante. Son activité reproductive débute vers la fin du mois d'avril, aucun têtard n'a été rencontré lors de nos prospections.

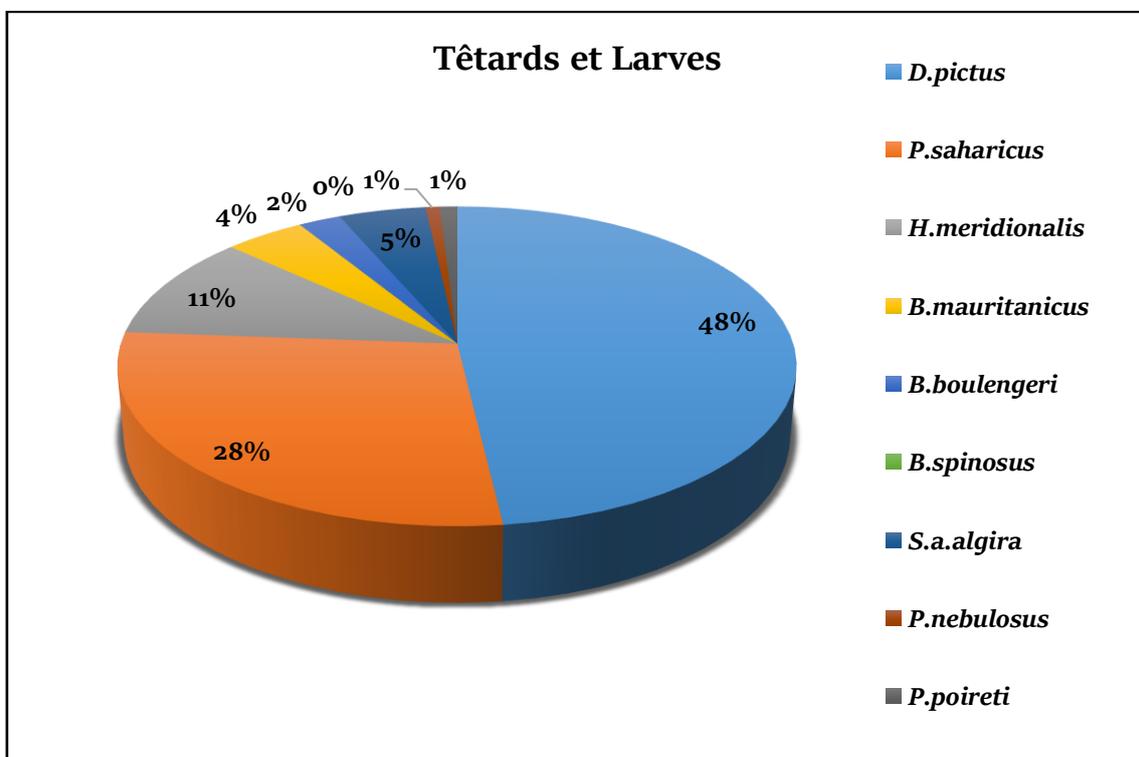
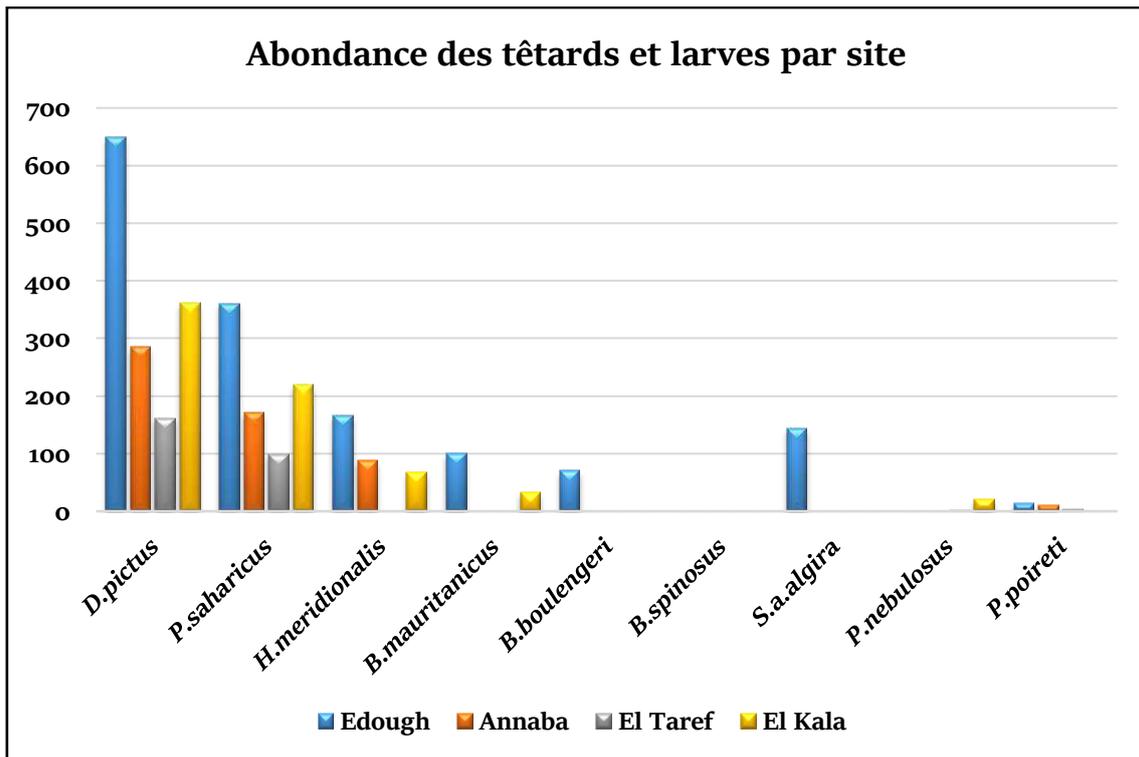


Figure 27: Abondance relative des têtards et larves par espèce.



**Figure 28:** Abondance des têtards et larves d'Amphibiens par site.

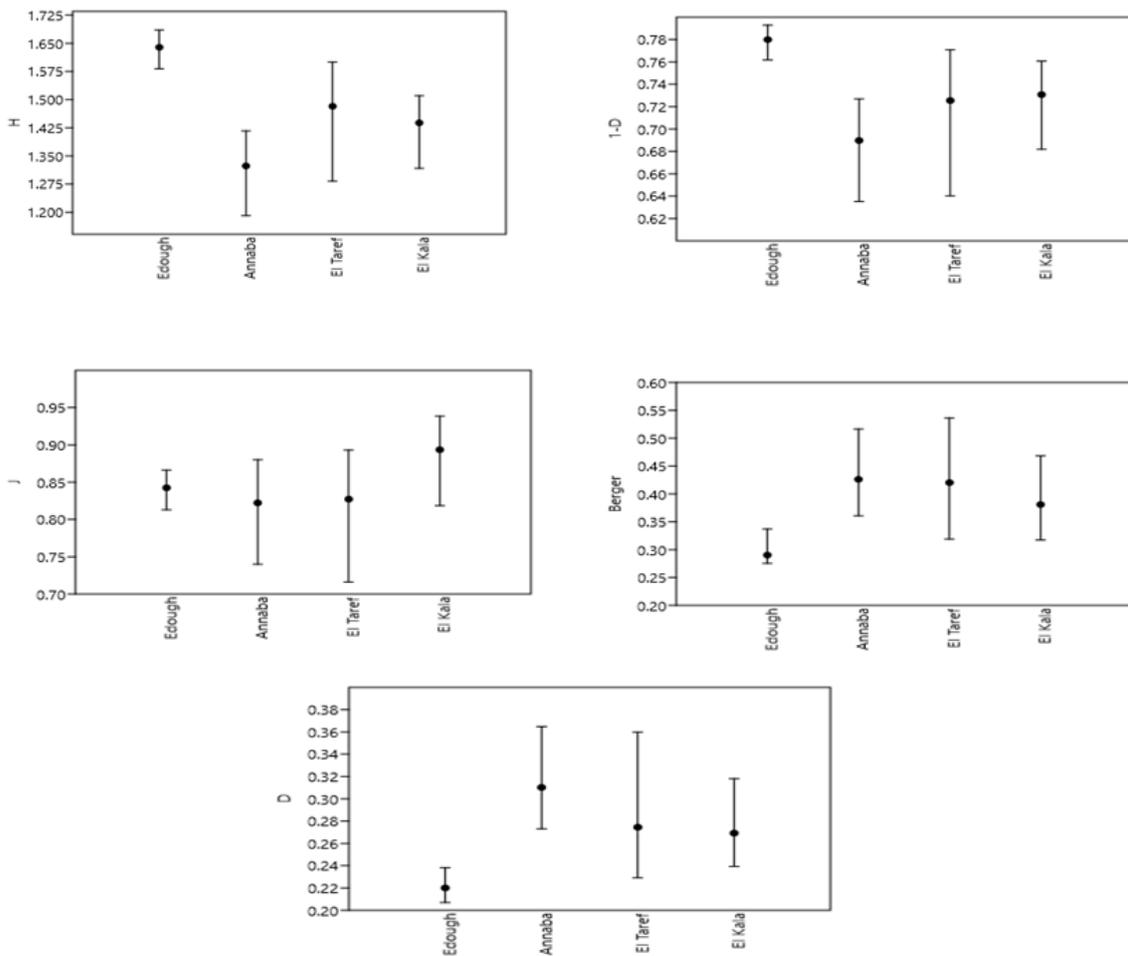
La distribution de l'abondance des individus dans les quatre sites montre bien la différence de répartition des espèces. Les figures (26 et 28) montrent la diversité et l'abondance des deux stades « adultes et larvaires » par site. La différence de distribution des larves et têtards et moins accentuée, le site d'El Kala se classe directement après l'Edough, alors que chez les adultes, il est plus ou moins en équilibre avec le site de Annaba. Le site d'El Tarf enregistre la plus faible abondance des deux stades de développement. Nous n'avons observé aucun adulte de l'espèce de *Bufo boulengeri*, signalé une seule fois par l'observation des têtards (fig.27).

### 3.2.1 Analyse des indices de diversité des adultes

L'analyse des indices de diversité : Shannon H, Simpson, la dominance et l'équitabilité sont classés dans les tableaux (04 et 05), respectivement pour les adultes et les têtards.

**Tableau 04:** Valeurs des indices de diversité chez les adultes.

Sites \ Indices	Edough	Annaba	El Tarf	El Kala
Richesse S	7	5	6	5
Individus N	472	122	69	126
Dominance D	0.22	0.31	0.27	0.27
Shannon H	1.64	1.32	1.48	1.43
Simpson 1-D	0.78	0.69	0.72	0.73
Equitabilité J	0.84	0.82	0.83	0.89
Berger-Parker	0.29	0.42	0.42	0.38



**Figure 29:** Répartition des valeurs des indices de diversité des adultes par site. Shannon (H), Simpson (D-1), Equitabilité (J), Berger-Parker, et Dominance (D).

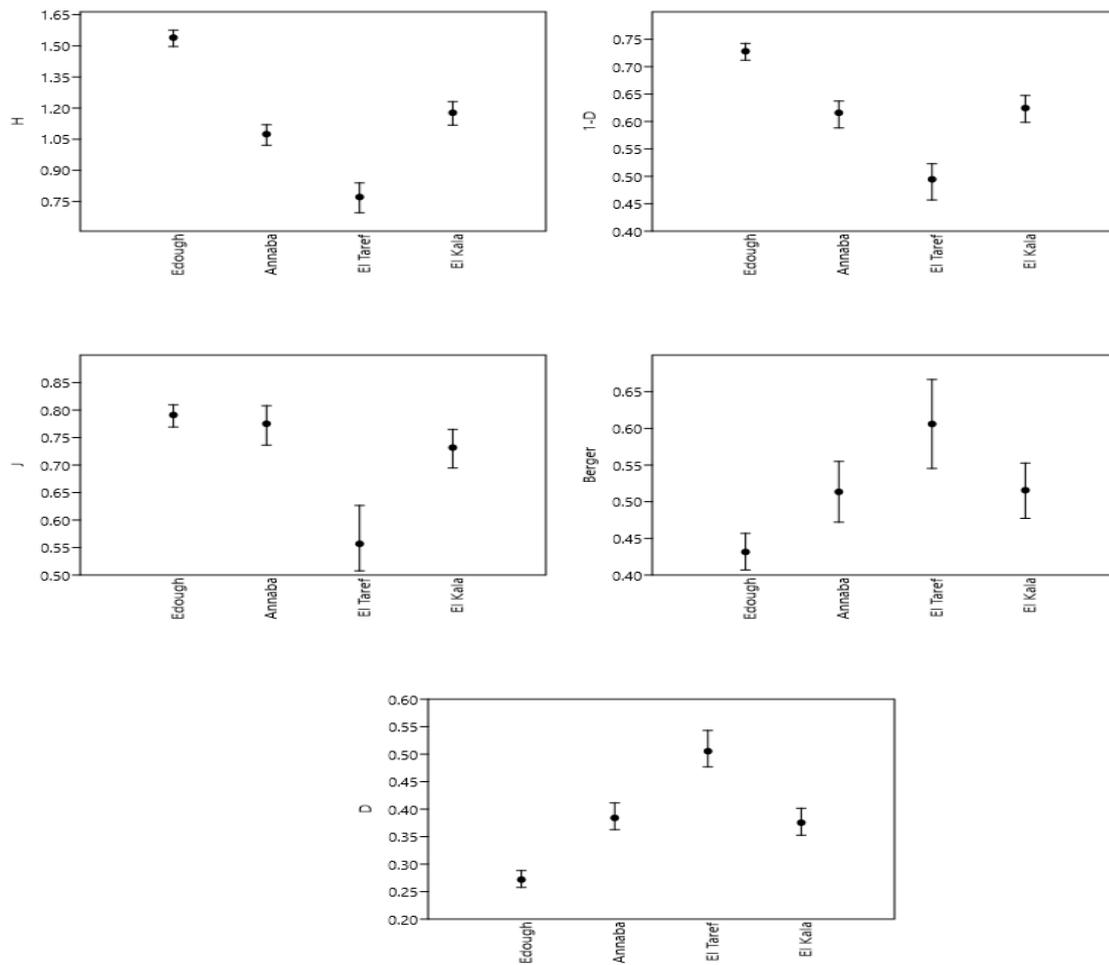
Les valeurs indiquées dans le tableau 04 montrent bien que la valeur de l'indice  $H'=1.64$  bits la plus élevée est enregistrée pour le site de l'Edough, avec une équitabilité  $J=0.84$ . La richesse  $S$  étant de 7 espèces, la dominance  $D$  est égale à 0.22, et l'indice de Berger est égal à 0.29 (fig.29) et ceux sont les deux faibles valeurs. Le site d'Annaba enregistre la plus faible valeur de  $H'=1.32$  bits et une équitabilité  $J=0.82$ . Pour les deux régions restantes les valeurs varient très peu, la plus grande valeur de  $J=0.89$  est pour le site d'El Kala. Les différences des valeurs de diversité entre les quatre sites restent modestes.

### 3.2.2 Analyse des indices de diversité des têtards et des larves

Pour les têtards et larves (Tab. 05), l'Edough domine avec la même richesse  $S=7$ , le nombre d'individus prélevés est plus important. Il enregistre un  $H'=1.54$  bits et une équitabilité  $J=0.79$ . Il est suivi par le site El Kala avec un  $H'=1.11$  bits et une équitabilité  $J=0.69$ . L'indice de Shannon  $H'=1.07$  bits et  $J=0.77$  pour la région de Annaba. Les plus faibles valeurs sont ceux du site El Tarf avec un  $H'=0.77$  bits et  $J=0.55$ . L'indice de Berger-Parker le plus faible et pour l'Edough 0.43 et le plus élevé pour El Tarf 0.6 (Fig.30)

**Tableau 05:** Valeurs des indices de diversité chez les têtards et les larves.

Sites \ Indices	Edough	Annaba	El Tarf	El Kala
Richesse S	7	4	4	5
Individus N	1504	555	264	702
Dominance D	0.27	0.38	0.50	0.35
Shannon H	1.54	1.07	0.77	1.11
Simpson 1-D	0.73	0.61	0.49	0.6
Équitabilité J	0.79	0.77	0.55	0.69
Berger-Parker	0.43	0.51	0.60	0.47



**Figure 30:** Répartition des valeurs des indices de diversité des têtards et larves par site. Shannon ( $H$ ), Simpson ( $D-1$ ), Equitabilité ( $J$ ), Berger-Parker, et Dominance ( $D$ ).

## IV. Discussion

Les résultats de ce chapitre résument l'étude des peuplements des Amphibiens. Le choix des sites est très pertinent dans la présente étude, il s'est orienté vers cette zone Nord-est essentiellement pour deux raisons :

1. La richesse de la région en zones humides (notamment par ses nombreux lacs tel le lac Fezzara, le lac des oiseaux, lac Tonga...) ainsi que les facteurs climatiques favorables font de cette région l'une des plus humides de l'Algérie et lui procure ainsi une diversité d'habitats : ceci se traduit par la présence des facteurs favorables au développement de la batrachofaune.
2. La deuxième raison est le massif de l'Edough : il se démarque par un fort taux d'endémisme floristique et faunistique et constitue une mosaïque de milieux diversifiés (par ses forêts de *Quercus suber*, *Quercus canariensis*, avec une végétation à affinité européenne), ce qui en fait l'un des massifs montagneux les plus riches d'Algérie. Néanmoins, l'Edough reste encore méconnue et son état naturel mérite une attention particulière.

Le littoral méditerranéen de l'Algérie se compose de diverses montagnes individuelles, tel le mont Chréa et la Kabylie qui sont considérées comme « îles intérieures » dans le sens qu'elles contiennent les plus grandes concentrations d'Amphibiens menacés de toute la région méditerranéenne (Cox et al, 2006 ; Mateo et al, 2013). Le climat des régions du Nord correspond au « Csa » Köppen's climatic region (Köppen, 1936), ce sont les régions les plus humides d'Algérie avec des précipitations annuelles supérieures >1000 mm (exemple : station météorologique d'El Tarf) (Matéo et al, 2013).

L'inventaire qualitatif a permis le recensement de neuf espèces, dont une espèce endémique de la région de l'Edough (le pleurodèle de Poiret). Ce résultat est considérablement remarquable en vue de la totalité des espèces actuellement connues (malgré que la superficie de la région d'étude soit restreinte, autour des 200 km<sup>2</sup>), ce qui en fait l'une des régions d'Algérie les plus riches en Amphibiens.

Nos résultats confirment ceux de Samraoui et al. (2012), ils nous permettent également de donner une première description des facteurs qui conditionnent la répartition de certaines espèces. Parmi ces espèces, on compte celles d'une grande valeur patrimoniale et dont le statut

menacé figure dans la liste rouge de IUCN, notamment l'ordre des urodèles : le pleurodèle de Poiret (EN), la salamandre algire (VU) et le pleurodèle d'Algérie (VU), du fait de leur aire de répartition restreinte ou de leur rareté.

Le *Pleurodeles poreti* est endémique de la région de l'Edough et de Annaba, mais reste l'espèce la moins connue. Ses populations sont fortement menacées notamment par la dégradation des habitats et de la pression anthropique. En effet, les sites de reproduction de l'espèce se trouvaient majoritairement en pleine ville et/ou au bord des routes ce qui représente la première menace pesant sur ses populations. Cette espèce utilise différents types de milieux, cette large tolérance des habitats accroît éventuellement la reproduction opportuniste dans des milieux hydrologiques aux paramètres très instables (Gómez-Rodríguez et al., 2010). C'est une caractéristique répandue chez les Amphibiens de la Méditerranée (Blank et Blaustein 2014 ; Ben Hassine et al, 2016).

Les résultats des analyses des indices ont permis une meilleure caractérisation des milieux colonisés par les espèces d'Amphibiens.

Les régions de Annaba et d'El Kala enregistrent la plus faible richesse et sont les moins diversifiées, elles comptent respectivement 5 espèces : *P. saharicus*, *D. pictus*, *A. mautilanicus* et *H. meridionalis* qui sont les plus répandues sur le littoral Algérien et au Maghreb. En effet, elles sont caractérisées par une occupation plus généraliste des milieux. Le *P. poireti* représente la cinquième espèce de la région de Annaba, son endémisme de la région constitue une réelle menace par la fragmentation et l'anthropisation de ses milieux. En effet, les sites de Annaba sont des milieux situés en pleine activité urbaine, par conséquent, les populations subissent une très forte pression anthropique. Les sites occupés par cet urodèle constituent des mares temporaires au bord des routes. C'est la première menace qui pèse sur les populations du pleurodèle en particulier, ce qui conduit sans aucun doute à la destruction de ses habitats, et/ou à de forts degrés de pollution.

La région d'El Kala, frontalière avec la Tunisie, enregistre l'espèce d'urodèle algéro-tunisienne le *P. nebulosus*, dont la répartition en Algérie est plus au moins large mais fragmenté, il reste difficile à détecter, et ses populations sont de faible densité.

A El Kala le couvert végétal est très diversifié, son climat humide lui attribue de multiples plans d'eau d'importance internationale (Ramsar), ce qui constitue un excellent refuge pour les Amphibiens. Malgré que les conditions soient favorables pour la présence de certaines espèces,

seul 5 ont été inventoriées. Samraoui et al, (2012) a rapporté la présence du *Bufo spinosus* dans la forêt d'El Ghorra (frontière Algéro-tunisienne) que nous n'avons pas pu confirmer.

La région d'El Tarf enregistre une richesse spécifique égale à 6 mais dont l'abondance est la plus faible : Toutefois elle représente la seule région regroupant les deux espèces de Pleurodèles d'Algérie (le *P. poireti* et le *P. nebulosus*). C'est donc une zone de contact entre les deux espèces. La limite de distribution du *P. poireti* n'est pas exactement déterminée à ce jour et semblerait être plus large que son aire connue à Annaba et Edough.

La population découverte à El Tarf se localise au niveau du Lac des oiseaux et contrairement aux populations de Annaba qui se reproduisent dans des sites peu profonds, cette population est la seule présente dans un lac d'une profondeur variable et importante. En plus de mortalité naturelle, de pression anthropique et la destruction des habitats, on remarque que le *P. poireti* est en face d'une prédation menaçante (oiseaux, ses congénères et la présence de poissons). D'éventuelles analyses génétiques devraient être nécessaires afin de confirmer et de déterminer les limites de chaque espèce et les probabilités de flux de gènes entre les deux.

Les résultats de cet inventaire mettent en avant la région de l'Edough, qui s'avère être la plus diversifiée avec une richesse de 8 espèces sur les 9 (à l'exception du *Pleurodèles nebulosus*). Ceci ne fait que démontrer la distinction de ce massif par la diversité de ces habitats avec une végétation endémique et sub-endémique et qui en fait des milieux de prédilection pour les espèces d'Amphibiens les plus rares et les plus vulnérables. Le type de site et l'effort d'échantillonnage étaient plus importants dans cette région, ce qui a pu influencer les résultats de la richesse et de l'abondance. C'est la région qui enregistre le taux le plus élevé de diversité.

Le caractère forestier joue un rôle pertinent dans le développement des populations, l'altitude est un facteur déterminant quant à la présence des espèces tels que *Bufo spinosus*, *Salamandra a. algira*. Le massif montagneux d'Edough a été relié depuis quelques milliers d'années au continent, et est resté isolé durant plusieurs millions d'années lui attribue la nomination d'île fossile, et le triton de Edough représente un exemple de spéciation allopatrique (Carranza et Arnold, 2004).

La diversité des Amphibiens dans les 4 sites d'étude est plus au moins considérée comme homogène, étant donné la faible variation des facteurs environnementaux et la connectivité entre ces régions, toutefois, les points échantillonnés sont différents et nous ont permis d'établir la distribution des espèces.

Les principaux facteurs influant sur la diversité de la région peuvent se résumer :

- Le concept de « île fossile » attribué à la péninsule de l'Edough, sa situation biogéographique.
- Facteur altitudinal.
- Sa position Est de la Kabylie (barrière naturelle).

La caractérisation des peuplements des batraciens est essentielle pour connaître l'écologie de toutes les espèces, leurs suivi et la mise en place d'éventuels plans de conservation. La description des espèces en comparant les données bibliographiques disponibles du Maghreb et de l'Algérie sont inéluctables pour appuyer nos propres données et observations.

La région du Maghreb connaît une forte structure phylogéographique et commune chez les Amphibiens (Ben Hassine et al, 2016 ; Nicolas et al, 2015 ; Vences et al, 2014 ; Beukema et al, 2013), correspondant à la fin de la crise de salinité messénienne et à la réinondation du bassin méditerranéen. Les limites entre les différentes lignées de la plupart des espèces couvrent une gamme longitudinale étroite allant de l'Est à l'Ouest (Beddek et al, 2018).

Cette structure phylogéographique est due principalement aux barrières naturelles notamment la vallée de la Moulouya près des frontières algéro-marocaine et la zone de la Kabylie à l'Est de l'Algérie.

D'après la récente étude de Beddek et al, (2018) ; la période la plus récente correspondant à une divergence au Maghreb remonte à 2 et 3,6 Mya pour les espèces : *D. pictus*, *H. meridionalis* et *P. saharicus*.

Les sites échantillonnés dans la région de l'Edough sont essentiellement dans une zone forestière, les sites urbains représentent la ville de Annaba, quand à El Kala et El Tarf, c'est des sites principalement ruraux, de plaine ou forestier. La diversité topographique des sites étudiés a permis une meilleure compréhension des affinités de chaque espèce.

Nous résumons dans le tableau suivant (Tab. 06) : (i) les principales caractéristiques de présence des neuf espèces dans notre région d'étude, (ii) les assemblages des espèces dans un même point d'eau (un maximum de 5 espèces dans un même site), (iii) les principales menaces qui pèsent sur eux selon nos propres observations.

**Tableau 06:** Résumé des principales caractéristiques de chaque espèce et ses menaces. (Bouزيد, 2019).

Espèces	Distribution dans la région d'étude	Affinité des sites	Période de reproduction	Cohabitation des espèces	Principales menaces
<i>Pelophylax saharicus</i>	Abondante, détecté dans les 4 régions d'études et dans 26 sites sur 31. De 0-1000m d'Altitude.	Colonise divers types de milieux, du lac au flaqué d'eau, souvent avec la présence de végétation. Une tolérance pour la pollution bien marquée.	Annaba, El Kala et El Tarf, la reproduction débute en Mars, et en fin avril pour les sites de hautes altitudes de l'Edough	Les adultes et les têtards peuvent cohabiter avec : <i>S.a.algira</i> , <i>D.pictus</i> , <i>H.meridionalis</i> , <i>P.poireti</i> et <i>A.mauritanicus</i> .	Pollution des eaux, anthropisation, parasitisme (par des sangsues), et assèchement des sites temporaires.
<i>Discoglossus pictus</i>	Abondante et ubiquiste, sa présence est localisée dans les 4 régions et dans les 29 sites. De 0-1000m d'altitude.	Colonise plusieurs types de milieux, elle est considérée comme généraliste.	Les adultes sont rencontrés durant tous les mois échantillons, les premières larves sont observées mois de janvier.	<i>S.a.algira</i> , <i>B.spinusus</i> , <i>P.saharicus</i> , <i>H.meridionalis</i> , <i>A.mauritanicus</i> , <i>P.poireti</i> et <i>P.nebulosus</i> .	Pollution, anthropisation, maladies émergentes (Chytridiomycose).
<i>Hyla meridionalis</i>	Fréquente, observé dans les 4 régions et dans 19 sites. (de 0 à 1000m).	Présence de végétation, assez large et ouvert.	Fin février, les premiers têtards à partir de mars.	<i>D. pictus</i> , <i>P. saharicus</i> , <i>P. nebulosus</i> , <i>P. poireti</i> ,	Le pression anthropique, les poissons, pollution et perte d'habitat.
<i>Amietophrynus mauritanicus</i>	Fréquent, observé dans les 4 régions et dans 21 sites. (de 0-1000m).	Généraliste, plus souvent des milieux à sol sablonneux (région d'El Kala).	La reproduction débute le mois de mars. Les adultes sont présent jusqu'en automne.	<i>D. pictus</i> , <i>P. saharicus</i> , <i>B. spinusus</i> , <i>S. algira</i>	Très confronter aux accidents de la route, fragmentation des habitats,
<i>Bufoetes boulengeri</i>	Très rare, une seule observation de têtards dans la station de Jnane el Bey (Oued Bakrat) en face de la mer.	Une eau stagnante, profondeur moyenne de 78,6 cm, peu de végétation.	Les têtards ont été observé la mi-avril.	<i>Pelohylax saharicus</i> , <i>Discoglosse pictus</i> et <i>Amietophrynus mauritanicus</i> .	Dégradation et assèchement de son habitat, pollution.

<i>Bufo spinosus</i>	Rare, sa présence est recensée sur 5 sites dans l'Edough. (de 450-1000m)	Se reproduit dans des eaux courantes, à des températures fraîches ( $\approx 12C^\circ$ ).	La reproduction est tardive, à partir de la fin avril-début mai.	<i>Amietophrynus mauritanicus</i> , <i>Salamandra.a.algira</i> , et <i>Discoglosse pictus</i> .	Pollution, destruction de l'habitat et les incendies, maladies.
<i>Pleurodeles poireti</i>	Rare, observé dans 4 sites au niveau de l'Edough, 5 sites à Annaba et 1 site à El Tarf.	Des sites ouverts, avec ou sans végétation,	Sa reproduction débute le mois de décembre, les premières larves se rencontrent en mars.	<i>Discoglosse pictus</i> , <i>Pelophylax saharicus</i> et <i>Hyla meridionalis</i>	Pression anthropique, pollution, prédation par les poissons, destruction de l'habitat.
<i>Pleurodeles nebulosus</i>	Rare, observé dans 3 sites à El Tarf, et 5 sites à El Kala. Faible altitude (0-200m)	Des milieux de pleine, marécageux,	Sa reproduction est similaire au <i>P.p</i> , durant les mois novembre décembre.	<i>Discoglosse pictus</i> , <i>Pelophylax saharicus</i> , <i>Hyla meridionalis</i>	La perte d'habitat, le manque
<i>Salamandra algira algira</i>	Assez fréquent à Séraïdi (Edough), observé dans 10 sites. (400-1000m)	Les sites sont des sources d'eaux courantes, à faibles profondeurs ( $\approx 20cm$ )	De septembre à décembre, les larves sont observées dès le mois de mars.	<i>Discoglosse pictus</i> , <i>Pelophylax saharicus</i> , <i>Bufo spinosus</i> et <i>Amietophrynus mauritanicus</i>	La pollution, les incendies, la destruction et fragmentation d'habitat.

## CHAPITRE II

ETUDE PHYLOGENETIQUE D'UNE  
POPULATION DE « *Salamandra algira*  
*algira* » DE L'EDOUGH



## Contexte et objectifs

La faune Amphibienne paléarctique de la région du Maghreb a longtemps été considérée comme relativement pauvre et étroitement liée à celle de l'Europe. Un nombre croissant d'études génétiques a révélé des niveaux élevés d'endémisme et ce en raison de l'histoire évolutive qui a longtemps séparé les Amphibiens paléarctiques européens des nord-africains (Fahd et Carranza, 2008).

Le principal événement isolant les différentes lignées, à l'origine de la situation actuelle, semble être l'ouverture du pont terrestre de Gibraltar duquel a découlé le remplissage du bassin méditerranéen durant la fin de la crise de la salinité messénienne (environ 5,96 à 5,33 millions d'années) (Duggen et al, 2003).

Pour les Amphibiens, cet événement était la principale cause de vicariance entre les populations, notamment des genres *Pleurodeles*, *Salamandra*, *Pelobates*, *Alytes*, *Pelophylax* et *Discoglossus* de chaque côté du détroit de Gibraltar (Steinfartz, Veith et Tautz, 2000 ; García-París, Buchholz et Parra-Olea, 2003 ; Carranza et Wade, 2004 ; Martínez-Solano et al., 2004 ; Zangari, Cimmaruta et Nascetti, 2006).

La biogéographie de l'Afrique du nord, entre climat méditerranéen et saharien, lui procure une composition spécifique unique (Dobson et Wright, 2000, in Dinis et al, 2018). En effet, deux modèles biogéographiques prédominants peuvent être observés chez les espèces méditerranéennes en Afrique du Nord :

1. Le premier est le double rôle des systèmes montagneux (les montagnes du Rif et de l'Atlas) en tant que barrière géographique (Escoriza et Coms, 2007 ; Verissimo et al, 2016) et refuge climatique (Beukema et al, 2010 ; Nicolas et al, 2015).
2. Le second est une tendance à la divergence intraspécifique le long d'un axe Est-Ouest (Beukema et al, 2010), probablement associée à des transgressions marines historiques dans des vallées fluviales (Veith et al., 2004) ou à des périodes de fluctuations climatiques allant de conditions humides à hyper-arides (In Dinis et al, 2018).

Cette divergence intraspécifique touche plusieurs espèces, notamment les salamandres. L'espèce *Salamandra algira* est localisée de la péninsule de Tingitana au Maroc jusqu'à la péninsule de l'Edough à Annaba en Algérie. Cette dernière (notre zone d'étude) étant sa limite

Est de distribution, et dont le caractère de presqu'île « insularité » lui procure des facteurs d'endémisme.

Le premier chapitre a été consacré à l'étude de la biodiversité des Amphibiens dans la région nord-est de l'Algérie. A travers cet inventaire, nous avons pu décrire de façon écologique les peuplements dans les différentes régions.

Pour ce second chapitre, nous allons aborder une nouvelle thématique : la phylogénie. Il est consacré à cette espèce emblématique de la région de l'Edough et qui est classée comme vulnérable : la Salamandre tachetée d'Algérie « *Salamandra algira algira* ». L'étude phylogénétique de cette espèce au Maroc, a révélé une diversité phylogéographique dont il dérive trois sous espèces.

L'une de ces sous-espèce « *Salamandra algira spelaea* » se localise près des frontières algéro-marocaines, ce qui a suscité l'intérêt de confirmer le statut génétique de nos populations, au niveau de sa limite Est « l'Edough » et qui est considéré comme la localité type de la salamandre algire.

Cette étude utilise de l'ADN mitochondrial d'une population de salamandre algire de l'Edough. Nous avons structuré le chapitre d'après les objectifs que nous nous sommes fixés :

- Analyse du gène mitochondrial D-Loop, dont les résultats seront comparés avec ceux d'autres populations algériennes et marocaines afin de confirmer le statut génétique de notre population.
- Les résultats répondent-elles à l'hypothèse de degré d'isolement des populations de l'Edough ?

## **Chapitre II : Etude phylogénétique d'une population de « *Salamandra algira algira* » de l'Edough**

### **I. Généralités sur le modèle biologique et quelques rappels et définitions**

Il nous est nécessaire de commencer ce chapitre par des généralités sur l'espèce et des rappels des définitions pertinentes, notamment tout ce qui concerne le matériel génétique mitochondrial avec lequel nous avons travaillé.

#### **1.1 Qu'est-ce qu'une population ?**

En tant qu'écologiste, on connaît tous cette structure qu'est « une population » en tant que groupe d'individus de la même espèce occupant un environnement donné à un temps donné et pouvant se reproduire entre eux.

Du point de vue évolutionniste, elle est définie comme « une communauté d'individus d'une espèce sexuellement reproductrice dans laquelle l'accouplement a lieu dans une partie importante de l'environnement dans lequel la sélection a lieu » ou encore « un groupe d'organismes conspécifiques qui occupent une région géographique plus ou moins bien définie et présente une continuité de reproduction de génération en génération » (Waples et Gaggiotti, 2006).

#### **1.2 Description de *Salamandra algira* (Bedriaga, 1883)**

##### **1.2.1 Description**

La salamandre qu'on reconnaît facilement à sa coloration noire et ses taches jaunes, le genre *algira* est spécifique à l'Algérie et au Maroc (en Espagne aussi), d'une taille lacertiforme qui atteint les 260 mm chez les sous-espèces marocaines (Beukema et al., 2013). Les adultes présentent une tête plate, large avec des yeux proéminents ayant une iris noire et un museau arrondi (Merabet, 2016).

Sa distribution en Algérie est mentionnée à Annaba (Edough), Kabylie, Blida et en Oranie (mais sa présence reste à confirmer). De récentes études rapportent sa présence à Skikda (Collo) et à Jijel.

Confiné aux étages humides, son habitat se caractérise par un taux d'humidité élevé une végétation dominée par le chêne (zeen et suber).

### 1.2.2 Historique de la Salamandre Nord-africaine

Le genre *Salamandra* est largement réparti dans le paléarctique occidental et est représenté par six espèces distinctes (Vences et al, 2014). En Afrique du Nord, il est représenté par une seule espèce « *Salamandra algira* » qui autrefois était connu sous les noms de *Salamandra maculosa* variété *algira* par Bedriaga, (1883) ou encore *Salamandra salamandra algira* Scortecci, (1936), et enfin *Salamandra algira* Veith, (1993). La variété *algira* était connue comme une seule espèce commune à l'Algérie et au Maroc (Bons et Geniez, 1996 ; Schleich, Kästle et Kabisch, 1996 ; Steinfartz et al, 2000).

Elle se rencontre dans les étages humides et subhumides de l'Algérie et du Maroc. Décrite pour la première fois par Bedriaga, (1883) à partir d'un spécimen capturer à Bône « Djbel Edough ». Au Maroc au cours des deux dernières décennies, des études sur la distribution, le comportement reproductif et la génétique ont mis-à-jour la taxonomie subsppécifique (Donaire-Barroso et Bogaerts, 2001 ; Donaire-Barroso et al, 2001 ; Bogaerts et Donaire-Barroso, 2003 ; Donaire-Barroso et Bogaerts 2003a ; Bogaerts et al, 2007).

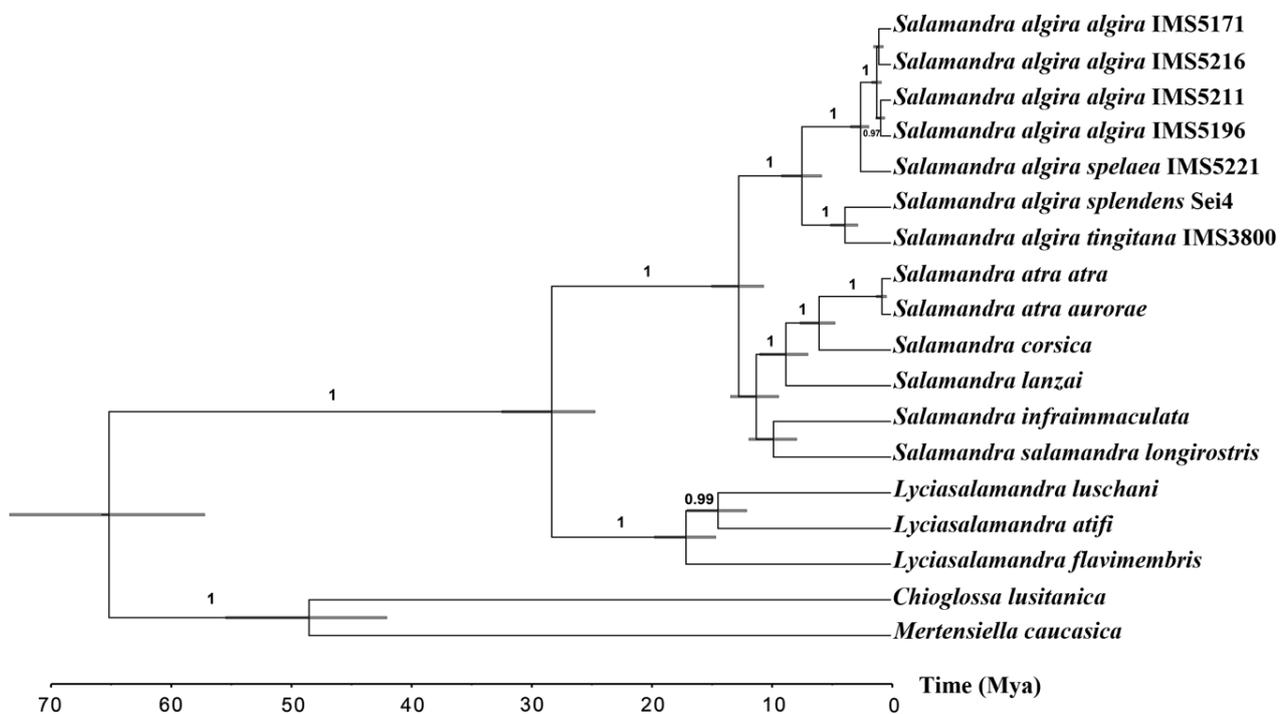
*Salamandra algira tingitana* est la première sous espèce de *S. a* décrite par Donaire-Barroso et Bogaerts (2003), qui par la suite Dubois et Raffaëlli (2009) ont voulu l'élever au statut d'espèce. Basée sur ses caractères très différents notamment sa morphologie, son mode de reproduction vivipare (le développement embryonnaire se fait à l'intérieur de la femelle dans une matrice spécialisée avec des apports nutritifs, et la progéniture lors de la ponte est viable), et ses différentes éthologiques, qui ont été démontrées en captivité (Beukema et al, 2013).

Par la suite, Escoriza et al. (2006) ont redécouvert une population de *S. algira* dans le massif marocain de Beni Snassen près des frontières Algériennes, sur laquelle Escoriza et Comas (2007) viennent décrire la sous espèce endémique et limité à environ 45 km, c'est la *Salamandra algira spelaea*.

La troisième sous espèce et la *Salamandra algira splendens* (Beukema et al, 2013) qui se caractérise par des différences morphologiques et une coloration rouge sur fond noir sur la partie ventrale.

Ces travaux soupçonnent que cette diversité génétique est due à une barrière naturelle notamment « la rive de Moulouya » qui isole certaine population, tel que la *S.a.spelaea* au nord-est du Maroc et à la rive droite de Moulouya, des autres sous espèces qui sont à la rive gauche où *tangitana* est confinée au Nord-ouest et *splendens* au centre du pays.

La nomination type de la sous espèce *Salamandra algira algira* apparaît endémique de l'Algérie (Escoriza et al., 2006 ; Ben Hassine et al., 2016), et la séparation phylogénétique de l'espèce sœur du Maroc date de l'époque du Miocène (Fig.31). En Algérie, la génétique de la salamandre n'a pas été étudiée jusqu'en 2016 avec les travaux de Merabet et al, 2016 ou encore Ben Hassine et al, 2016 ainsi que notre présente étude.



**Figure 31:** Arbre calibré de temps montrant les relations phylogénétiques des représentants du genre *Salamandra*. Échelle dans millions d'années. (Ben Hassine et al, 2016)

## 1.3 Le matériel génétique

### 1.3.1 La Mitochondrie

La mitochondrie est un organite polymorphe localisé en grand nombre dans le cytoplasme des cellules eucaryotes. Elle serait apparue il y a 1,5 à 2 milliards d'années à la suite d'une endosymbiose entre une protobactérie et une cellule hôte protoeucaryotique (Margulis, 1976). La mitochondrie occupe une place essentielle dans le métabolisme intermédiaire dont sa fonction première de conversion énergétique est indispensable à la cellule (McFarland et al, 2007). Elle est le siège des réactions de catabolisme des acides aminés et du cycle de Krebs, de l'oxydation des acides gras et de la phosphorylation oxydative. Elle assure la respiration de la cellule et la production de l'énergie (ATP : adénosine triphosphate) (Kefi-Ben Atig et al, 2009). Les mitochondries sont exceptionnelles car elles contiennent le seule ADN extrachromosomique dans la cellule et sont ainsi sous le double contrôle génétique des génomes nucléaire et mitochondrial (McFarland et al, 2007).

### 1.3.2 L'ADN mitochondrial

L'ADN mt est un ADN à double brin circulaire. Les deux brins sont codants et dépourvus d'introns. Les séquences intergéniques sont absentes ou limitées à quelques nucléotides (Kefi-Ben Atig et al, 2009). La plus grande partie de l'ADN cytoplasmique se trouve dans la mitochondrie (Fig.32). Chaque cellule peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de mitochondries, elles-mêmes renfermant entre 1 à 10 copies d'ADN mitochondrial (Bogehagen et Clayton, 1974, Mazières, 2006). Par ailleurs, l'ADN mt évolue 5 à 10 fois plus vite que l'ADN nucléaire de telle sorte que même des populations très liées peuvent présenter des différences entre leurs ADN mt (Yacoubi Loueslati et al, 1998).

Chez les œufs d'Amphibiens, le nombre de mitochondrie est proportionnel à son volume. Le stock de mitochondries se constitue petit à petit pendant l'oogenèse avant de se distribuer dans le blastomère après la fécondation (Ameur Ameur A, 2016).

L'ADN mitochondriale apporte à la mitochondrie :

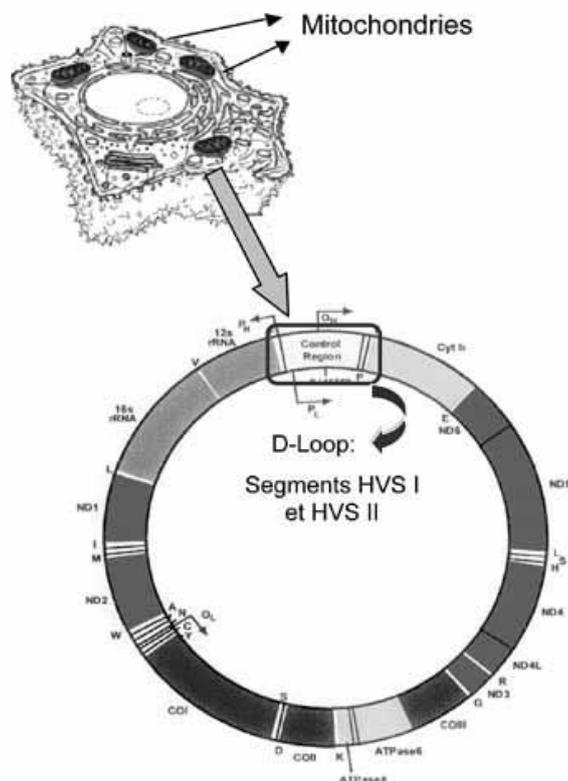
- Dépendance génétique.
- Capacité de répliquer leur propre ADN.
- Synthétise leur ADN et leurs protéines.

Toutes les mitochondries de l'embryon et de l'adulte sont dérivées par la multiplication autonome de celle de l'œuf, le spermatozoïde fournit une quantité négligeable proportionnelle à

sa taille et finiront par la suite à se disperser. On conclut donc que l'ADN mitochondrial se transmet d'une génération à une autre par la lignée germinale femelle (Ameur Ameur A, 2016).

Etant donné que l'ADN mt est hérité de façon maternelle, il ne subit donc pas l'effet de la recombinaison (Olivio et al., 1983), et les arbres phylogénétiques reliant différents types d'ADN mt peuvent être interprétés comme des généalogies reflétant l'histoire maternelle de l'espèce.

Cette hérédité maternelle de l'ADN mt fait de cette molécule un outil de choix dans la recherche des relations phylogénétiques entre espèces différentes, mais aussi à l'intérieur d'une même espèce ainsi que l'histoire des populations (Hsouna, 2014).



**Figure 32:** Structure de l'ADN mitochondrial (Kefi-Ben Atig et al, 2009).

### 1.3.3 Qu'est-ce-que la D-loop et pour quelle raison la privilège-t-on ?

La D-Loop « Displacement Loop ou Boucle de Déplacement » est l'unique région non codante de l'ADNmt. Il s'agit d'une région de 1121pb située entre la position 16024 et la position 576 (d'après la numérotation de la CRS : Cambridge Référence Séquence 2). La D-Loop contient notamment l'origine de réplication et les deux promoteurs de la transcription, un pour chaque brin. En outre, cette région inclus deux zones hyper variables : HVS1 et HVS2

(HVS pour hypervariable segment). Le fragment HVS1 englobe 60% des polymorphismes de la D-Loop (Kefi-Ben Atig et al, 2009).

La région de contrôle mitochondrial ou D-Loop est généralement considérée comme la partie du génome mitochondrial qui évolue le plus rapidement et devrait donc donner le plus haut degré de résolution parmi les populations étroitement liées (Steinfartz et al, 2000). On peut noter plusieurs études génétiques, phylogénique et phylogéographiques du genre *Salamandra* qui ont utilisé principalement la région D-loop : (Shaffer et McKnight 1996 ; Caccone et al 1994, 1997 ; Steinfartz et al, 2000 ; Donaire-Barroso et Bogaerts 2003 ; Escoriza and Coms, 2007, Merabet et al, 2016).

#### **1.3.4 Vitesse de mutation de l'ADN mt**

L'ADN mt présente un taux moyen de mutation de 10 à 17 fois supérieur à celui de l'ADN nucléaire. Même en excluant la D-Loop ce taux demeure élevé. En effet, en fonction de type de mutation considéré, le taux de variation de l'ADN mt est de 10 à 12 fois supérieur à celui de l'ADN nucléaire, soit 0,017 mutation par site et par millions d'années (Ma).

L'évolution rapide de l'ADN mt est due d'une part, à l'absence de protéines protectrices (les histones), au manque de fidélité de la réplication et à la défaillance du système de réparation des erreurs commises par l'ADN polymérase mitochondriale. De plus l'ADN mt est constamment exposé aux radicaux oxygénés (ROS : Reactive Oxygen Species) libérés dans la matrice de la mitochondrie.

Les mutations ne sont pas uniformément réparties sur l'ensemble du génome mitochondrial, elles s'accumulent, préférentiellement, au niveau de la D-Loop. Cependant, le taux de variation de la D-Loop est très discuté. Dans la littérature, les travaux menés sur des familles ou analyse des généalogies proposent des vitesses d'évolution comprises entre 0,32 mutation /site/Ma et 2,5 mutation /site/ Ma, tandis que les vitesses estimées par les études phylogénétiques sont plus faibles (taux compris entre 0,025 et 0,260 mutation /site/Ma). Ces différences marquantes sont dues aux critères d'échantillonnage et à la taille des effectifs qui ne sont pas les mêmes dans les différentes études. De même, les taux de mutations de la D-Loop varient en fonction des méthodes statistiques et phylogénétiques utilisées.

Il est important de noter qu'une mauvaise estimation du taux de mutations et de son hétérogénéité au sein de l'ADN mt et particulièrement au niveau de la D-Loop entraînent des résultats incohérents dans les études génétiques des populations et surtout dans la datation des mouvements migratoires (Kefi-Ben Atig et al, 2009).

### **1.3.5 Le mode de transmission de l'ADN mt**

Les mitochondries suivent un mode d'hérédité cytoplasmique (non mendélienne) qui fait que l'ADN mt est uni-parental. Il est admis qu'il se transmet exclusivement par la voie maternelle. Ainsi, l'ADN mt, n'étant présent que sous une seule forme, la forme maternelle, n'est pas soumis au phénomène de recombinaison (Ameur Ameur, 2016).

### **1.3.6 ADN mitochondrial plutôt que ADN nucléaire ?**

Les propriétés de l'ADN mt : un taux élevé de substitution, absence de recombinaison et transmission maternelle, font de cette molécule un bon outil biologique exploitable dans de nombreux domaines de recherches tels la biologie de l'évolution, l'anthropologie génétique, l'histoire des maladies, la systématique et la phylogénie (Kefi-Ben Atig et al, 2009).

## **1.4 La phylogénie et l'arbre phylogénétique**

### **1.4.1 Définition de la phylogénie**

Sur une période d'au moins 3,8 milliards d'année le premier être vivant n'a cessé de se séparer en différentes espèces. Tout au long de l'évolution, les gènes accumulent des mutations, lorsqu'elles sont neutres ou bénéfiques à l'organisme elles sont transmises d'une génération à l'autre. L'isolement d'une population et l'adaptation à son environnement peut entraîner la création d'une nouvelle espèce.

La phylogénie est l'étude des relations de parentés entre différents êtres vivants en vue de comprendre leurs évolutions, basées sur la notion « d'héritage ». La phylogénie peut se faire à l'échelle d'une espèce mais également à un niveau intra-spécifique. Les résultats d'une étude phylogénétique sont représentés couramment sous forme d'un arbre (Hsouna, 2014). Le réel développement de la phylogénie date du milieu du 20<sup>ème</sup> siècle, elle a été développée par l'entomologiste allemand Willi Hening en 1950.

### **1.4.2 L'arbre phylogénétique**

L'objectif premier de la phylogénie est de reconstruire l'arbre de vie de toutes les espèces vivantes à partir de données génétiques observées. C'est un diagramme de branchement,

généralement représenté sous la forme d'un arbre qui démontre les relations évolutives entre différentes lignées génétiques (par exemple, espèces ou genres).

Darwin est le premier à avoir illustré et popularisé le concept d'un arbre de la vie, dans son ouvrage « l'origine des espèces », publié en 1859. Plus d'un siècle plus tard, les biologistes de l'évolution utilisent encore des diagrammes en forme d'arbre pour décrire l'évolution des espèces (Hsouna2014, in Guidoum, 2015).

## 1.5 Méthodes d'analyses phylogénétiques

Il existe actuellement au moins deux approches de reconstruction phylogénétique : les méthodes basées sur les caractères et celles basées sur les distances.

**\*Les méthodes basées sur les caractères sont très lentes.** Cette approche regroupe les méthodes de parcimonie, de maximum de vraisemblance et les méthodes bayésiennes.

**\*L'approche basée sur les distances est rapide.** Elle regroupe la méthode UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages) qui fut l'une des premières à avoir été proposée (Sneath et Sokal, 1973) et la méthode Neighbor Joining (NJ) (Saitou et Nei, 1987) (In Guidoum, 2015).

### 1.5.1 Méthodes de maximum de parcimonie

Le concept est introduit par Edwards et Cavalli-Sforza (1963) : « L'arbre évolutif à préférer est celui qui invoque la quantité minimale d'évolution ». Cette méthode est basée sur plusieurs hypothèses de base :

- a- Les séquences en présence ont évolué à partir d'une séquence ancestrale commune grâce à un processus de mutation-sélection.
- b- Les sites évoluent indépendamment les uns des autres (la séquence peut être considérée comme une suite de caractères non ordonnés).
- c- La vitesse d'évolution est lente et constante au cours du temps.

La méthode de maximum de parcimonie recherche toutes les topologies possibles afin de trouver l'arbre optimal avec le minimum d'évènements évolutifs. Il est possible de trouver plusieurs arbres optimaux comportant le même nombre minimal de substitutions nécessaires pour passer d'une séquence à l'autre dans l'ensemble de l'arbre. Pour rechercher l'arbre le plus parcimonieux, plusieurs approches ont été utilisées telles que les constructions heuristiques et la méthode de « branch-and-bound » (séparation et évaluation).

La méthode de parcimonie donne une information sur les séquences ancestrales. Elle donne souvent plusieurs **arbres parcimoniaux** mais de **topologies différentes**. Ces arbres sont souvent condensés dans un arbre consensus. Ce dernier est construit à partir des nœuds les plus fréquemment rencontrés sur l'ensemble des arbres possibles.

La parcimonie respecte le nombre de mutations au niveau de chaque branche. En revanche, elle n'effectue aucune correction pour les substitutions multiples éventuelles sur les branches. Parmi les autres inconvénients caractérisant cette méthode nous citons la **lenteur** et le **manque d'informations** (ne prend en considération que les sites informatifs et ne donne aucune information sur la longueur des branches) (in Guidoum, 2015).

### 1.5.2 Méthodes de maximum de vraisemblance (Likelihood)

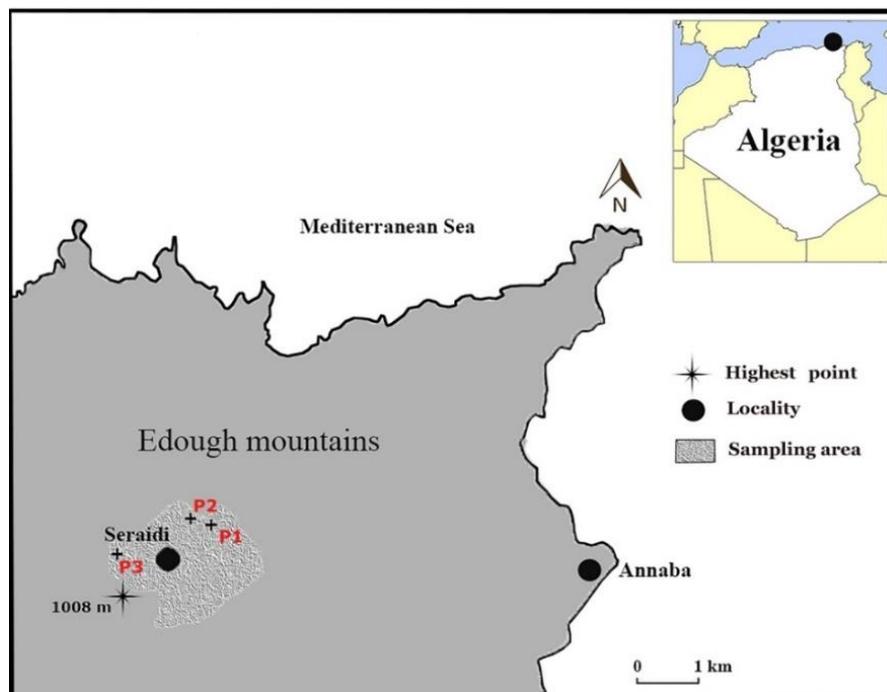
Cette méthode de reconstruction phylogénétique évalue l'ordre des branchements et conduit au résultat le plus proche de l'arbre évolutif réel en théorie. Il permet d'appliquer les différents modèles d'évolution et d'estimer la longueur des branches en fonction du changement évolutif.

La vraisemblance est la probabilité d'observer les données D (alignement de séquences) sachant l'hypothèse H (arbre phylogénétique). Le maximum de vraisemblance cherche à trouver l'arbre dont la vraisemblance est maximale pour les séquences observées et le modèle d'évolution choisi. Les probabilités obtenues à chaque site dépendent du modèle choisi. D'autres paramètres peuvent être introduits à ce modèle tel que des taux variables de substitutions. Cette méthode n'est applicable qu'avec un petit nombre de séquences.

## II. Matériels et méthodes

### 2.1 Région d'étude

Dans la région Est de l'Algérie, la grande chaîne montagneuse de l'Edough est le premier site de découverte de la Salamandre nord-africaine « *Salamandra algira* » et plus précisément dans la wilaya de Annaba. De ce fait, nous avons réalisé notre échantillonnage dans la région de Séraïdi (à plus de 800 m d'altitude) (Fig. 33), située près de la mer méditerranéenne, cette région est distinguée par une richesse de forêt indéniable. Ses chênes lièges, zeen ou encore ses châtaignes sont des lieux typiques de la salamandre.



**Figure 33:** Localisation géographique de la région d'étude. (Bouزيد et al, 2017)

### 2.2 Choix des sites d'étude

Le choix de nos sites s'est fixé principalement par rapport aux conditions optimales à la présence des adultes salamandres. Trois sites à des altitudes similaires ont été choisis (Tab. 07). Ce sont des forêts dominées par le chêne zeen (*Quercus canariensis*) qui sont des arbres hauts, ce qui rend le milieu fermé et humide avec une strate herbacée peu développée, ce qui pourrait faciliter le déplacement des salamandres. Ils sont aussi assez rocheux, recouvert de grosses pierres couvertes de mousse, leur procurant ainsi de bons abris, la présence de sources d'eau

est le plus important, ces sites enregistrés un fort taux d'humidité, une condition indissociable à la présence des salamandres.

*Tableau 07: Données géographiques des sites d'échantillonnage.*

Site	Nom du site	Altitude	Coordonnée géographique	
P1	Ain Chfa	744	Longitude 36°54_844__N	Latitude 7°41_085__E
P2	La source	762	36°54_37.80__N	7°40_04.09__E
P3	Pont Romain	750	36°54_14.72__N	7°39_03.05__E

### **2.3 Méthode d'échantillonnage**

Les Salamandres sont des animaux nocturnes, elles sortent pour chasser et se nourrir et leur robe noire leur permet de se fondre dans l'obscurité de la nuit mais en même temps les taches jaunes rappellent aux éventuels prédateurs qu'elles sont toxiques. Durant la période de reproduction, toutes les parades nuptiales et les accouplements se font également la nuit. Ainsi, les salamandres passent leurs journées cachées sous des abris tels que des feuilles mortes, des écorces de bois et/ou des grosses pierres fraîches et humides où elles peuvent se reposer.

La nuit serait donc idéale pour les capturer, il suffit de l'éclairage d'une lampe torche pour les immobiliser et on aura qu'à les prendre, mais pour des raisons de sécurité, nous n'avons pas pu appliquer cette méthode. Les recherches diurnes sont plus difficiles ce qui consiste donc à prospecter tous les différents abris potentiels et donc doubler d'effort d'échantillonnage.

Une fois un individu trouvé, il est capturé directement à la main, on détermine alors le sexe (par observation directe des caractères sexuels visibles en période de reproduction : gonflement du cloaque chez les mâles. Chez les femelles, on remarque un gonflement au niveau du ventre). Les juvéniles ne présentent aucun signe externe particulier, mais on peut les classer par rapport à leur petite taille.

Pour cette étude, tous nos échantillons ont été prélevés de Janvier 2014 à Décembre 2015 durant la période propice de reproduction (automne, hiver et printemps) (Escoriza et Ben Hassine, 2014). Un total de 52 individus a été capturé. Les prospections se sont faites pendant les journées, de préférence celles suivies des précipitations, et durent entre 3 et 5 heures, dans des sites offrant les conditions optimales à la présence des salamandres, non loin d'un cours d'eau et on prospecte le long d'un transect. Les individus ont été majoritairement trouvés sous des grosses pierres recouvertes de mousses (Fig. 34).



**Figure 34:** A et B : Forêt de chêne zeen (*Quercus canariensis*) avec des grosses pierres couvertes de mousses utilisées comme abris par *Salamandra algira algira*. C : eau de source stagnante contenant des larves de salamandres (Bouzig, 2015).

### 2.3.1 Manipulation sur terrain

Une fois les individus capturés, ils sont de suite manipulés et ce pour minimiser le stress généré. Afin de collecter de l'ADN buccale ou salivaire, on procède à l'ouverture du museau de notre individu à l'aide d'une spatule stérilisée, on frotte un coton-tige aux parois buccales afin de prendre un maximum de salive. L'échantillon est ensuite disposé dans un tube eppendorf perforé au niveau du couvercle pour éviter que l'ADN soit endommagé par l'humidité.

Et enfin les tubes sont stockés dans un bocal en verre préalablement stérilisé (dans une étuve à 100° pendant 40 minutes) et contenant du silicagel ou gel de silice pour absorber toute humidité et ainsi protéger l'ADN de la dessiccation (Prunier et al., 2012).

### **2.3.2 Manipulation au laboratoire**

Toute cette partie ainsi que l'analyse des données a été réalisée au niveau du laboratoire « LEHNA : Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés » à l'université Claude Bernard Lyon 1 en France.

#### **2.3.2.1 Extraction d'ADN au chelex**

L'extraction de l'ADN des cotons tiges se fait dans des tubes barrettes de PCR de 0.2 ml avec 10 $\mu$ l de protéinase K (15mg/ml) et 150  $\mu$ l de chelex 7% (solution sous agitation lors du pipetage) pince flambée entre chaque échantillon et utilisation de pipette électronique 100 $\mu$ l. Les barrettes sont ensuite incubées pendant une nuit à 56°C dans un thermocycleur, dès le lendemain on dénature la protéinase K, et ceux à 90°C durant 15 min. Enfin pour procéder au prélèvement de l'ADN, on réalise un spin pour culoter les billes de chelex et prélever 2 $\mu$ l de solution dans la partie haute du tube (Casquet et al, 2012).

#### **2.3.2.2 Amplification de l'ADN par PCR**

##### **2.3.2.2.1 Principe de l'amplification d'ADN par PCR**

La PCR (Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérase en chaîne) est une technique d'amplification d'ADN ; elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie. Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes :

- Une dénaturation par chauffage afin de séparer les deux brins.
- Une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée.
- Une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase.

##### **2.3.2.2.2 Procédure d'amplification**

Nous avons procédé à l'amplification des trois gènes mitochondriaux suivants par PCR : Le Cytochrome b (cytb), 12S rRNA et la D-loop en utilisant respectivement les primers forward et reverse (Tab. 07).

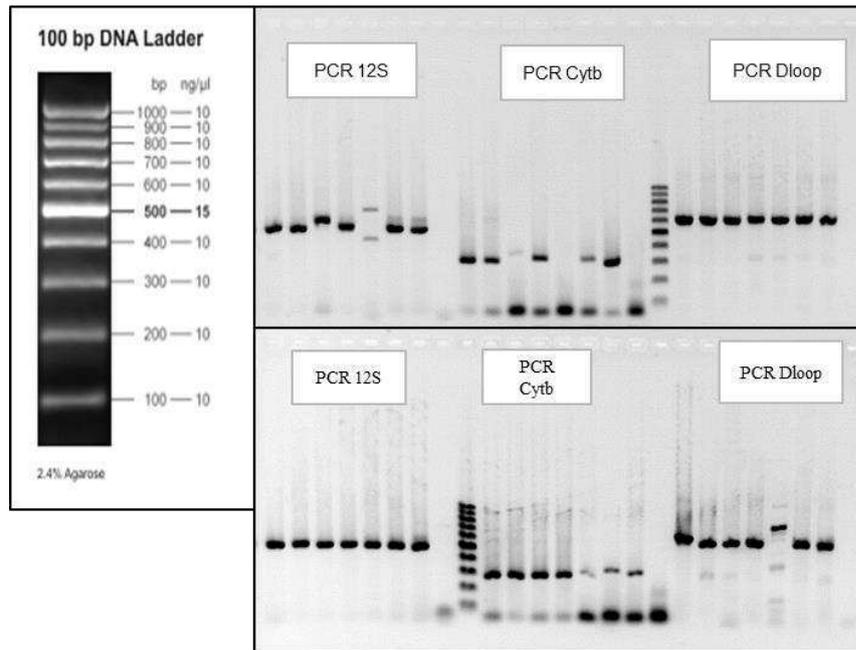
Les PCRs sont réalisés avec un volume final de 28 $\mu$ l :  
3 $\mu$ l de standard Buffer 10X, 0.9 $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub> 50mM, 0.6 $\mu$ l de primer 10 $\mu$ M (forward et reverse), 0.3 $\mu$ l de BSA 100X, 0.26 $\mu$ l dNTP 20mM, 0.26 $\mu$ l EUROBIOTAQ DNA pol 5U/ $\mu$ l et 22.09 $\mu$ l d'eau purifier, avec 2 $\mu$ l d'ADN sous les conditions et cycles du tableau 08.

**Tableau 08:** Séquences des primers et les conditions de PCR appliqués pour l'amplification des fragments d'ADN mitochondriaux. (Steinfartz et al. 2000 ; Beukema et al. 2010 ; Merabet et al. 2016)

Marqueur (Gène)	Primer	Séquences Primer (5'-3')	Conditions PCR
Cytb	SalaCytb Fwd  SalaCytb Rev	(5'- CTAATGACCCACATCCTTCGAAAAACA- 3')  (3'- TGGGAGTACGTATCCTACAAAGGCTG- 5')	94°C (300s) [ 94°C (30s), 48°C (45s), 72°C (60s)] x 35 cycles 72°C (300s)
12 S	12SAL Fwd  16SR3 Rev	(5'- AAACTGGGATTAGATACCCCACTAT-3')  (3'-TTTCATCTTCCCTTGCGGTAC-5')	94°C (300s) [ 94°C (45s), 52°C (45s), 72°C (90s)] x 33 cycles, 72°C (300s)
D-loop	L-Pro- ML Fwd  H-12S1- ML Rev	(5'-GGCACCCAAGGCCAAAATTCT- 3')  (3'-CAAGGCCAGGACCAAACCTTTA- 5').	94°C (300s) [ 94°C (30s), 60°C (45s), 72°C (80s)] x 36 cycles, 72°C (300s)

### 2.3.2.2.3 Vérification de l'amplification

Le contrôle de l'amplification des séquences se fait par la migration sur gel d'agarose à 1.3% dans du TAE 1X (Fig. 35). On dépose dans chaque puits 5µl de PCR mélangé avec 1µl bleu GelRed (colorant d'acide nucléique). La séparation se fait par une électrophorèse horizontale.



*Figure 35: Vérification de l'amplification de l'ADNmt par migration sur du gel d'agarose.*

### 2.3.2.3 Les logiciels utilisés

#### 2.3.2.3.1 Le séquençage

Après l'amplification de l'ADN sur du gel d'agarose, les échantillons ont été envoyés pour le séquençage chez la société BIOFIDAL à Lyon en France, avec les deux primers.

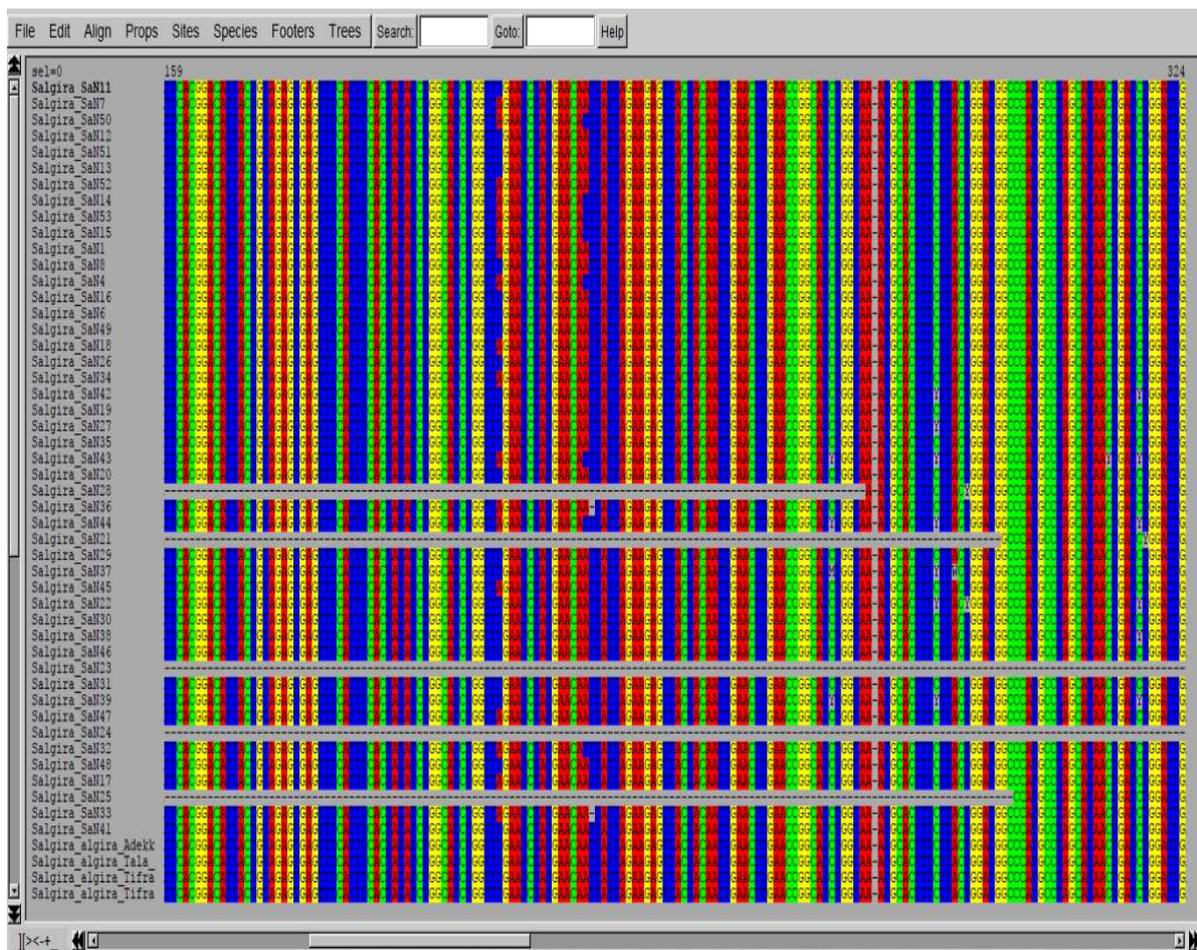
Pour la lecture des séquences, nous avons utilisé le logiciel « Finch TV » afin de prendre que les séquences valables.

#### 2.3.2.3.2 Alignement des séquences mitochondriales

Nous avons utilisé le logiciel « Seaview software 4.2.12 » (Gouy, Guindon and Gascuel, 2010) (Fig. 36), pour effectuer l'alignement et la comparaison des séquences cibles avec les séquences de référence de l'ADNmt. L'arrangement de certaines séquences a été réalisé directement à l'œil lorsque cela a été nécessaire.

Les séquences de références, des sous espèces marocaines et d'autres populations algériennes ont été obtenues de la banque génétique GenBank.

Une fois toutes les séquences alignées, nous procédons à la création de l'arbre « Maximum likelihood phylogenies », en utilisant PhyML (Version 3.0; Guindon et al., 2010) sous le GTR + G + I modèle d'évolution. L'estimation du support des branches a été effectuée à l'aide de LRT (Anisimova and Gascuel, 2006).



*Figure 36: Alignement des séquences dans le logiciel « Seaview ».*

### III. Résultats

Tous les résultats obtenus ont été issus du séquençage d'un seul gène D-loop. Le 12S ainsi que le Cytb n'ont pas été pris en compte et ce en raison de l'importance du gène (voir partie 1.2.3 du présent chapitre) mais également pour pouvoir comparer avec les séquences D-loop des autres populations.

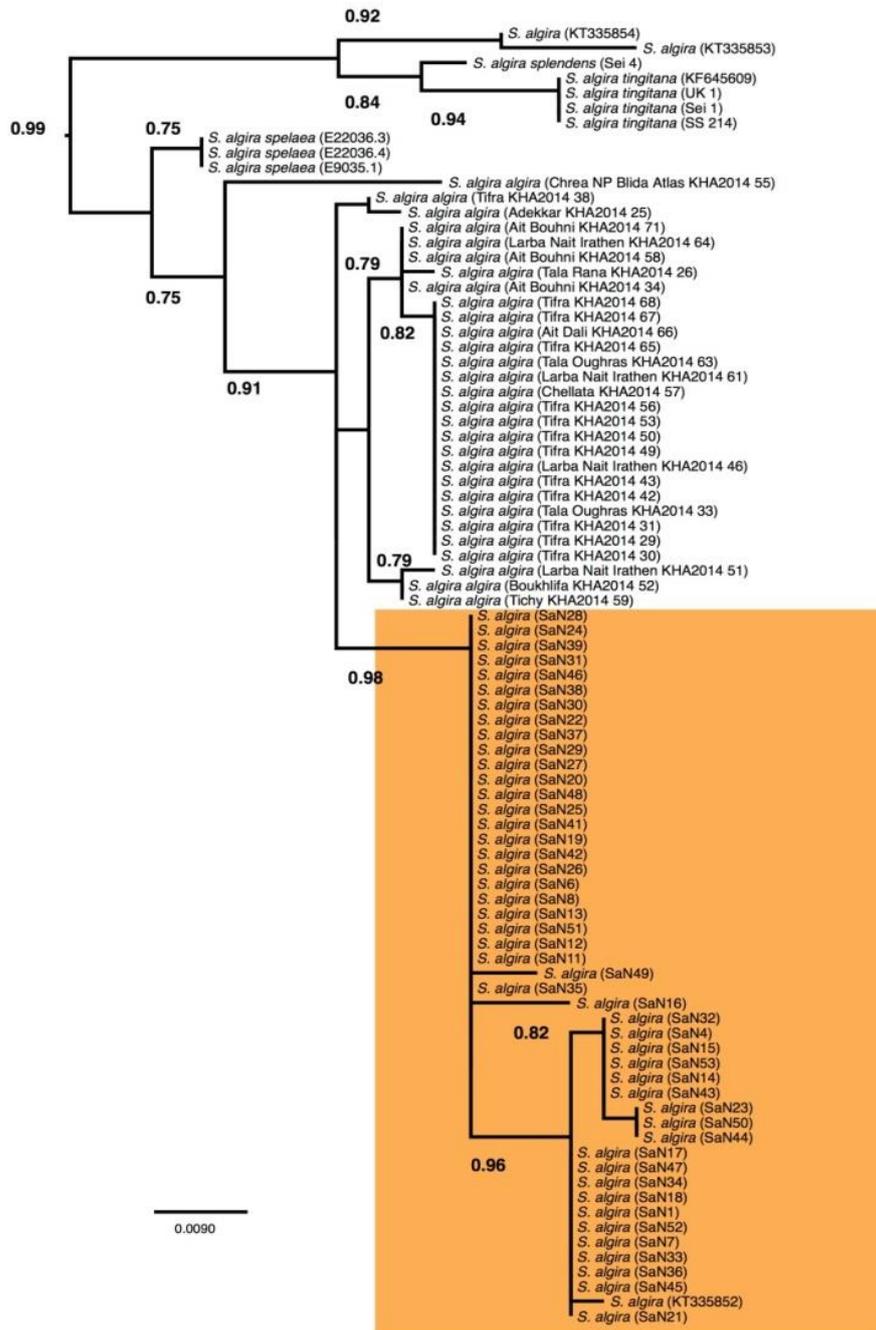
L'analyse d'un total de 87 séquences codées contenant 584 pb (paire de base) du gène mitochondrial D-loop (Fig. 37). 47 séquences représentent nos échantillons (provenant donc de 47 individus du Massif de l'Edough). Ces derniers ont été comparés avec d'autres populations algériennes provenant de la région centre et de la grande Kabylie (Merabet et al, 2016), mais également avec d'autres populations des sous-espèces marocaines (les séquences proviennent de GenBank).

Cette analyse a permis la construction d'un arbre phylogénétique regroupant toutes les espèces. On distingue deux clades majeurs :

1. Le premier inclut un groupe des deux sous-espèces marocaines *Salamandra algira splendens* et *Salamandra algira tingitana* qui se séparent en deux autres clades, ces espèces se situent à l'ouest de la rivière de Moulouya.
2. Le deuxième regroupe encore deux grands clades un pour la sous-espèce marocaine *Salamandra algira spelaea* habitant le Beni Snassen Massif ainsi que toutes les populations algériennes, qui se situent du côté oriental de la Moulouya.

Nos résultats confirmeraient les travaux de Merabet et al, (2016) et de Ben Hassine et al, (2016).

Les populations algériennes sont monophylétiques, et se révèlent être génétiquement homogènes. Cependant, notre arbre montre une différenciation légère mais considérable et classe l'échantillon de Chrea en un clade séparé des autres échantillons (de Kabylie et le Massif d'Edough). Le cladogramme reflète en général la géographie d'habitats favorables. Tandis que la distance géographique entre notre population et les autres populations algériennes pourrait expliquer la distance génétique. Nos données expriment un léger isolement des autres populations.



**Figure 37** : Arbre phylogénétique d'ADNm de *Salamandra algira* du segment Dloop, par l'utilisation du logiciel PhyML (584 pb). (Bouزيد et al, 2017).

#### IV. Discussion

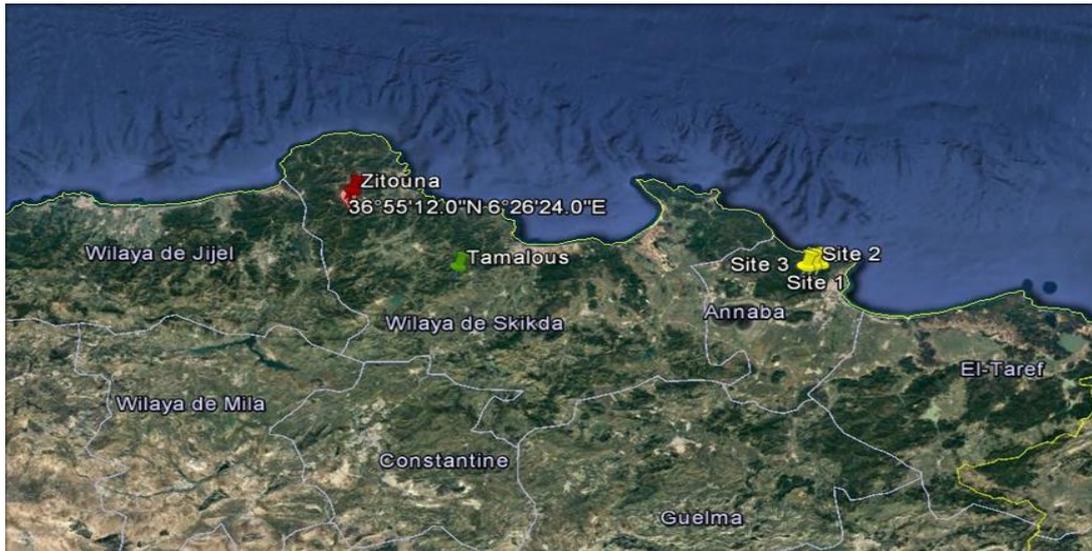
Dans ce chapitre, nous avons réalisé une étude phylogénétique sur une population de salamandre dans une partie de la péninsule de l'Edough, la région de Séraïdi. La population est représentée par un échantillon de 52 individus. Les résultats de 87 séquences codantes de 584pb, confirment que notre population appartient bien à la sous-espèce « *Salamandra algira algira* », de même que les autres populations algériennes (Merabet et al, 2016).

La répartition de la salamandre en Algérie était considérée comme discontinue, rapporter à l'est dans Djebel Edough à Annaba (le premier site de sa découverte en Algérie), en Kabylie, au centre à Blida et à l'ouest à Oran (Doumergue, 1901). Néanmoins, dans la région ouest, sa présence n'est à ce jour pas confirmée. Notre population de l'Edough représente la limite Est de sa distribution, mais les résultats de l'arbre phylogénétique ne confirment pas le caractère isolé de la région par rapport aux autres populations Algériennes (Fig. 37).

Selon les récentes publications, *Salamandra algira algira* aurait une distribution continue dans la région Est, de l'Edough jusqu'en Kabylie (Annaba, Skikda, Collo, Jijel, Bejaia). En effet, les points d'occurrence les plus proches de la région de notre étude Séraïdi, se situent dans des villages non loin de la ville de Skikda (Escoriza et Ben Hassine, 2014a, Merabet et al, 2016b) et s'étendent à plus de 180 km. (Fig.38).

Lors de nos recherches, nous n'avons pas retrouvé des adultes ailleurs qu'à Séraïdi, cependant, notre population n'est pas représentative de toute la région de l'Edough, ce dernier s'étend sur une distance d'au moins 80 km : la présence d'autres populations dans la région nord de l'Edough (Cap de fer) ne serait pas impossible et serait probable.

La distribution de la salamandre dans le Nord-est semble être continue (Ben Hassine et al, 2016 ; Merabet et al, 2016a, b, Bouzid et al, 2017). Les analyses génétiques de notre population sont en accord avec les résultats des études précédentes de Merabet et al, (2016) et Ben Hassine et al, (2016), pour confirmer le caractère monophylétique des populations algériennes sous la nomenclature de la sous-espèce « *Salamandra algira algira* ».



**Figure 38:** Distance entre nos sites et ceux de Merabet et al, 2016b (en vert) et de Escoriza et Ben Hassine, 2014c (en rouge).

La distance génétique par rapport aux autres populations algériennes n'était pas suffisante pour soutenir l'hypothèse d'isolement à long terme. Le caractère fossile de l'Edough et son endémisme marqué chez les végétaux et le pleurodèle de Poiret ne semble pas toucher la Salamandre.

L'échantillon algérien le plus éloigné de notre population, est celui de Chrea, dans les hauteurs de Blida (Merabet et al, 2016). Classé dans un clade séparé des autres populations algériennes (Fig. 37) il semblerait être l'échantillon le plus distant génétiquement des autres. Les différences phylogéographiques entre les régions Est et Ouest, peuvent s'expliquer par l'existence de barrières naturelles (tels les grandes vallées, les rivières, les oueds ou encore les grandes chaînes montagneuses notamment le Rif au Maroc et l'Atlas en Algérie). Ces barrières limitent le flux de gène et isole les populations (barrières génétiques), nous pouvons citer la Vallée de la Moulouya près des frontières algéro-marocaines, qui isole les populations de la sous espèce de *S. a. spelaea* et les populations algériennes *S. a. algira* (Escoriza et al, 2006 ; Beukema et al, 2013 ; Ben Hassine et al, 2016 ; Merabet et al, 2016).

En Algérie, la région de la Kabylie pourrait former une barrière entre les populations (Dinis et al, 2018) du Nord-est et centre et/ou Nord-ouest, chez certaines espèces d'Amphibiens (*Pelophylax saharicus*,) (*Hyla meridinalis*) (Beddek et al, 2018). Ce qui expliquerait le classement de l'échantillon de Chréa, en un clade séparé. Toutefois, il est difficile d'après nos

analyses phylogénétiques de démontrer ou de parler d'une divergence génétique, toujours est-il, nous pouvons confirmer qu'il en ressort un certain isolement. Malgré leur grande homogénéité, les échantillons de la région de Séraïdi ont présenté une structure en deux sous-clades, mais cette structure ne semble pas correspondre à un facteur géographique.

L'arbre phylogénétique classe nos individus en trois groupes, en dépit de la faible distance qui les sépare. Ces résultats confirment ceux publiés par Ben Hassine et al. (2016) pour des échantillons provenant de la même région. Ceci pourrait probablement être une adaptation à une influence environnementale ou un taux de mutation d'interpopulation faible.

Le clade de *S. a. algira* est le groupe sœur de *S. a. spelaea* trouvé dans les Montagnes Beni-Snassen du côté oriental de la rivière Moulouya au Maroc (Escoriza et Comas, 2007 ; Beukema et al, 2010 ; Ben Hassine et al, 2016 ; Merabet et al, 2016, Bouzid et al, 2017). Il serait intéressant de chercher l'espèce à l'Ouest du pays (région Oranaise et Tlemcenienne) afin de compléter la phylogéographie de l'espèce au Maghreb.

Inféodée aux zones montagneuses humides du nord du pays, l'existence de *Salamandra algira* est étroitement liée aux paramètres climatiques (principalement les précipitations et l'humidité) nécessaires à ses exigences physiologiques. Ces facteurs limitants de la distribution de l'espèce, jouent un rôle crucial dans la productivité de la végétation, générant des habitats au microclimat propice à la reproduction.

La végétation du massif d'Edough est à affinité européenne, méditerranéenne et tropicale (Hamra-Kroua, 2005), C'est une véritable mosaïque de milieux diversifiés, façonnée par l'action combinée du climat et du réseau hydrologique dominé par le chêne liège *Quercus suber* et le chêne zeen *Quercus canariensis*. Ces forêts fournissent les conditions appropriées pour la présence des salamandres.

Nous avons observé l'espèce dans l'Edough à partir de 200 m d'altitude et jusqu'à 1000 m, en effet, les salamandres ne sont pas des espèces aquatiques, c'est-à-dire qu'elles se noient dans l'eau. Elles pondent les larves dans des cours d'eau peu profonds (d'une profondeur moyenne de 24.5 cm) d'où son besoin d'un taux important d'humidité et d'un air frais avec des températures douces de l'automne. Ces conditions sont nécessaires à sa reproduction et à sa survie (Escoriza et Ben Hassine, 2015). Néanmoins, des études écologiques plus approfondies devraient améliorer nos connaissances sur les conditions spécifiques qui déterminent la présence de *Salamandra algira algira*.

## CHAPITRE III

ETUDE DES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE  
D'UNE POPULATION DE « *Salamandra  
algira algira* » DE L'EDOUGH, PAR LA  
METHODE SQUELETTOCHRONOLOGIE



## Contexte et objectifs

Etudier la démographie d'une population à travers la simple détermination de sa structure d'âge peut être très intéressante car elle fournit des données importantes qui permettent de comprendre d'autres aspects de l'espèce tel que : son écologie et l'évaluation de certains traits de vie (le taux de croissance, le taux de survie à l'âge adulte, la longévité et la maturité sexuelle).

La structure d'âge est un outil essentiel pour l'étude de la dynamique des populations. Ses résultats sont aussi pertinents pour l'utilisation de stratégies dans la biologie de la conservation. Les méthodes utilisées actuellement pour l'estimation des âges chez les Amphibiens sont principalement : la capture marquage-recapture (CMR) et la « squelettochronologie ».

Actuellement, cette technique est considérée comme la méthode la plus fiable et la plus utilisée chez les Amphibiens (Castanet et Smirina, 1990). En effet, en plus de sa fiabilité, elle présente deux principaux avantages (i) : le gain de temps contrairement à la CMR qui nécessite la connaissance de l'âge au début du suivi, de marquer les individus et un suivi sur plusieurs années. (ii) : elle ne nécessite pas le sacrifice de l'animal.

D'après les multiples études réalisées dans ce domaine, c'est sur les Amphibiens qu'elle offre les meilleurs résultats. Cela est dû à la structure particulièrement simple et homogène de leurs longs os généralement avasculaires, et les LACs (ligne d'arrêt de croissance) sont souvent bien contrastées (Castanet, 2002).

La première information qui résulte de l'analyse des marques de croissances squelettiques est sans doute l'estimation de l'âge individuel. En plus de cette donnée basique, la squelettochronologie constitue un moyen efficace d'appréhender rapidement, certains aspects de la structure temporelle de l'organisme (âge, âge à maturité sexuelle, vitesse de croissance, longévité). Les données obtenues par cette méthode pourraient être utilisées de façon comparative entre populations intraspécifiques dans des perspectives adaptatives, voire évolutionnistes.

C'est le cas pour ce qui concerne : l'étude des stratégies de croissance et de reproduction des populations, de leur démographie (Miaud et al, 1999, 2000), de la plasticité phénotypique en liaison avec les conditions de vie (Augert et Joly, 1993 ; Alcobendas et Castanet, 2000 ; Miaud et al, 2001 ; Bruce et al, 2002), des phénomènes d'allo- et d'hétérochronies de développement (Caetano et Castanet, 1993 ; Denoël et Joly, 2000) ou encore des phénomènes de colonisation

(Joly et Grolet, 1996) ou de migration entre sites de reproduction (Miaud et al, 1993) (In Castanet, 2002).

L'âge et la taille des individus sont deux caractéristiques standards utilisées par de nombreux chercheurs pour expliquer les traits d'histoire de vie. En effet, ces traits sont sous l'influence de plusieurs facteurs tel que les conditions climatiques, les ressources trophiques, les propriétés métaboliques, les modalités de reproduction et la compétition interspécifique (Miaud et al, 2001).

La relation entre l'âge et la taille est étroitement liée à la maturité sexuelle, car l'allocation des ressources est différente ; l'investissement de l'énergie dans la reproduction est plus important que dans la croissance. La maturité sexuelle chez les Amphibiens est spécifique au sexe (le phénomène de la bimaturité sexuelle) et n'affecte pas seulement le schéma de croissance général, mais aussi le degré de dimorphisme sexuel de taille (SSD), (Reinhard et al, 2015b). Chez nos vertébrés, la différence de taille et de certains autres traits entre les 2 sexes, avantage le plus souvent la femelle. Effectivement, chez les Urodèles 56% des espèces présentent un SSD en faveur des femelles et 15% pour les mâles, quant aux Anoures il est de 90% (Kupfer, 2007).

Aujourd'hui, la méthode de squelettochronologie est d'un intérêt incontestable, en particulier pour les recherches en écodémographie des populations. Pour autant, l'analyse des marques de croissance ne doit pas être considérée comme une technique de simple routine. Ces structures, largement dépendantes de facteurs externes pour leur expression, font partie intégrante d'un système biologique - l'os - présentant une diversité structurale variée et multidéterminée (Castanet, 2002).

Dans le présent chapitre, nous appliquons la méthode de squelettochronologie sur l'Urodèle « *Salamandra algira algira* » en Algérie. L'étude de la structure d'âge de cette population est complémentaire du précédent chapitre et contribue à la compréhension de l'écologie de cette espèce. De ce fait, à travers cette étude, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Déterminer les traits d'histoire de vie de notre population : la structure d'âge, la croissance et la longévité. En corrélant l'âge avec la taille et la masse.
- Etude morphologique et dimorphisme sexuel de taille.
- Description du phénotype de la salamandre de l'Edough par l'étude du modèle de coloration.

## **Chapitre III : Etude des traits d'histoire de vie d'une population de « *Salamandra algira algira* » de l'Edough, par la méthode squelettochronologie.**

### **I. Qu'est-ce que la squelettochronologie ?**

La squelettochronologie est une pratique histologique, analogue à la dendrochronologie, qui consiste à déterminer l'âge d'un arbre à partir des cernes observés sur une section de son tronc. Connue vers la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, notamment chez les poissons par les travaux de Baudelot (1873), elle consiste à utiliser les marques répétées présentes à la surface ou dans les tissus squelettiques des animaux afin d'estimer leur âge individuel. Le terme « Squelettochronologie » est appliqué pour la première fois par Castanet et al. (1977) chez les Reptiles et Amphibiens.

#### **1.1 Histomorphologie**

L'ensemble de la structure osseuse de la phalange se compose de deux types d'os :

- L'os périostique, à croissance centrifuge, se dépose autour de la cavité médullaire tout au long de la croissance de l'animal. C'est ce type d'os qui renferme les LACs et indique le patron de croissance et l'âge de l'individu (Castanet 1975, 1978 ; Francillon 1979 ; Castanet et al. 1992).
- L'os endostéal, par contre, se dépose de la périphérie de la cavité médullaire vers le centre géométrique de celle-ci (dépôt centripète) (Francillon 1979, 1980). Ce type d'os se dépose de façon irrégulière, conjointement à la résorption partielle de l'os périostique, du moins chez la plupart des espèces d'Amphibiens étudiés (Francillon 1979 ; Guyétant et al. 1984) (In Laurin, 1994)

#### **1.2 Formation des lignes d'arrêt de croissance LACs**

La structure histologique des marques de croissances périodiques est l'expression de vitesses différentielles d'ostéogénèse (Castanet et al. 1993). Classiquement on distingue les zones : couches relativement épaisses, formées d'une matrice osseuse peu organisée, liée à un dépôt osseux rapide. Lorsque la vitesse d'ostéogénèse diminue temporairement (quelques

semaines à quelques mois), c'est un **annulus** qui se forme : couche relativement étroite d'os bien organisé, structuralement distincte de l'os irrégulier des zones.

Un arrêt complet momentané de l'ostéogenèse (quelques semaines au moins) conduira à la mise en place d'une **ligne d'arrêt de croissance (LAC)**, "simple interface" marquant une discontinuité structurale de faible épaisseur (1 à 2  $\mu\text{m}$ ) entre deux zones.

Une LAC peut ou non être associée à un annulus. Ce sont les LACs qui, très chromophiles, seront prises en compte pour l'estimation de l'âge individuel. Par leur simple variation microstructurale, les zones, les annulus et/ou les LACs, expriment une alternance répétée de vitesses d'ostéogenèse différentes, liées à un rythme défini de croissance. (Castanet, 2002)

La présence des marques de croissances squelettiques **MCS** chez des animaux vivants dans des conditions environnementales relativement constantes, naturelles (Castanet et Gasc, 1986 ; Pantharatna et al. 2000 ; Kumbar et Pantharatna, 2001) ou expérimentales (Castanet, 1985), laisse penser que ces formations résultent d'un déterminisme endogène, c'est-à-dire interne à l'organisme, comme la plupart des rythmes biologiques connus. Cependant sous l'influence de variations climatiques bien contrastées, dues à l'altitude et/ou à la latitude, les MCS apparaissent en général plus distinctement.

À un même stade ontogénétique, une saisonnalité peu marquée induira seulement un ralentissement de l'ostéogenèse (annulus), tandis que des saisons contrastées se traduiront par des LACs c'est-à-dire des arrêts complets de la croissance osseuse en épaisseur (Esteban et al. 1996). En résumé, on admet actuellement que *les MCS sont l'expression de rythmes endogènes, synchronisés et amplifiés par le rythme des saisons.*

La squelettochronologie s'impose désormais comme un outil opérationnel et performant, indispensable à la connaissance de nombreux traits d'histoire de vie individuelle. Il en résulte un intérêt considérable pour les recherches en éco-démographie comparée des populations actuelles et fossiles. (Castanet, 2002)

Les résultats obtenus par diverses études d'espèces d'Amphibiens (Hemelaar 1986) et de Reptiles (Castanet et al. 1997, Duarte-Varela et Cabrera 2000), montrent qu'une zone et une LAC se forment effectivement chaque année. Des études expérimentales à l'aide de marqueurs fluorescents des tissus minéralisés, confirment également ce résultat chez la plupart des Amphibiens et Reptiles non aviens étudiés jusqu'ici.

Cette technique a de plus permis de montrer que chez les espèces de climats tempérés, les LACs se forment pendant l'hiver, les zones se déposent en alternance pendant la période de vie active, hivernale et estivale (Smirina 1972 ; Castanet 1985 ; Castanet et al. 1997).

En résumé, tant par leur signification structuro-fonctionnelle, que par leur déterminisme et leur périodicité, les MCS sont potentiellement des structures permettant une mesure fiable et directe du temps qui s'écoule. Elles autoriseront donc en principe la restitution à posteriori des traits d'histoire de vie ainsi enregistrés et sauvegardés dans les tissus durs des vertébrés.

### **1.3 Dédoublement des lignes d'arrêt de croissance**

La présence de LAC dédoublées, (deux LACs très rapprochées relativement à celles situées de part et d'autre) n'est en général pas facile à interpréter, surtout lorsqu'il s'agit d'un phénomène occasionnel et limité à quelques individus. Cependant, tel n'est pas toujours le cas. Au cours de l'étude des populations de *tritrus marmoratus* du Portugal par Caetano et al. (1985), ils ont découvert que la plus grande partie des tritons d'altitude élevée présentaient presque systématiquement toutes leurs LACs dédoublées, contrairement à ceux des stations moins hautes. Une telle disposition différentielle conduit à supposer a priori l'existence d'un double cycle annuel d'activité et d'arrêt de croissance pour les animaux d'altitude (Castanet, 1988).

### **1.4 La mise en œuvre de la méthode**

D'une façon générale, c'est sur des coupes transversales diaphysaires d'os longs que l'analyse squelettochronologique est la plus efficace. La raison principale en est que sur ces sections les marques de croissance présentent un modèle géométrique simple. Les LACs apparaissent en effet comme des lignes circulaires plus ou moins concentriques, régulières et fermées, permettant des mesures précises de leur taille.

En pratique, chez les Amphibiens, les lézards et les tortues, on utilisera des coupes osseuses d'environ 15  $\mu\text{m}$  d'épaisseur (coupes à "congélation" ou à la "paraffine") colorées par une hématoxyline.

L'avantage est évidemment de ne pas avoir à sacrifier les animaux pour estimer leur âge. La simple amputation d'un doigt, généralement sans conséquence pour la survie, suffira.

L'échantillonnage inclura des adultes et des juvéniles, ces derniers étant indispensables pour effectuer un éventuel rétrocalcul.

La "lecture" des MCS sera effectuée par au moins deux personnes ayant sensiblement la même expérience de la méthode ou, à défaut, deux fois par la même personne après un certain délai. Dans les deux cas, les résultats seront confrontés en vue d'une estimation consensuelle. Les individus pour lesquels l'estimation du nombre de LACs dépassera  $\pm 1$  seront rejetés de l'estimation de l'âge (comme s'ils n'avaient pas été capturés), mais pris en compte pour apprécier l'erreur globale commise dans l'analyse (Castanet, 1988 ; 2002).

### **1.5 Variations interpopulationnelles et intersexuelles de la longévité écologique des animaux**

Si la possibilité d'évaluer l'âge individuel par dénombrement des marques histologiques enregistrées dans les tissus squelettiques en croissance constitue un des avantages majeurs de la squelettochronologie, il est clair que l'acquisition de cette information ne conduit à des résultats biologiquement intéressants qu'à l'échelle d'un échantillon suffisamment important et représentatif des individus de la population dont il provient. Dans ce cas, l'âge à la maturité sexuelle et la longévité des individus d'une population peuvent aussi être estimés (Castanet et al, 1987).

En outre, lorsqu'il est possible d'effectuer une analyse squelettochronologique sur plusieurs populations conspécifiques, la comparaison des résultats débouche sur des informations supplémentaires appréciables.

Il ressort déjà clairement que la squelettochronologie permet, en première analyse, des déductions appréciables sur des paramètres biologiques fondamentaux (longévité, croissance, âge à la maturité sexuelle) et leur fluctuation dans le temps en fonction des caractéristiques intrinsèques des animaux (sexe), ainsi que des conditions de milieu dans lesquelles ils vivent (Castanet, 1988).

### **1.6 Longévité et maturité sexuelle**

Les salamandres ont démontré une longévité importante en captivité (Böhme, 1979). En milieu naturel, connaître l'âge des individus est possible grâce à deux méthodes : la squelettochronologie et par la méthode de capture-marquage-recapture. Il peut être donc possible d'attribuer un âge précis aux plus jeunes individus.

Sur des coupes d'individus plus âgés les dernières LACs sont de plus en plus rapprochées les unes des autres et contrastent ainsi avec les premières LACs qui sont plus espacées. Cette opposition permet de situer dans le temps l'acquisition de la maturité sexuelle. Après cette dernière, la croissance se ralentit (Castanet, 1988).

L'étude d'une population de salamandre au Portugal par Rebelo et Caetano, (1995), par coupe de phalanges, situe la maturité sexuelle chez les mâles entre 2-3 ans et chez les femelles entre 3-4 ans (Catenazzi, 1998).

## 1.7 Résorption endostéale

Les premières LACs formées correspondant aux premières années peuvent disparaître, on observe une érosion à la surface de la cavité médullaire dite résorption endostéale. Elle attaque la couche d'os périostique la plus ancienne, réduisant ainsi l'épaisseur de la diaphyse. Cet agrandissement de la lumière d'os a pour conséquence de compliquer la lecture des coupes pour la détermination de l'âge.

Lorsque la résorption s'arrête, un processus de dépôt endostéal peut se produire (croissance centripète), séparé de la couche périostique par une ligne chromophile appelée ligne de résorption. Cette ligne, souvent très sinueuse, témoigne donc d'une érosion qui a entamé les couches concentriques parallèles de l'os périostique (Francillon-Vieillot, 1987). Le dépôt endostéal secondaire enregistre lui aussi les LACs. Cependant, l'examen de nombreuses coupes d'animaux d'âges différents, ainsi que les mensurations moyennes des LACs visibles permettent d'évaluer dans la plupart des cas, le nombre de LACs ayant disparue (Castanet, 2002).

### 1.7.1 Destruction des premières LAC formées

Par suite de résorption osseuse en périphérie de la cavité médullaire, un certain nombre des premières LACs formées sont parfois totalement détruites. Cette difficulté conduit à sous-estimer l'âge individuel mais elle peut souvent être contournée à l'aide d'un « rétrocalcul » (Leclair et Castanet, 1987 ; Castanet, 1988).

Toutefois, l'intensité de la résorption endostéale se révèle être, dans bien des cas, un caractère sexuel, populationnel, spécifique ou génétique. Nous pouvons citer l'exemple qui soutient ses propos, chez *Bufo bufo* en France (Smirina, 1983 ; Hemelaar, 1986) ont mis en évidence un dimorphisme sexuel relativement à l'intensité de la résorption endostéale et cela

quelles que soient les populations étudiées : la résorption est toujours plus importante chez les femelles que chez les mâles.

Le degré de résorption caractéristique de chaque population, constitue un critère pour leur identification (Castanet, 1988).

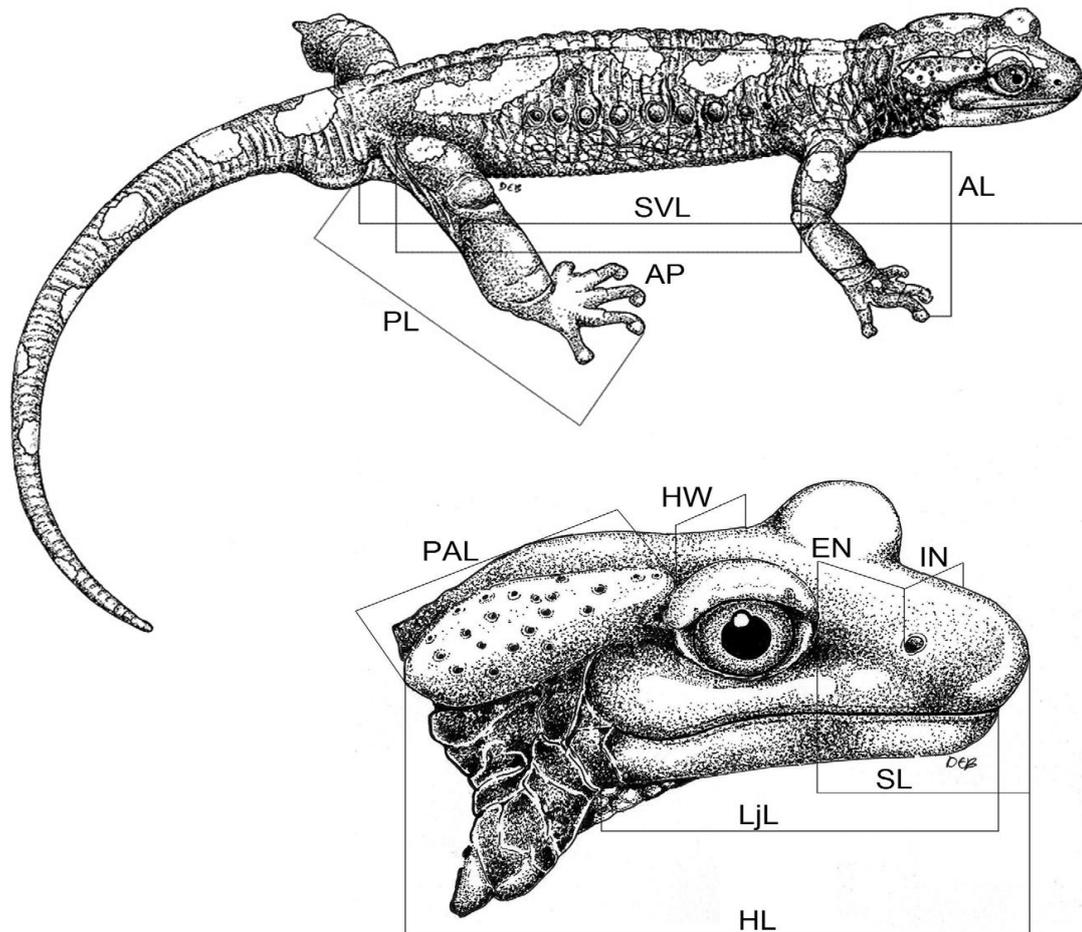
### **1.7.2 Croissance différentielle des divers éléments squelettiques**

Pour des raisons évidentes de protection des espèces, il est souvent préférable de pratiquer l'analyse squelettochronologique sur les phalanges, que l'on peut obtenir par amputation sans traumatisme majeur pour les animaux. L'amputation permet en outre, un repérage des individus dans la nature. Selon Halliday et Verrell, (1988), la squelettochronologie est une méthode fiable pour évaluer l'âge chez les Amphibiens, principalement chez les espèces tempérées. L'utilisation de cette méthode a montré comment les différents traits de vie des populations des altitudes ou des contextes environnementaux différents peuvent être marqués par des différences de longévité, d'âge et de taille à la maturité sexuelle et dans les relations entre la taille et le taux de croissance (Berven, 1982 ; Hemelaar, 1988 ; Caetano et Castanet, 1993 ; Diaz-Paniagua et Mateo, 1999 ; Kutrup et al., 2005).

Les premières études squelettochronologiques ont examiné les os du crâne (Senning, 1940), des sections d'humérus et/ou de fémur (Smirina et Rocek, 1976 ; Francillon, 1979 ; Guarino et al., 1995). Chez les Anoures et les plus grands Urodèles, l'utilisation des phalanges est préférentiellement utilisée (Gittins et al., 1982 ; Gibbons et McCarthy 1983 ; Hemelaar, 1985 ; Acker et al., 1986 ; Reading, 1991 ; Flageole et Leclair, 1992 ; Semlitsch et al. 1993 ; Guarino et al., 2003) excluant la nécessité de sacrifier des animaux et de rendre ainsi la technique compatible avec les enquêtes de recapture de marques.

### **1.8 Les mesures morphométriques et dimorphisme sexuel de taille**

La salamandre algire est un urodèle au corps fin d'une longueur qui peut atteindre les 260 mm (pour les sous-espèces du Maroc). Sur le terrain, une fois le spécimen est capturé, il est de suite mesuré avec un pied à coulisse. Les mesures sont prises suivant les études morphologiques précédentes (Fig. 39) sur la *S. algira* (Escoriza et Comas, 2007 ; Beukema et al., 2013).



**Figure 39:** Les mesures morphométriques prises sur les Salamandres. D'après Beukema et al, 2013.

Les mesures prises en comptes : snout-vent length (SVL), prise depuis le début du museau jusqu'au début du cloaque ; tail length (TL) prise du bord antérieur du cloaque jusqu'à la fin de la queue ; anterior arm length (AL) mesurée depuis l'insertion du corps jusqu'à la pointe du troisième doigt ; posterior limb length (PL) prise de l'insertion du corps à la pointe du troisième orteil ; (AP) distance entre l'extrémité arrière du membre antérieur et l'extrémité antérieure du membre postérieur ; head length (HL) du bord postérieur de la glande parotide à l'extrémité du museau ; head width (HW) mesuré au bord antérieur des glandes parotoïdes ; (PAL) longueur de la parotide à partir du bord avant de la parotide à l'extrémité arrière de la parotide ; lower jaw length (LjL) mesurée de la commissure orale à la partie antérieure de la mâchoire ; snout length (SL), mesuré de l'extrémité antérieure de l'œil à l'extrémité antérieure du museau; distance entre l'œil et la narine mesurée de l'extrémité antérieure de l'œil à la narine (EN); distance entre les deux narines (IN).

Le dimorphisme de taille sexuelle a été calculé uniquement sur la longueur du corps. Nous avons utilisé l'indice de dimorphisme sexuel (SDI) de Lovich et Gibbons (1992) basé sur le simple ratio de la moyenne de SVL du plus grand sexe et divisé par la moyenne de SVL du sexe inférieur, le résultat étant arbitrairement déclaré positif lorsque les femmes sont plus grandes que les hommes.

$$\text{SDI} = \left( \frac{\text{Svl of largest sexe}}{\text{Svl of smallest sexe}} \right) - 1$$

## II. Matériels et méthodes

### 2.1 Les manipulations sur terrain

Toutes les captures ont été réalisées entre Septembre et Mars. La méthode de capture est la même que celle utilisée précédemment dans le second chapitre (voir la partie 2.3 de matériels et méthodes).

#### 2.1.1 Détermination du sexe

Au cours de ces sorties, plusieurs individus ont été capturés (adultes et juvéniles). La détermination du sexe s'est basée sur les caractères sexuels secondaires externes (Tab. 09). Les juvéniles ne présentent pas de caractères morphologiques externes, ils sont classés par leur taille inférieure à 120 mm.

**Tableau 09:** *Caractères sexuels externes chez Salamandra algira algira (Rebelo et Leclair, 2003)*

Caractères	Mâle	Femelle
Forme des membres antérieurs	Larges, et un gonflement bien apparent.	Des membres fins
Forme du cloaque	Gonflé	Plate
Forme du corps	Svelte	Large, et un ventre gonflé

#### 2.1.2 Anesthésie et prélèvement de l'orteil

Une fois capturés, les individus sont disposés sur une plaque en polyester, et anesthésiés par l'utilisation d'une pommade (ANESDERM gé 5% de lidocaïne) appliquée au niveau du ventre (zone d'absorption des Amphibiens et donc une réaction plus rapide) (Fig. 40). Ceci nous facilite leur manipulation qui se ferait avec précision et sans douleur pour l'animal.

Remarque : L'anesthésie est faible et ne dure que quelques minutes.

Le plus long orteil est sectionné avec des ciseaux stérilisés et désinfectés à la Bétadine et à l'alcool. L'orteil est conservé dans des tubes eppendorfs contenant de l'éthanol à 90% pour l'analyse squelettochronologique.

Nous nettoyons la petite plaie de l'animal avec de la bétadine et nous exerçons une petite pression afin de stopper l'écoulement sanguin.



*Figure 40: Manipulation sur terrain : anesthésie et amputation de l'orteil.(Bouzid, 2015)*

### **2.1.3 Mesures morphométriques**

Les mensurations morphométriques sont réalisées avec un pied à coulisse numérique Mastercraft 58-6800-4 à 0.02 de précision (toutes les mesures sont prises par la même personne). La pesée de l'animal est effectuée avec une balance Tanita modèle 1479.

De multiples photographies de toutes les parties du corps du spécimen sont prises pour l'étude de la coloration : faces latérales, ventrale, dorsale, la tête et les membres, et ce pour chaque individu. Dès la fin des manipulations, l'individu est remis à sa place, et dans le cas où ce dernier reste inconscient, on procède à un simple lavement ventral à l'eau fraîche.

Toutes les manipulations et prélèvements ont été réalisés sur le terrain et les animaux ont été remis et relâchés au même endroit de leur capture (milieu naturel).

## **2.2 Manipulation au laboratoire**

Une fois tous les échantillons prélevés, et conservés pour être manipulés au niveau du LEHNA « Laboratoire d'Ecologie et des Hydrosystèmes Naturels et Anthropiés » à l'université Claude Bernard, Lyon 1 en France.

La préparation des coupes d'os passe par de nombreuses étapes (Fig. 41), on procède d'abord au rinçage : les phalanges sont disposées dans des piluliers contenant de l'eau et soumises à une agitation d'une durée de 24h afin d'éliminer l'éthanol des tissus.

Sous un binoculaire, on enlève la peau de la première partie de la phalange pour obtenir un os le plus propre possible (Fig. 41). La décalcification des phalanges est effectuée à l'acide nitrique le  $\text{HNO}_3$  à des pourcentages (0.5%, 1% et 3%) et à des durées variantes (entre 15 min et 1 heure) cela dépendra de la taille de l'orteil. On rince une seconde fois pour éliminer les traces du  $\text{HNO}_3$  (agitation dans de l'eau), et dès que l'os est assez mou, on procède à la coupe.

La réalisation des coupes transversales se fait au niveau de la zone diaphysaire grâce à un microtome à congélation. L'épaisseur des coupes est variable et est choisie en fonction de la taille de l'os (entre 18 et 20  $\mu\text{m}$ ).

Les coupes sont colorées par immersion dans de l'hématoxyline d'Ehrlich pendant 5 minutes (Miaud 1990, 1992) ce qui va permettre de colorer et faire ressortir les lignes d'arrêt de croissance.

Le montage des coupes entre une lame et une lamelle dans de l'aquamount, en alignant les coupes. La lecture pourra se faire après séchage, par trois personnes séparément pour minimiser les erreurs et être d'accord sur l'âge de chaque individu.



**Figure 41:** *Les différentes étapes de la préparation des coupes de phalanges : (A) préparation de l'orteil, (B) décalcification, (C) coupe au microtome de congélation, (D) coloration.*

### 2.3 Traitements des données

Afin de déterminer l'âge des individus de la population de salamandre, on a procédé à la lecture des coupes sous un microscope. Nous avons utilisé un microscope muni d'un logiciel de photographie. Pour les analyses statistiques, nous avons testé la normalité des données par l'utilisation du test de normalité Shapiro-Wilk. Un test t pour les mesures morphologiques, et une ANCOVA avec le SVL comme variable continue (Reinhard et al, 2015a), pour toute les corrélations, nous avons utilisé le coefficient de corrélation de Pearson.

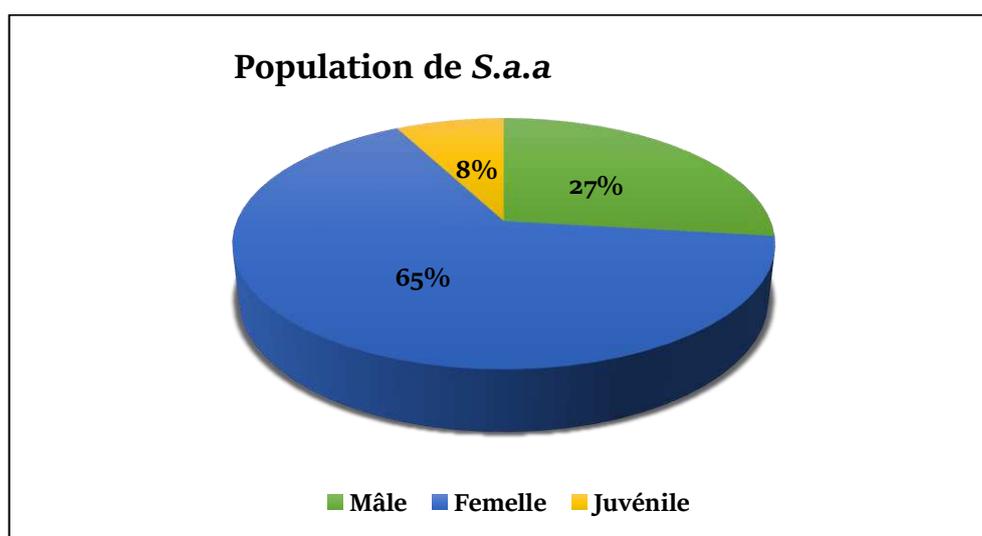
Les résultats statistiques sont traités avec le logiciel statistique R, SPSS et Excel.

### III. Résultats

#### 3.1 Sexe ratio

Notre population constituée de 52 individus, représentée essentiellement par des adultes (Fig. 42) dont 65% sont des femelles contre 27% de mâles.

Les juvéniles ne représentent que 8%. Du fait de leur faible effectif (n=4) nous avons jugé qu'il n'était pas représentatif et donc a été exclu des résultats.

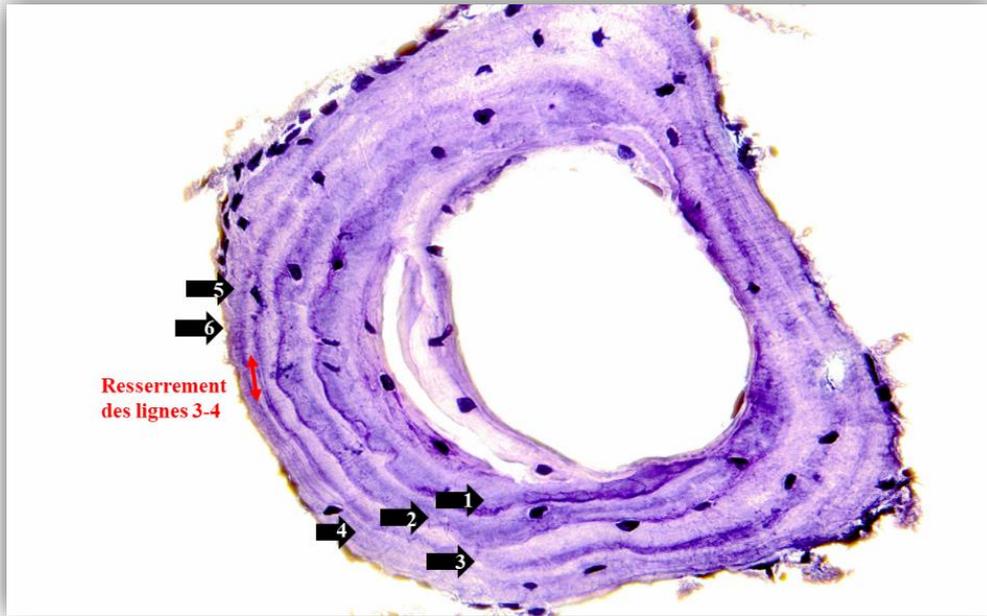


*Figure 42: Répartition des sexes de la population, N=52.*

#### 3.2 La maturité sexuelle

La maturité sexuelle est déterminée par le resserrement des lignes (les LACs), lors de la lecture des coupes, nous constatons un resserrement à partir de la 3<sup>ème</sup> ligne donc de la 3<sup>ème</sup> année (les lignes 3 et 4 se resserrent) (Fig. 43). Les trois premières lignes (en moyenne) reflètent les lignes de croissance avant la maturité sexuelle (tant pour les mâles que pour les femelles).

Cependant, certaines coupes présentaient une résorption endostéale, ce qui a provoqué la perte des premières lignes de croissance et de ce fait, l'âge est sous-estimé. Pour cette raison, nous avons jugé nécessaire de rajouter trois années pour les individus qui présentent des lignes très rapprochées dès le début et au total, nous avons ajusté l'âge de six individus.



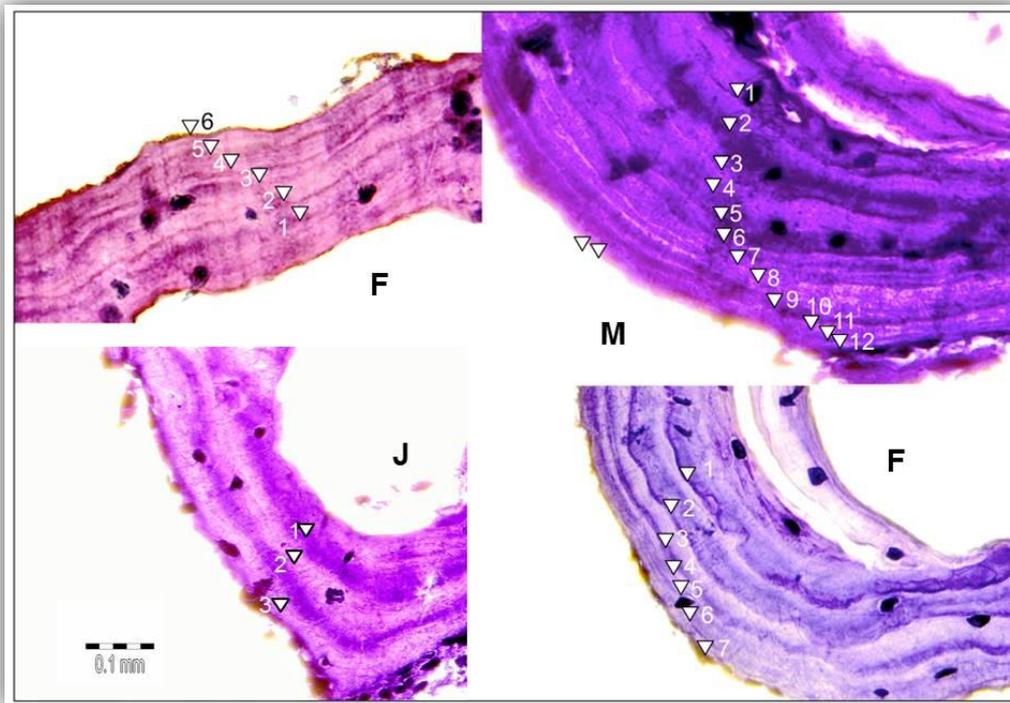
*Figure 43 : Femelle de 6 ans, maturité sexuelle atteinte à l'âge de 3 ans (les flèches numérotées correspondent aux LACs)(Bouzid, 2016).*

### 3.3 La structure d'âge

La structure d'âge de la population est déterminée à partir du nombre de lignes d'arrêt de croissances marquées dans les phalanges des Salamandres.

Les coupes ont révélé la formation des LACs chromophiles bien distincts (Fig. 44). Nous avons pu distinguer les LACs d'hivernage dont la coloration et la structure sont plus marquées, des LACs d'estivation (qui sont restés plutôt rares) qui sont plus fines et nettement moins colorées. Ici, la détermination de la structure d'âge s'est basée uniquement sur les LACs d'hivernage.

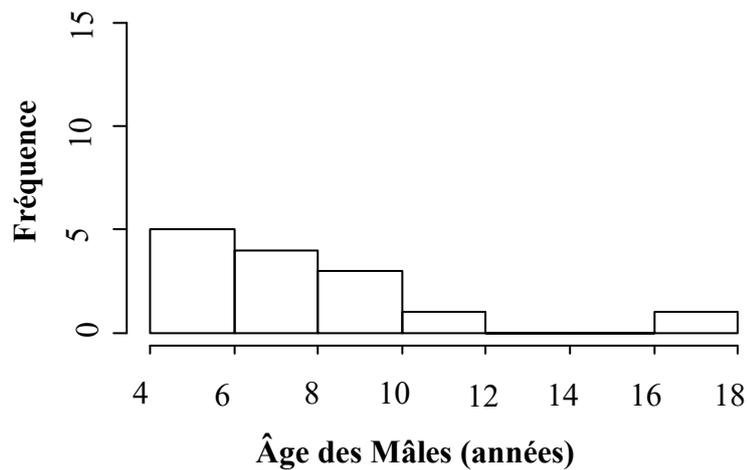
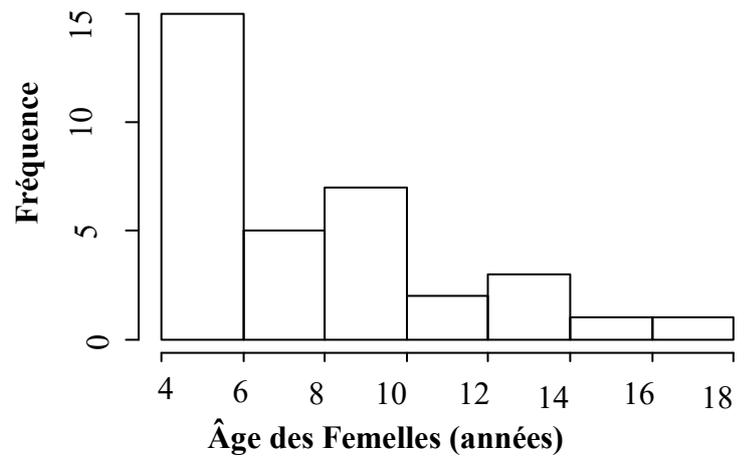
65% de la population est représentée par des femelles, la longévité maximale enregistrée a atteint les 15 ans chez les deux sexes (médian : 7 ans). Toutefois si l'on admet que certains individus présentent une forte résorption endostéale, la longévité pourrait atteindre, après correction, les 18 ans.



**Figure 44:** Quatre coupes diaphysaires de la troisième phalange de l'orteil, des différentes classes d'âge, traiter avec le colorant Hématoxyline d'Ehrlich. Les LAGs former pendant les périodes d'hivernage. F= Femelle ; M= Mâle et J= Juvénile.

La maturité sexuelle est estimée à partir des coupes, où les lignes commencent à se resserrer entre elles (Fig. 44), chez nos individus, elle est atteinte entre 3 et 4 ans.

Sur la majorité des coupes, on pouvait observer une mince couche d'os endostéal à l'intérieur de la cavité médullaire, sa structure simple lamellaire, cet os était bordé sur son pourtour externe par une fine ligne de démarcation, qui le soude normalement à l'os périostique. Il y avait donc peu de risques de confondre la périphérie externe de l'os endostéal avec une ligne d'arrêt de croissance.



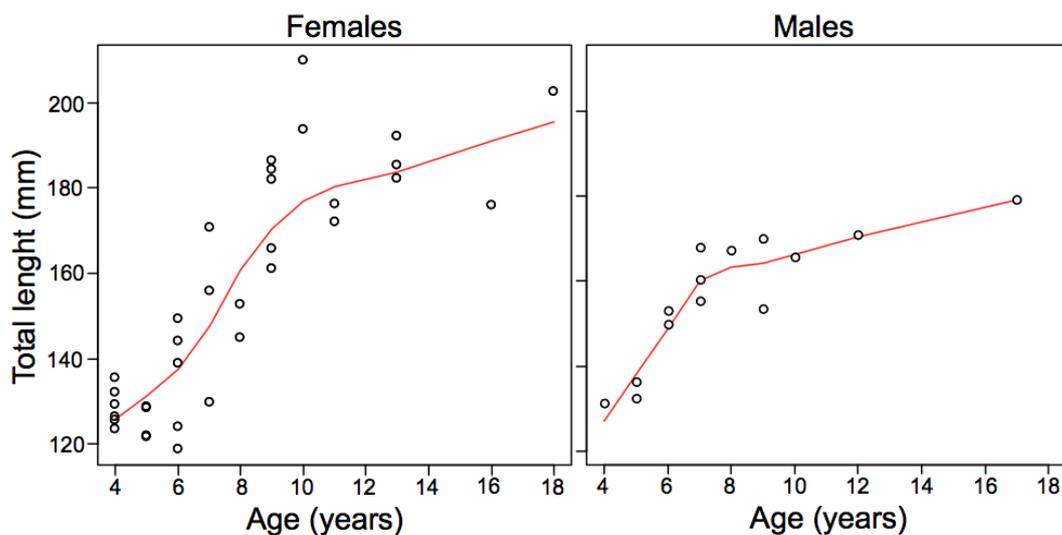
**Figure 45:** Histogramme de distribution des âges des mâles et femelles de la population (N=52).

La structure d'âge de la population est illustrée par les histogrammes des classes d'âge des deux sexes (Fig. 45). Ils présentent une structure homogène, avec une pyramide d'âge équilibrée. La classe d'âge entre 4 et 6 est la plus représentative tant chez les mâles que chez les femelles, ce qui reflète un bon recrutement de jeunes adultes dans la population, et ainsi un succès reproducteur dans les années précédant l'échantillonnage.

### 3.4 La courbe de croissance

Le modèle de croissance des individus a été obtenu par la relation entre l'âge et la taille. Cette relation chez *Salamandra algira algira* ressort une courbe de croissance continue dans sa vie adulte.

Néanmoins, selon la (Fig. 46) la forme de la courbe montre une croissance logistique en deux temps, avec une inflexion autour de l'âge de 7 ans pour les mâles et de 9 ans chez les femelles, puis se ralentie à un âge plus avancé.



**Figure 46:** Relation entre l'âge et la taille totale des mâles et femelles.

Cette croissance diffère entre les sexes, les mâles grandissent plus rapidement pendant la première partie de la vie adulte (avant l'inflexion), et atteignent une taille entre 160 et 180 mm à un intervalle d'âge de 6 à 8 ans. Alors que chez les femelles, dans ce même intervalle d'âge, elles atteignent une taille inférieure, entre 140 et 160 mm.

En revanche, ces dernières continuent leur croissance plus longtemps que les mâles durant la deuxième partie de la vie adulte. Ce qui les conduit à des tailles plus grandes que les mâles ; 26.5% des femelles dépassent les 180 mm alors que les plus grands mâles enregistrent une taille entre 150 et 170 mm.

La corrélation de Pearson (Tab. 10) entre l'âge et la taille des deux sexes montre une corrélation fortement positive.

**Tableau 10:** Résultats de corrélation de Pearson (âge/taille) N=46.

Corrélation de Pearson	r	t	df	P
Mâle	0.842	5.42	12	<0.001
Femelle	0.843	9.17	34	<0.001

### 3.5 Description biométrique de l'échantillon

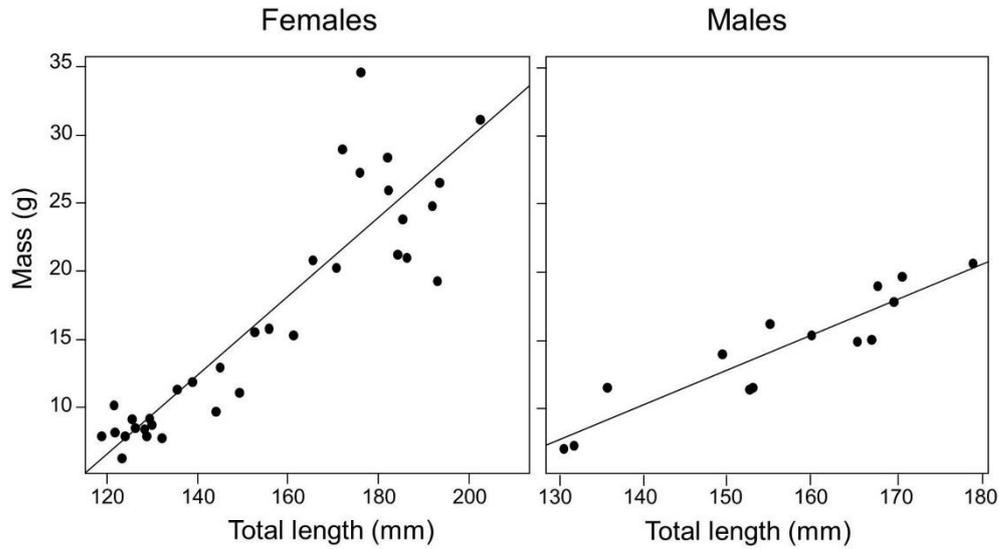
Dans notre population, la taille des individus adultes varie entre 120 et 210 mm pour les femelles et de 130 et 180 mm pour les mâles. Le poids reste variable entre les deux sexes, en effet, les mâles sont plus sveltes (Tab. 11).

**Tableau 11:** Description statistique des âges et de la longueur de notre population.

		Âge (année)		Longueur totale (mm)		Poids (g)	
Sexe	N	Moyenne ± Ecartype	Intervalle (min-max)	Moyenne ± Ecartype	Intervalle (min-max)	Moyenne ± Ecartype	Intervalle (min-max)
M	14	7.92 ± 3.36	4-17	156.37 ± 5.08	130,94-179,02	13.59 ± 3.66	19.1-7.5
F	34	8.25 ± 3.6	4-18	164.68 ± 4.66	128,42-209,78	16.51 ± 8.6	34.6-6.9

La relation entre le poids et la taille peut être interprétée par le calcul suivant :

$W_F = 0.29TL_F - 28.2$ ,  $W_M = 0.22TL_M - 21.0$  (W= weight/poids, TL=total Length/longueur totale). Les femelles atteignent un poids jusqu'à 35g quand les mâles ne dépassent pas les 19g (Fig. 47).



**Figure 47:** Relation entre longueur de corps totale (mm) et masse (g) tant pour femelles que mâles.

La corrélation entre la taille et le poids est fortement positive, les résultats du test de Pearson (Tab. 12).

**Tableau 12:** Résultats de la corrélation de Pearson (taille/poids) N=45.

Corrélation de Pearson	r	t	df	P
Mâle	0.922	8.25	12	<0.001
Femelle	0.928	14.34	33	<0.001

### 3.6 Morphométrie et dimorphisme sexuel de taille de la Salamandre

La moyenne du SVL des mâles est de 83.40 mm et celle des femelles est de 88,53 mm (Tabl.10), le SDI est égale à 0.059, le dimorphisme sexuel de taille est légèrement en faveur des femelles.

Les 12 caractères morphologiques ont été testés par une analyse de covariance ANCOVA, en gardant le SVL comme variable dépendante, entre les deux sexes.

Les résultats, ne présentent pas de signification pour tous les caractères sauf pour la longueur de la queue semble être une légère différence entre les deux sexes (Tab. 13).

**Tableau 13:** Moyenne et écart-type des mesures morphologiques des mâles et des femelles, résultats de la covariance de  $N=46$ ,  $p=0.5$ , intervalle de confiance 90%.

Caractères	Femelle	Mâle	N=46, p=5%	
			F	P
SVL	88.35±12.2	83.41±7.7		
LT	76.15±12.8	73±7.7	2.46	0.097
AL	29.1±4.3	28.37±3.2	1.23	0.30
PL	29.85±4.2	29.14±3.8	1.29	0.28
AP	54.84±9.4	51.9±5.4	0.54	0.58
HL	23.09±2.7	21.57±2	1.69	0.19
HW	12.82±1.6	11.7±1.26	0.26	0.77
PAL	12.06±1.7	11.32±0.9	0.36	0.96
LJL	15.5±2.1	14.6±1.4	0.90	0.91
SL	7.5±0.98	6.75±0.9	0.48	0.61
EN	4.2±4.98	3.04±0.4	1.28	0.28
IN	6.66±0.9	6.37±0.8	0.54	0.58

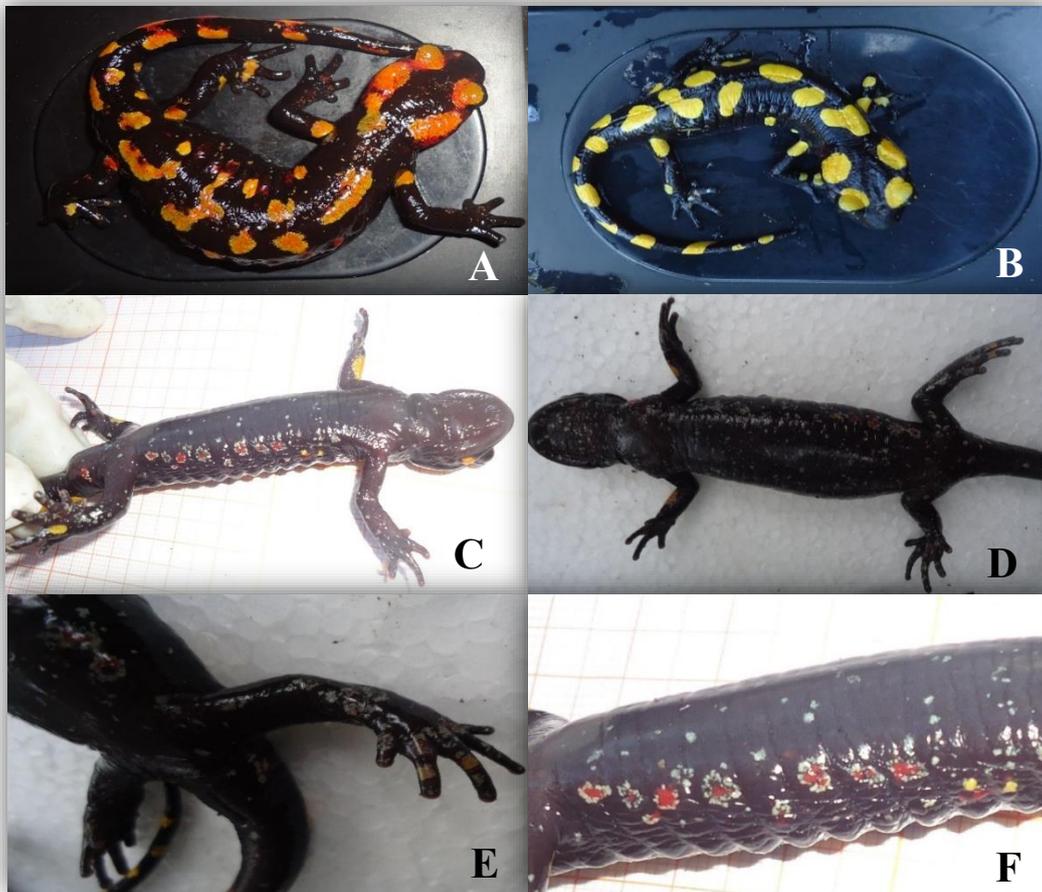
### 3.7 Description du pattern de coloration

La coloration des salamandres est bien connue par un fond noir/brun foncé parsemé de tâches jaunes un peu partout sur le corps (sauf certaines exceptions, ex : la salamandre des Alpes qui est totalement noir). *Salamandra algira* est vêtue de ces mêmes couleurs, mais parfois de large tâches rouges à orangés (quand elles sont emmêlées au jaunes) s'ajoutent à cette coloration sur la tête, les glandes parotides, la queue...

Chez les sous espèces *Salamandra algira spelaea* et *Salamandra algira algira*, on peut trouver des petits points blancs sur la face ventrale, les côtés et les membres.

Dans ce présent travail, nous décrivons une particularité de coloration observée chez les différents individus de notre population de l'Edough. En effet, les individus présentaient régulièrement, une association entre les points blancs (de l'ordre d'un mm) et des tâches rouges (de l'ordre de 2-4 mm).

Nous proposons l'appellation « ocelles », pour cette association. Ces dernières sont réparties généralement des deux côtés et de façon alignée, sur le ventre, les pattes et quelquefois sur tout le corps. Cependant, les larves nouvellement métamorphosées ne démontrent aucune forme de ces colorations. Chez certains individus, ces ocelles s'étendent en lignes bien marquée sur les bords latéraux, sur le cloaque et jusqu'à la queue (Fig. 48).

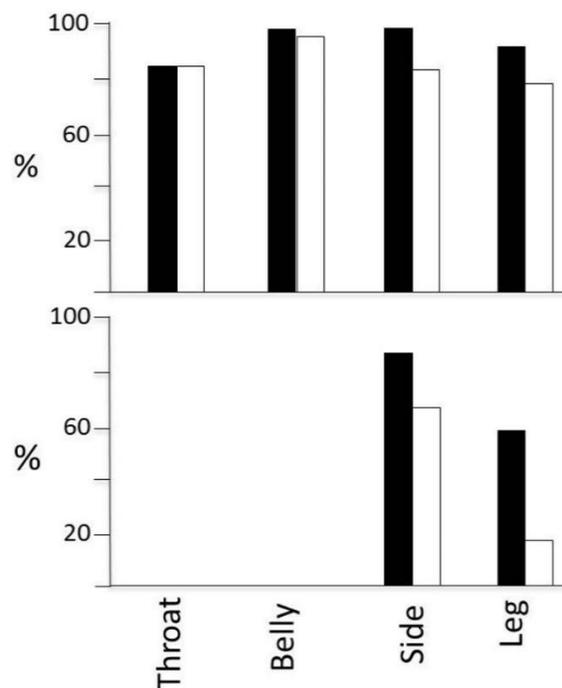


**Figure 48:** Modèle de coloration de *Salamandra algira* de l'Edough. A, B : Vue dorsale de la salamandre, la première avec une forte présence de coloration rougeâtre mélangée au jaune, la seconde une coloration typique avec un jaune vif. C : Mâle, D : Femelle, une face ventrale remplie de points blancs et une ligne d'ocelles sur les bords latérodorsales. E : Des ocelles sur la patte postérieure. F : une vue zoomer sur les ocelles.

Les tâches jaunes peuvent être de différentes formes. 100% des individus ont les yeux et les glandes parotoïdes couvertes de jaunes, leur dispersion sur le corps étaient variables. Nous avons cherché dans notre population la distribution des points blancs et des ocelles sur les quatre parties du corps : le ventre, le côté, gorge et pattes, chez les deux sexes.

Le résultat est représenté dans la (Fig. 49). Le premier histogramme démontre une répartition des points blancs assez similaires chez les deux sexes, avec un léger avantage chez les mâles : 100% des mâles ont du blanc sur le ventre et les côtés, contre 95% et 81% des femelles.

Le second histogramme des ocelles affirme une répartition sur les côtés et les membres, avec toujours une prédominance chez les mâles avec 57,14% contre 15,62% chez les femelles. L'absence des ocelles rouges est observée chez nos individus au niveau du ventre et de la gorge.



**Figure 49:** Histogramme du haut : Fréquence des points blancs sur les quatre parties du corps. Histogramme du bas : Fréquence des ocelles. Barre fermée : mâle, barre ouverte : femelle.

#### IV. Discussion

L'utilisation de la méthode squelettochronologique pour la détermination de l'âge chez les Reptiles et Amphibiens, est simple et efficace. Elle est beaucoup utilisée dans des études de la biologie des populations chez les Salamandridés (Miaud, Joly et Castanet, 1993 ; Diaz-Paniagua, Mateo et Andreu, 1996 ; Miaud et al., 2001 ; Reinhard et al., 2015).

Nous avons appliqué cette méthode pour la première fois en Algérie sur l'Urodèle « *Salamandra algira algira* » à l'Edough. L'utilisation des phalanges a permis d'estimer l'âge et la croissance individuel d'une population sauvage, et ce sans sacrifier les animaux. Le comptage des LACs des phalanges a donné de bons résultats, malgré la résorption endostéale qui n'a touché qu'un faible nombre de notre population (6 individus).

La squelettochronologie des phalanges a tendance à sous-estimer l'âge (Wagner et al., 2011, Fattah et al., 2014) à cause des processus de remodelage osseux et le rapprochement des LACs. La sous-estimation de l'âge est particulièrement prééminente chez les populations de haute altitude (Wagner et al., 2011, Reinhard et al., 2015a).

Les résultats de la structure d'âge enregistrent une longévité maximale de 18 ans, avec un âge moyen de 8 ans. Nos résultats s'accordent aux résultats obtenus chez la population de *S. algira* au Maroc, où la longévité atteint les 20 ans (19 ans pour les femelles et 20 ans pour les mâles) (Reinhard et al., 2015a). La classe d'âge la mieux représentée dans notre population est celle de 4-6, cela reflète une bonne dynamique de croissance ; ces âges représentent des jeunes adultes, ce qui suggère une reproduction réussie durant les années qui ont précédé l'échantillonnage et une importante survie des juvéniles. Nous pouvons également attribuer ce résultat au fait que pendant cet âge, les individus continuent leur croissance et sortent à la recherche de nourriture, étant une espèce nocturne, les individus les plus âgés sortent moins les journées.

Nous avons relevé que la maturité sexuelle est atteinte à partir de 3 ans pour les deux sexes. Chez d'autres espèces de salamandridés, les mâles mûrissent souvent plus tôt que les femelles et à une plus petite taille (Miaud et al., 1993 ; Rebelo et Caetano, 1995 ; Miaud, 2001). Chez la salamandre noire, *Salamandra atra*, les adultes ont atteint la maturité à  $4 \pm 5$  ans à 1700 m (Fachbach, 1988) et la maturité sexuelle a été retardée chez les deux sexes jusqu'à 10 ans chez les populations alpines du triton *T. alpestris* (Miaud et al., 2000).

Chez les salamandres, l'investissement dans la reproduction et la croissance dépend des allocations de ressources qui déterminent la dynamique de croissance (Miaud, Guyétant et Faber, 2000, Miaud et al., 2001).

La courbe de croissance de *Salamandra algira algira* obéit à un modèle logistique. En effet, les juvéniles croissent rapidement jusqu'à la maturité sexuelle, puis la croissance ralentit jusqu'à un certain âge où elle se stabilise. Notre population montre une croissance en deux temps pour les deux sexes ; après le ralentissement, la croissance reprend avant de se stabiliser. Les mâles ont une croissance plus rapide durant la première moitié de la vie adulte, alors que pour les femelles la croissance est continue au deuxième temps. Ce modèle est semblable à celui décrit chez *S. lanzai* aux Alpes franco-italiennes (Miaud et al., 2001).

Un taux de croissance optimal serait un compromis entre l'avantage d'atteindre une taille donnée dans un laps de temps donné et le coût supporté par une croissance rapide (Sibly et Atkinson, 1994). Ce compromis s'enregistre entre le taux de croissance et d'autres caractéristiques de condition physique (la fécondité, la mortalité juvénile).

Les mâles s'investissent moins dans la reproduction que les femelles. En effet, c'est généralement l'une des raisons qui leur permet d'atteindre la maturité sexuelle à un âge plus avancé et à des tailles plus petites (Caetano, Castanet et Francillon, 1985 ; Miaud et al. 2001). Alors que chez les femelles, la croissance est plus limitée pendant les premières années de leur vie adulte, elles ont besoin de plus d'énergie emmagasinée en raison d'un investissement plus important dans le développement des embryons et des gonades (Halliday et Verrell, 1988). Cette croissance continue pourrait, tout au long de la vie, fournir aux femelles un gain d'aptitudes substantiel par la fécondité croissante (Joly, 1991 ; Miaud et al. 2001 ; Reinhard et al. 2015b).

Effectivement, chez les organismes à sang froid, la taille de la couvée et parfois aussi la taille des œufs, augmente généralement avec la taille du corps (Darwin, 1871 ; Stearns 1992 ; Honek 1993 ; Preziosi et al. 1996) et par conséquent le succès de reproduction des femelles.

L'analyse des différents traits morphologiques ne présente pas de différence entre les deux sexes, mais le dimorphisme sexuel de taille (SSD) reste en faveur des femelles, sauf que la taille de la queue des mâles semble être légèrement plus grande par rapport au SVL que celles des femelles. Une taille corporelle importante augmente souvent le succès d'accouplement en raison

de la compétition intra-sexuelle (principalement entre mâles) ou du choix des femelles (Darwin 1871 ; Andersson 1994 ; Blanckenhorn, 2005).

Il est maintenant largement admis que la sélection de la fécondité chez les femelles et la sélection sexuelle chez les mâles sont les principales forces évolutives qui sélectionnent une plus grande taille corporelle chez de nombreux organismes.

Nous suggérons que la taille des mâles a également un impact sur l'accouplement ; car au-dessus d'un seuil donné, elle peut ne pas l'avantager. Une taille plus grande pourrait restreindre leur accès aux petits refuges et les conduire à une compétition avec les femelles pour les grands refuges et les proies plus grandes (des études expérimentales pourraient tester cette hypothèse).

En règle générale, des variations de taille peuvent être observées chez diverses classes d'âge, ce qui reflète les différences individuelles de taux de croissance. Elles sont considérablement influencées par la disponibilité et la qualité de nourriture, la densité de population, la densité de prédateurs ou par les différences d'habitat et de climat, qui influent à leur tour sur les niveaux d'activité des salamandres (Alcobendas et Castanet, 2000 ; Miaud et al, 2001). Cependant, ces conditions affectent équitablement les deux sexes, c'est pourquoi ils n'expliquent pas le dimorphisme sexuel (Miaud et al, 2001).

Les Amphibiens en général et les salamandres en particulier présentent généralement un conservatisme morphologique extrême masquant la diversité génétique (Bickford et al. 2007 ; Ben Hassine et al., 2016). Les populations de *S. algira algira* présentent des points blanchâtres au niveau de différentes parties du corps, ce qui a été reporté pour *S. algira spelaea*. Nous décrivons une association entre ces points blancs et des tâches rouges pour notre population. Les mâles présentent une forte fréquence de cette coloration notamment sur le côté et les pattes, ceci peut jouer un rôle lors des compétitions (combats avec d'autres mâles), ou pour attirer les femelles lors des danses nuptiales.

# CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES



## Conclusion générale et perspectives

L'homme modifie les écosystèmes de multiples façons ; et ces modifications coïncident souvent avec les changements observés dans la distribution et l'abondance des espèces. En effet, les variations des habitats contribuent énormément à la structuration des communautés herpétologiques.

D'une manière générale, cette thèse a étudié un groupe taxonomique longtemps oublié en Algérie. En effet, la situation des Amphibiens est préoccupante comme dans le reste du monde, et leur faible richesse biologique est remplacée par leur endémisme. Leur distribution est de ce fait fragmentée, et accentue leur sensibilité aux dégradations environnementales, ils jouent un rôle clé dans le maintien des écosystèmes. Le choix s'est vite porté sur ce modèle biologique essentiellement pour connaître l'état de ses peuplements dans la région Nord-est. Le travail a abordé différents axes :

(i) : La caractérisation des peuplements montre que le discoglosse peint et la grenouille verte sont les espèces les plus abondantes et les plus communes de la région. Leur plasticité écologique et leur comportement opportuniste favorisent leur abondance et leur distribution. Ceci-dit, c'est les deux espèces les plus sujettes au parasitisme (l'éctoparasitisme) et aux maladies émergentes, avec un taux important de mortalité des adultes (qui augmente avec les températures chaudes de l'été (observation personnelle)). Le *Bufo spinosus* est la plus rare, et dépend essentiellement des facteurs abiotiques : l'altitude et le climat. Elle fréquente les milieux les plus humides et les plus frais du mont d'Edough, notamment les zeenais. La structure de la végétation est un élément important dans de nombreux écosystèmes, car elle influence les microhabitats en contrôlant la pénétration de la lumière du soleil, la température et l'humidité (Chen et al., 1999 ; Hunter 1999 ; Rouag, 2016). Cette espèce reste la moins étudiée et la moins connue en Algérie.

Les Urodèles ont un statut menacé sur la liste rouge de l'IUCN et sont protégées par la loi algérienne. Sauf que la protection légale ne suffit pas, aucune mesure n'est mise en place ni aucun projet de conservation n'est proposé jusque-là. Ils subissent une forte pression anthropique, et particulièrement le pleurodèle de Poiret, qui utilise beaucoup les sites urbains et au bord des routes, se trouve confronté à une destruction et une pollution de ses milieux. Les limites de distribution de ce pleurodèle ne sont pas déterminées, il semblerait y avoir des zones de contacts entre les deux pleurodèles.

Sur les quatre sites d'étude, la péninsule de l'Edough se distingue par sa richesse de 8 espèces sur les 9. Ses forêts de chêne zeen sont considérées comme la plus vieille zeenais du pays. Ainsi, La diversité des biotopes et la composition floristique offrent des microclimats propices aux Amphibiens. Le Parc d'El Kala devrait faire l'objet d'un effort d'échantillonnage plus important afin de confirmer la présence du crapaud commun.

Une distribution régionale des différentes espèces est un paramètre important dans la connaissance de la dynamique des différentes populations et des facteurs qui la régissent. Les interactions entre biotope et faune sont sous contrôle de facteurs environnementaux. La connaissance de ces interactions permet de mieux cerner les exigences des différentes espèces et par conséquent leur distribution et leur évolution. La disponibilité des ressources et les interactions (compétition-prédation) définissent également la localisation de bon nombre d'espèces.

Le déclin alarmant des Amphibiens dans le monde est dû à la double action des divers facteurs naturels et anthropiques. L'activité humaine ne fait qu'intensifier l'effet des facteurs naturels (Blaustein et al., 1994), contribuant ainsi à l'augmentation du déclin et empêchant les populations naturelles de récupérer (ce qui entraîne des extinctions locales). Les diverses activités humaines (industrielles et domestiques) et la pression démographique ont contribué à la destruction et la modification des milieux originels, entraînant un impact sur la diversité biologique des écosystèmes.

Les facteurs connus ou suspectés de produire leur déclin dans le Nord-est algérien sont incontestablement l'homme par : l'irrigation et la destruction des zones humides ; l'intensité de l'agriculture avec l'utilisation excessive des pesticides ; les incendies de forêts ; la pollution des eaux. Les Amphibiens sont souvent victimes d'accident de voitures lors de la migration, des mesures de protection peuvent être suggérées. Des facteurs naturels tel que la prédation par la Gambusie (Bradford, 1989), nous suspectons également la présence de la maladie de chytridiomycose, responsable d'un taux de mortalité important des Amphibiens dans le monde en particulier chez les anoures (le discoglosse : observation personnelle).

(ii) : On peut conclure que l'étude phylogénétique de la population de salamandre de l'Edough ne montre aucune divergence génétique, et le caractère insulaire de la péninsule ne semble pas affecter le statut génétique de l'espèce. Les populations algériennes n'ont pas de structuration génétique, et appartiennent au rang taxonomique de sous espèce « *Salamandra algira algira* ». Cette homogénéité peut être expliquée par la continuité d'échange de gène entre

les différentes populations (de Annaba et la Kabylie) qui peut être attribuable à une stabilité climatique de la région.

(iii) : l'utilisation de la méthode de squelechronologie a donné des informations sur les traits d'histoire de vie d'une population de salamandre. La longévité est de 18 ans pour les deux sexes, avec un bon succès reproducteur. La relation significative entre l'âge et la taille des salamandres, les traits morphologiques ne présentent pas de différences significatives entre les sexes, mais le dimorphisme de taille est en faveur des femelles. Ces résultats sont importants dans la compréhension des comportements démographiques et reproducteurs de l'espèce. L'étude de ces traits d'histoire de vie sont importants pour les études de conservation biologique.

Nos résultats témoignent de la richesse de la zone d'étude en Amphibiens qui représente 75% des espèces du pays. Cet inventaire a permis une actualisation et un apport sur les connaissances des espèces de ces vertébrés, du point de vue de la répartition dans la zone d'étude et sur certains aspects écologiques.

Néanmoins, ce travail devrait être poursuivi dans l'optique d'une élaboration de plan d'action pour la protection des espèces menacées et de création d'une stratégie de leur conservation.

Nos perspectives majeures sont liées au suivi et au maintien de cette biodiversité et aux processus écologiques par la protection des habitats et leur connectivité. La fragmentation d'habitats est reconnue comme étant la principale cause de la diminution de l'effectif des Amphibiens, par la modification du paysage et la limite de circulation des organismes. Ainsi, nous proposons certaines perspectives qui pourraient être complémentaires de notre travail :

- Elargir la zone d'étude à l'échelle nationale afin de déterminer les limites de distributions des espèces (la région Ouest).
- Modéliser les niches écologiques et échantillonner les zones prédites. Dans l'objectif de connaître les exigences écologiques des espèces qui sont fondamentaux pour la conservation et/ou la restauration des habitats naturels.
- Un suivi à long terme des populations des espèces les plus menacées. Protéger la biodiversité et sur tout en conservant des territoires isolés.

- Etudes génétiques dans les zones de contact des deux espèces de pleurodèles et déterminer leurs limites biogéographiques.
- Revoir l'occurrence et la distribution du crapaud vert (*Bufo boulengeri*) au Nord-Est algérien.
- Les données obtenues par la squelettochronologie pourraient être utilisées de façon comparative entre populations intraspécifiques dans des perspectives adaptatives, voire évolutionnistes.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES



## Références bibliographiques

- Alcobendas, M., Castanet, J. 2000. Bone growth plasticity among populations of *Salamandra salamandra*: Interactions between internal and external factors. *Herpetologica*, 56: 14-26.
- Ali Tatar, B. 2010. Cartographie de la dynamique de la végétation face à l'urbanisation dans la région de Annaba. Mémoire de magister en écologie végétale. Université Badji Mokhtar, Annaba.
- Altunışık, A. 2018. Age, survivorship and Life Expectancy in Near Eastern Fire Salamander, *Salamandra infraimmaculata* (Caudata: Salamandridae). *Russian Journal of Ecology*, Vol. 49, No. 2, pp. 166–171.
- Ameur Ameur, A. 2016. Aspect moléculaire et cellulaire de développement. Editions Al Djazair.
- AmphibiaWeb 2019. Information on amphibian biology and conservation. [web application]. Berkeley, California: AmphibiaWeb. Available: <http://amphibiaweb.org/>.
- Andersson, M. 1994. Sexual selection. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Anisimova, M., Gascuel, O. 2006. Approximate Likelihood-Ratio Test for Branches: A Fast, Accurate, and Powerful Alternative. *Syst. Biol.* **55**:539–552.
- Angel, F. 1946. Faune de France: Reptile et Amphibiens. Fédération Française des Sociétés de Sciences Naturelles. 204p
- Araújo, M.B., Thuiller, W., Pearson, R.G. 2006. Climate warming and the decline of amphibians and reptiles in Europe. *J. Biogeogr.* 33: 1712-1728.
- Arnold N. et Ovenden D., 2004. Le guide herpéto. Edition Delachaux et Niestlé, Paris. 288p.

- Arntzen, J.W., Recuero, E., Canestrelli, D., Martínez-Solano, I. 2013. How complex is the Bufo bufo species group? *Molecular Phylogenetics and Evolution* 69: 1203-1208.
- Augert D., Joly P. 1993. Plasticity of age at maturity between two neighbouring populations of the common frog (*Rana temporaria* L.). *Can. J. Zool.* 71: 26-33.
- Baha El Din, S. 2006. A guide to the reptiles and amphibians of Egypt. The American University in Cairo Press. 359p.
- Bedriaga, J. 1883. Beiträge zur Kenntniss der Amphibien und Reptilien der Fauna von Corsika. *Arch. Naturgesch.* 49: 124-273.
- Belouahem-Abed, D. 2012. Etude écologique des peuplements forestiers des zones humides dans les régions de SKIKDA, ANNABA et EL TARF (Nord-Est Algérien). Thèse de doctorat, université Badji Mokhtar Annaba.
- Ben Hassine, J., Gutiérrez-Rodríguez, J., Escoriza, D., Martínez-Solano, I. 2016. Inferring the roles of vicariance, climate and topography in population differentiation *Salamandra algira* (Caudata, Salamandridae). *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 54: 116-126.
- Ben Hassine, J., Escoriza, D., Bakhouch, B. 2016a. Factors determining the occurrence of *Pleurodeles poireti* (Caudata: Salamandridae) on Edough Peninsula, northeastern Algeria. *African Journal of Herpetology*, 65:1, 55-67, DOI: 10.1080/21564574.2016.1167783.
- Ben Hassine, J., Nouria, S. 2009. Diet of *Discoglossus pictus* Otth, 1837 (Anura, Alytidae) and *Pelophylax saharicus* (Boulenger in Hartert, 1913) in the oases of Kettana (Gabes, Tunisia). *Bull. Soc. zool. Fr.*, 2009, 134(3-4) : 321-332.
- Ben Hassine, J., Escoriza, D. 2017a. Amphibians of Algeria: New data on the occurrence and natural history. *The Herpetological Bulletin* 142, 2017: 6-18
- Benyacoub S. 1993. Ecologie de l'avifaune forestière nicheuse de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). Thèse de doctorat. Université de Bourgogne, Dijon.

- Berroneau M., Barande S., Barthe L., Bernard Y., Dejean T., Gosá A., Jemin J., Lorvelec O., Menay M., Miaud C., Morinière P., Muratet J., Sautet D. et Segouin S. 2010. Guide des Amphibiens et Reptiles d'Aquitaine (France). Association Cistude Nature. 175p.
- Beukema, W., de Pous, P., Donaire, D., Escoriza, D., Bogaerts, S., Toxopeus, A.G., De Bie, C.A.J.M., Roca, J., Carranza, S. 2010. Biogeography and contemporary climatic differentiation among Moroccan *Salamandra algira*. Biol. J. Linnean. Soc. **101**: 626-641.
- Beukema, W., de Pous, P., Donaire-Barroso, D., Bogaerts, S., García-Porta, J., Escoriza, D., Arribas, O.J., El Mouden, E.H., Carranza, S. 2013. Review of the systematics, distribution, biogeography and natural history of Moroccan amphibians. Zootaxa **3661** : 1-60.
- Berven, K. A. 1982. The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog *Rana sylvatica*.  
1. An experimental analysis of life history traits. Evolution 36, 962-983.
- Blanckenhorn, W.U., 2005. Behavioural causes and consequences of sexual sizedimorphism. Ethology 111, 977–1016.
- Blank, L. Blaustein, L. 2014. A multi-scale analysis of breeding site characteristics of the endangered fire salamander (*Salamandra infraimmaculata*) at its extreme southern range limit. Hydrobiologia 726 : 229–244.
- Blaustein A.R., Wake D.B. 1990. Declining amphibian populations: a global phenomenon? Trends in Ecology and Evolution, 5, 203-204.
- Blaustein A.R., Wake D.B. 1995. The puzzle of declining amphibian populations. Sci. Am., 272, 4, 52-57.
- Blaustein A.R., Wake D.B., Sousa W.P. 1994. Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. Conservation Biology, 8, 60 –71.

- Blaustein A.R., Romansic J.M., Kiesecker J.M., Hatch A.C. 2003. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, 9, 123-140.
- Blondel J., Aronson J., 1999. *Biology and Wildlife of the Mediterranean Region*.
- Bradford D.F. 1989. Allotopic distribution of native frogs and introduced fishes in high Sierra Nevada lakes of California: implication of the negative effect of fish introductions. *Copeia*, 775–778.
- Brockes J.P., Kumar A. 2002. Plasticity and reprogramming of differentiated cells in amphibian regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3(8):566–574.
- Bruce R.C., Castanet J., Francillon-Vieillot H. 2002. Skeletochronological analysis of variation in age structure, body size, and life history in three species of desmognathine salamanders. *Herpetologica* 58(2):181-193.
- Bogenhagen, D et Clayton, D.A. 1974. The number of mitochondrial deoxyribonucleic acid genomes in mouse L and human HeLa cells. Quantitative isolation of mitochondrial deoxyribonucleic acid. *J Biol Chem* 249 :7991-7995.
- Bonin, J. et Galois, P. 1996. Rapport sur la situation de la reinette faux-grillon de l'ouest (*Pseudarcis triseriata*) au Québec. Ministère de l'Environnement et de la faune, Québec, 39p.
- Bonin, J., Desroches, J.-F., Ouellet, M et Leduc, A. 1999. Les forêts anciennes : refuges pour les salamandres. *Naturaliste Canadien*, 123, (1) : 13-18.
- Bons, J. 1957. Amphibiens et reptiles récoltés dans le Sud-Ouest marocain (1955).- *C. R. Soc Sci. nat. phys. Maroc*, Rabat ; 23 (5): 96-98.
- Bons, J. 1972. *Herpétologie Marocaine I. Liste commentée des Amphibiens et Reptiles du Maroc*. Société des Sciences Physiques et Naturelles du Maroc 52: 107-126.

- Bons J., Geniez, P.1996. Amphibiens et Reptiles du Maroc (Sahara Occidental compris), Atlas biogéographique. Asociación Herpetológica Española, Barcelona, Spain, 320 pp.
- Bouali et Oneimi. 2005. Catalogue of the reptiles and batracians of Barbary (Marocco, Algérie and Tunisia) base chiefly on the notes and collection in 1880-1884 by M. Fernand Lataste, and transactions of the zoological Society of London 13: pp 93- 164.
- Bouزيد, S., Konecny, L., Grolet, O., Douady, C.J., Joly, P., Bouslama, Z. 2017. Phylogeny, age structure, growth dynamics and colour pattern of the *Salamandra algira algira* population in the Edough Massif, northeastern Algeria. *Amphib. Reptil.* 38, 461–471.
- Caccone A, Milinkovitch MC, Sbordoni V, Powell JR. 1994. Molecular biogeography : Using the Corsica-Sardinian microplate disjunction to calibrate mitochondrial rDNA evolutionary rates in mountain newts (*Euproctus*). *Journal of Evolutionary Biology*, 7, 227–245.
- Caccone A, Milinkovitch MC, Sbordoni V, Powell JR. 1997. Mitochondrial DNA rates and biogeography in European newts (genus *Euproctus*). *Systematic Biology*, 46 (1), 126–144.
- Caetano, M,H., Castanet, J. 1993. Variability and microevolutionary patterns in *Triturus marmoratus* form Portugal : Age, size, longevity and individual growth. *Amphibia-Reptilia*.**14** : 117–132
- Caetano, M. H., Castanet, J. Francillon, H. 1985. Détermination de l'âge de *Triturus marmoratus marmoratus* (Latreille 1800) du Parc National de Peneda-Gênes (Portugal). *Amphibia-Reptilia*. **6**: 117-132.
- Carlson BM. 2007. Principles of Regenerative Biology. Elsevier/Academic Press, New York, p xix.

- Carranza S., Arnold E.N. 2004. History of West Mediterranean newts, Pleurodeles (Amphibia: Salamandridae) inferred from old and recent DNA sequences. *Syst. Biodivers.*, 1(3): 327-337.
- Carranza S., Wade E. 2004. Taxonomic revision of Algero-Tunisian Pleurodeles (Caudata: Salamandridae) using molecular and morphological data. Revalidation of the taxon *Pleurodeles nebulosus* (Guichenot, 1850). *Zootaxa*, 488: 1-24.
- Casquet, J., Thebaud, C., Gillespie, R.G. 2012. Chelex without boiling, a rapid and easy technique to obtain stable amplifiable DNA from small amounts of ethanol-stored spiders. *Mol. Ecol. Res.* **12**: 136-141.
- Castanet J. 1985. La squelettochronologie chez les Reptiles. I- Résultats expérimentaux sur la signification des marques de croissance squelettiques utilisées comme critère d'âge chez les lézards et les tortues. *Ann. Sc. Nat. Zool. Paris*, 7: 23-40.
- Castanet, J. 1988. Nouvelles possibilités offertes par la squelettochronologie dans les recherches sur la biologie des amphibiens et des reptiles. *Bull. Soc. Herp. Fr* 47: 1-9.
- Castanet, J. 2002. Amphibiens et Reptiles non aviens : un matériel de choix en squelettochronologie. *Bull. Soc. Herp. Fr.* **103**: 21-40.
- Castanet, J., Meunier, F.J., Ricqlès, A. 1977. L'enregistrement de la croissance cyclique par le tissu osseux chez les vertébrés poïkilothermes: données comparatives et essai de synwese. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **111**: 183-202.
- Castanet, J., Smirina, E.M. 1990. Introduction to the skeletochronological method in amphibians and reptiles. *Ann. Sci. Nat, Zool. Biol. Anim.* **11**: 191-196.
- Castanet J., Vernet R., Baez M. 1997. Reliability of skeletochronology in lizards: experimental data for three Gallotia species. Third World Congress of Herpetology- Prague. Abstract p. 37.

- Catenazzi, A. 1998. Ecologie d'une population de Salamandre tachetée au Sud des Alpes. Institut de zoologie, Faculté des sciences, Université de Neuchâtel.
- Cayuela, H., Besnard, A., Bonnaire, E., Perret, H., Rivoalen, J., Miaud, C., Joly, P. 2014. To breed or not to breed: past reproductive status and environmental cues drive current breeding decisions in a long-lived amphibian. *Oecologia* **176**: 107-116
- Cuttelod A, Garcia N, Abdul Malak D, Temple H, Katariya V. 2008. The Mediterranean: a biodiversity hotspot under threat. In: Vie J-C, Hilton-Taylor C, Stuart SN (Eds) The 2008 Review of The IUCN Red List of Threatened Species. IUCN, Gland.
- Communication de l'Office National de la Météorologie, station: Radar Séraïdi, période (1990-2010).
- Conover, D. O., Present, T.M.C.. 1990. Countergradient variation in growth rate: compensation for length of the growing season among Atlantic silversides from different latitudes. *Oecologia* 83, 316-324.
- Cox, N., Chanson, J., Stuart, S. 2006. Statut de conservation et de répartition géographique des reptiles et amphibiens dans la région du bassin méditerranéen. IUCN Gland, Switzerland.
- Dajoz R., 1982 - Précis d'écologie. Ed. Gauthier- vilars, Paris. 503p.
- Darwin, C., 1871. The Descent of Man and Selection in Relation to Sex. John Murray, London.
- Davic, R.D. et Welsh, H.H Jr., 2004. On the ecological roles of salamanders. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35: 405-434.
- De Belair, G. 1990. Structure, fonctionnement et perspectives de gestion de quatre complexes lacustres et marécageux (El Kala, Est algérien). Thèse de doctorat, Université du Languedoc, 193p.

- Denoël M., Joly P. 2000. Neotony and progenesis as two heterochronic processes involved in pedomorphosis in *Triturus alpestris* (Amphibia: Caudata). *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 267: 1481-1485.
- Diaz-Paniagua, C., Matéo, J.A. 1999. Geographic variation in body size and life-history traits in Bosca's newt (*Triturus boscai*). *Herpetological Journal* 9(1):21-27
- Diaz-Paniagua, C., Matéo, J.A., Andreu, A.C. 1996. Age and size structure of populations of small marbled newts (*Triturus marmoratus pygmaeus*) from Doñana National Park (SW Spain). A case of dwarfism among dwarfs. *Journal of Zoology* 239(1):83 – 92.
- Dinis, M., Merabet, K., Martínez-Freiría, F, Steinfartz, S., Vences, M., Burgon, J.D., Elmer, K.R., Donaire, D., Hinckley, A, Fahd, S., Joger, U., Fawzi, A, Slimani, T, Velo-Antón, G. 2018. Allopatric diversification and evolutionary melting pot in a North African Palearctic relict: The biogeographic history of *Salamandra algira*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 130 (2019) 81–91
- Donaire-Barroso, D., Bogaerts, S. 2003. A new subspecies of *Salamandra algira* Berdiaga, 1883 from northern Morocco. *Pod@rcis* 4: 84-100.
- Donaire-Barroso, D., Salvador, A., Slimani, T., El Mouden, E.H. & Martínez-Solano, I. 2008 *Alytes maurus*. IUCN Red List of Threatened Species, Version 2010.3. Available from [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org) (Accessed 10 July 2010). [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org).
- Doumergue F. 1901. Essai sur la faune erpétologique de l'Oranie avec tableaux analytiques et des notions pour la détermination de tous les Reptiles et Batraciens du Maroc, de l'Algérie et de la Tunisie. Imprimerie Typographique et Lithographique L. Fouque, Oran. 397 p.
- Duarte -Varela C,F., Cabrera M,R. 2000. Testing skeletochronology in black Tegu Lizards (*Tupinambis merianae*) of known Ages. *Herpetological Review*, 31: 224-226.
- Duellman, WE., Trueb, L. 1986. *Biology of amphibians*. New York: McGraw Hill.

- Duggen, S., Hoernle, K., Van Den Bogaard, P., Rüpke, L., Morgan, J.P. 2003. Deep roots of the Messinian salinity crisis. *Nature* 422 (6932), 602.
- Eiselt, J. 1958. Der Feuersalamander *Salamandra salamandra* (L). Beiträge zu einer taxonomischen Synthese. Abhandlungen und Berichte für Naturkunde, Museum für Naturkunde, Magdeburg **10**: 77-154.
- El Hamoumi, R., Dakki, M., Thevenot, M. 2007. Etude écologique des larves d'anoures du Maroc. *Bulletin de l'Institut Scientifique Rabat* 29: 27-34.
- El Hamoumi, R., Himmi, O., 2010. Distribution et état des lieux des peuplements d'Amphibiens dans le complexe de zones humides du bas Loukkos (Larache, Maroc). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie*, 32 : 95-100.
- Escoriza, D., Ben Hassine, J. 2014. Microclimatic variation in multiple *Salamandra algira* populations along an altitudinal gradient : phenology and reproductive strategies. *Acta Herpetol* **9**: 33-41.
- Escoriza, D., Ben Hassine, J. 2014a. *Salamandra algira* (North African fire salamander): New distribution area in Algeria. *Herpetological Bulletin* 128: 24-25.
- Escoriza, D., Ben Hassine, J. 2015. Niche Partitioning at Local and Regional Scale in the North African Salamandridae. *J. Herpetol.* **49**: 276-283.
- Escoriza, D., Ben Hassine, J. 2017. First case of predation in *Pleurodeles poireti* (Gervais, 1835). *Bol. Asoc. Herpetol. Esp.* (2017) 28(2)
- Escoriza, D., Comas, M.M. 2007. Description of a new subspecies of *Salamandra algira* Bedriaga, 1883 (Amphibia: Salamandridae) from the Beni Snassen massif (Northeast Morocco). *Salamandra* **43**: 77-90.

- Escoriza, D., Comas, M.M., Donaire, D. & Carranza, S. 2006. Rediscovery of *Salamandra algira*. Bedriaga, 1883 from the Beni Snassen massif (Morocco) and phylogenetic relationships of North African *Salamandra*. *Amphibia-Reptilia*, **27**: 448–455.
- Fachbach, von G. 1988. Röhrenknochenentwicklung und Altersbestimmung bei *Salamandra atra* LAUR., 1768 (Urodela, Salamandridae). *Zool. Anz.* 221: 188-200.
- Fahd, S., Mediani, M., Ohler, A-M., Denys, C., Santos, X. 2015. Diversité et conservation de la faune batrachologique du Bassin Versant d'Oued Laou (Rif, nord-ouest du Maroc. Travaux de l'Institut Scientifique, Série Générale. 8, 69-84
- Fattah, A., Slimani, T., El Mouden, E.H., Grolet, O., Joly, P. 2014. Age structure of a population of *Barbarophryne brongersmai* (Hoogmoed 1972) (Anura, Bufonidae) inhabiting an arid environment in the Central Jbilets (West-Morocco). *Acta Herpetol.* **9**: 237-242.
- Fortin, C., Ouellet, M., Galois, P. 2004. « Les amphibiens et les reptiles des îles de l'estuaire du Saint-Laurent: mieux connaître pour mieux conserver » le naturaliste canadien, Vol 128 n°1.
- Francillon, H. 1979. Étude expérimentale des marques de croissance sur les humerus et femurs des tritons crêtés (*Triturus cristatus*, *cristatus Laurenti*) en relation avec la détermination de l'âge individuel. *Acta Zool (Stockholm)* **60**: 223–232.
- Frost, D.R., Grant, T., Faivovich, J., Bain, R.H., Haas, A., Haddad, C.F.B., de Sá, R.O., Channing, A., Wilkinson, M., Donnellan, S.C., Raxworthy, C.J., Campbell, J.A., Blotto, B.L., Moler, P., Drewes, R.C., Nussbaum, R.A., Lynch, J.D., Green, D.M. & Wheeler, W.C. 2006. The Amphibian Tree of Life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, no. 297, 15 Mar 2006 : 1-370.

- García-París, M., Alcobendas, M., Buckley, D., Wake, D.B., 2003. Dispersal of viviparity across contact zones in Iberian populations of fire salamanders (*Salamandra*) inferred from discordance of genetic and morphological traits. *Evolution* 57, 129–143.
- García-Porta, J., Litvinchuk, S.N., Crochet, P.A., Romano, A., Geniez, P., Lo Valvo, M., Lymberakis, P., Carranza, S. 2012. Molecular phylogenetics and historical biogeography of the west-palaearctic common toads (*Bufo bufo* species complex). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63, 113–130.
- Gervais, P. 1836. Énumération de quelques espèces de reptiles provenant de Barbarie. *Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim. Paris*, série 2, 6: 308-313.
- Ghanem, R. 2014. Facteurs biotiques impliqués dans l'état sanitaires des subérais du Nord-Est Algérien. Effet des insectes ravageurs sur les feuilles et les glands. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba.
- Gibbons, JW, et al. 2000. The global decline of reptiles and amphibians. » *BioScience* 50: 653–666.
- Grosselet O., Bartheau F., Dusoulier F. et Gouret L., 2001. Guide de détermination des Amphibiens et des Reptiles du Massif armoricain. Association « De Mare en Mare ». 71p.
- Godwina, JW., Pintoa, AR., Rosenthala, NA. 2013. Macrophages are required for adult salamander limb regeneration. *J Exp Zool* 314(8):684–697.
- Gomez-Rodriguez, C., Diaz-Paniagua, C., Bustamante, J., Portheault, A., Florencio, M. 2010. Inter-annual variability in amphibian assemblages: implications for diversity assessment and conservation. *Aqua. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 20: 668–677.
- Gouy, M., Guindon, S., Gascuel, O. 2010. SEAVIEW version 4.2.12; a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Mol. Biol. Evol.* 27: 221–224.

- Guarino, F.M., Lunardi, S., Carlomagno, M., Mazzotti, S. 2003. A skeletochronological study of growth, longevity and age at sexual maturity in a population of *Rana latastei* Boulenger, 1879 (Amphibia, Anura). *J. Biosci.* 28: 775-782.
- Guichenot, A. 1850. Exploration scientifique de l'Algérie : pendant les années 1840, 1841, 1842. Sciences physiques. Histoire naturelle des reptiles et des poissons. Vol. 5, Paris.
- Guidoum, M. 2015. Biodiversité génétique, cancer de la thyroïde et environnement. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba.
- Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 59: 307-321.
- Halliday, T. R., Verrell, P. A. 1988. Body size and age in amphibians and reptiles. *J. Herpetol.* 20: 570-574.
- Hamblin, C., Henderson, P.A., Speight, M.R. 2011. Extinction rates, extinction-prone habitats, and indicator groups in Britain and at larger scales. *Biol Conserv.* 144: 713-721.
- Hamra-Kroua S. 2005. Les Collemboles (Hexapoda, Arthropoda) du Nord-Est algérien Taxonomie, biogéographie et écologie. Thèse de doctorat. Université Mentouri, Constantine. 266p.
- Harris, D.J., Perera, A. 2009. Phylogeography and genetic relationships of North African *Bufo mauritanicus* Schlegel, 1841 estimated from mitochondrial DNA sequences. *Biologia* 64: 356-360.
- Hemelaar A. 1986. Demographic study on *Bufo bufo* L. (Anura, Amphibia) from different climates, by means of skeletochronology. PhD Thesis, University of Nijmegen, (NL). 135p.

- Heyer, W.R., Donnelly, M.A., Mcdiarmid, R.W., Hayek, L.A.C, et Foster, M.S. 1994. Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for amphibians. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., 364 p.
- Honek, A. 1993. Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: a general relationship. *Oikos* 66:483–492.
- Houlahan, JE, Findlay, CS, Schmidt, BR, Meyer, AH, Kuzmin, SL. 2000. Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature* 404: 752–755.
- Hsouna S. 2014. Construction d'une base de données sur les polymorphismes de l'and mitochondrial dans les populations tunisiennes et méditerranéennes, étude phylogénétique et analyses statistiques appliquées au diabète de type 2. Thèse de doctorat en biologie Université El-manar, Tunis, Tunisie, 208.
- Hua, X., Wiens, J.J. 2010. Latitudinal variation in speciation mechanisms in frogs. *Evolution* 64:429–443.
- Jean, P. 2013. La detection des espèces par ADN environnemental: vers un nouvel outil de veille écologique des milieu aquatiques stagnants. Mémoire de master sciences des sociétés et de leur environnement. Université Lumière Lyon 2.
- Joger, U. Steinfartz, S. 1995. Protein electrophoretic data on taxonomic problems in East Mediterranean Salamandra (Urodela: Salamandridae). *Scientia Hereptologica*, 1995, 33 36.
- Joly, P. 1991. Variation in size and fecundity between neighbouring populations in the common frog, *Rana temporaria*. *Alytes* 9: 79-88.
- Joly P., Grolet O. 1996. Colonization dynamics of new ponds, and the age structure of colonizing Apline newts, *Triturus alpestris*. *Acta-Oecol.*, 17: 599- 608.

- Kefi-Ben Atig, R., Hsouna, S., Beraud-Colomb, E, et Abdelhak, S. 2009. AND mitochondrial: propriétés et applications. *Arch. Inst. Pasteur Tunis* 86 (1-4).
- Kiesecker J.M., Blaustein A.R. & Belden L.K. 2001. Complex causes of amphibian population declines. *Nature*, 410, 681-684.
- Kupfer, A., 2007. Sexual size dimorphism in amphibians: an overview. In: Fairbairn, D.J., Blanckenhorn, W.U., Székely, T. (Eds.), *Sex, Size and Gender Roles. Evolutionary Studies of Sexual Size Dimorphism*. Oxford University Press, New York, pp. 50–59.
- Kutrup, B., Bülbül, U. and Yilmaz, N. 2005. Age structure in two populations of *Triturus vittatus ophryticus* at different altitudes, *Amphibia Reptilia*, vol. 26, no. 1, pp. 49–54.
- Lansari, A., Vences, M, Hauswaldt, S., Hendrix, R., Donaire, D., Bouazza, A., Joger, U., El Mouden, E.M., Slimani, T. 2015. The Atlas Massif separates a northern and a southern mitochondrial haplotype group of North African water frogs *Pelophylax saharicus* (Anura: Ranidae) in Morocco. *Amphibia-Reptilia* (2015) DOI:10.1163/15685381-00003015.
- Laurin, G. 1994. Démographie, morphométrie et fécondité chez deux populations Québécoises de grenouilles du Nord (*Rana septentrionalis*). Mémoire de maîtrise. Université du Québec à trois-rivières.
- Le Berre, M. 1989. Faune de Sahara, 1. Poissons-Amphibiens-Reptiles. Lechevalier-R. Chabaud, Paris, France.
- Leclair R., Castanet J. 1987. A skeletochronological assesment of age and growth in the frog *Rana pipiens* Schreber (Amphibia, Anura) from southwestern Quebec. *Copeia*, 2: 3613-69.
- Lips K.R. 1999. Mass mortality of the anuran fauna at an upland site in Panama. *Conservation Biology*, 13,117–125.

- Lovich, J. E., Gibbons, J.W. 1992. A review of techniques for quantifying sexual size dimorphism. *Growth Dev. Aging*, 1992, vol. 56, no. 4, 269–281.
- Mamou, R. 2011. Contribution à la connaissance des amphibiens et des reptiles du Sud de la Kabylie (W. de Bouira et de Bordj Bou Arreridj). Mémoire de Magister en Ecologie et Biologie des Populations, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen.
- Margulis, L. 1976. Genetic and evolutionary consequences of symbiosis. *Exp. Parasitol.* 39, 277–349.
- Magurran, A.E., Baillie, S.R., Buckland, S.T., McP.Dick, J., Elston, D.A., Scott, E.M., Smith, R.I., Somerfield, P.J., Watt, A.D. 2010. Long-term datasets in biodiversity research and monitoring: assessing change in ecological communities through time. *Trends in Ecology and Evolution* 25 (2010) 574–582.
- Martin, A., Schlaepfer, Craig Hoover, et Kenneth Dodd, C.JR. 2005. «Challenges in Evaluating the Impact of the Trade in Amphibians and Reptiles on Wild Populations» 256 *BioScience* • March 2005 / Vol. 55 No. 3
- Martínez-Solano, Í., Gonçalves, H.A., Arntzen, J.W., García-París, M. 2004. Phylogenetic relationships and biogeography of midwife toads (Discoglossidae: Alytes). *Journal of Biogeography*, 31, 603–618.
- Matéo, J., Geniez, P., Pether, J. 2013. Chapter 26; Diversity and conservation of Algerian amphibian assemblages. *Basic and Applied Herpetology* 27 (2013): 51-83
- Mayers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A.B., Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**: 853-858.
- Mazières, S. 2006. Le peuplement amerindien de la Guyane Française : apport des marqueurs moléculaires. Thèse pour l'obtention d'un doctorat à l'Université Toulouse III- Paul Sabatier. U.F.R SVT.

- McDiarmid R.W., Altig R. 1999. Tadpoles. The Biology of Anuran Larvae. The University of Chicago Press, Chicago and Londres, 444 p.
- McFarland, R., Taylor, R.W., et Turnbull, D.M. 2007. Mitochondrial Disease—Its Impact, Etiology, and Pathology. Current Topics in Developmental Biology, Vol. 77.
- Médail, F., Quézel, P. 1999. Biodiversity hotspots in the Mediterranean Basin: setting global conservation priorities. *Conserv. Biol.* **13**: 1510–1513
- Merabet, K., Sanchez, E., Dahmana, A., Bogaerts, S., Donaire, D., Steinfartz, S., Joger, U., Vences, M., Karar, M., Moali, A. 2016. Phylogeographic relationships and shallow mitochondrial divergence of Algerian populations of *Salamandra algira*. *Amphibia-Reptilia* **37** : 1-8.
- Merabet, K. 2016a. Synthesis on *Salamandra algira algira* (Bedriaga, 1883) in Algeria DOI: 10.13140/RG.2.1.1410.5367
- Merabet, K., Karar, M., Dahmana, A., Moali, A. 2016b. New locality of *Salamandra algira* in Algeria. *The Herpetological Bulletin* 135, 2016 : 32-33.
- Merabet, K., Dahmana, A., Karar, M., Moali, A. 2016c. New occurrence record of the Algerian ribbed newt *Pleurodeles nebulosus* (Guichenot, 1850) in Algeria. *The Herpetological Bulletin* 137, 2016: 43
- Miaud, C. 1992. La squelettochronologie chez les *Triturus* (Amphibiens, Urodèles) à partir d'une étude de *T.alpestris*, *T.helveticus* et *T.cristatus* du Sud-Est de la France. In: Baglinière J.L, Castanet J., Conand F. & Meunier F.J., Tissus durs et âge individuel des vertébrés. Colloque ORSTOM-INRA, Bondy, 4-6 mars 1991, Editions de l'ORSTOM, pp. 363-384.
- Miaud, C. 2005. Méthodes d'inventaire et d'identification des amphibiens. Université de Savoie, UFR CISM, 73 376 La Bourget du Lac, France.

- Miaud, C., Andreone, F., Ribéron, A., De Michelis, S., Clima, V., Castanet, J., Francillon-Vieillot, H., Guyétant, R. 2001. Variations in age, size at maturity and gestation duration among two neighbouring populations of the alpine salamander (*Salamandra lanzai*). J. Zool., Lond. **254**: 251-260.
- Miaud C., Guyétant, R., Faber, H. 2000. Age, size and growth of the alpine newt, *Triturus alpestris* (Urodela: Salamandridae) in high altitude and a review of life-history trait variation throughout its range. Herpetologica **56**: 135-144.
- Miaud C., Guyétant R., Elmberg J. 1999. Variation in life history traits in the common frog *Rana temporaria* (Amphibia: Anura) a literature review and new data from the French Alps. J. Zool. Lond., 249: 61-73.
- Miaud, C., Joly, P., Castanet, J. 1993. Variation in age structures in a subdivided population of *Triturus cristatus*. Can. J. Zool. **71**: 1874-1879.
- Miaud, C. Muratet, J. 2004. Identifier les œufs et les larves des amphibiens de France. INRA Editions « Institut National de la Recherche Agronomique » Paris 200p.
- Nicolas, V., Mataame, A., Crochet, P,A., Geniez, P., Ohler, A. 2015. Phylogeographic patterns in North African water frog *Pelophylax saharicus* (Anura: Ranidae). J Zoolog Syst Evol Res doi: 10.1111/jzs.12094.
- Nicolas, V., Mataame, A,R., Crochet, P,A., Geniez, P., Fahd, S., Ohler, A. 2018. Phylogeography and ecological niche modeling unravel the evolutionary history of the African green toad. *Bufo boulengeri boulengeri* (Amphibia: Bufonidae), through the Quaternary. J Zool Syst Evol Res. 56 :102–116.
- Necib, A. 2016. Etude aéropalynologique de l’atmosphère de la région de Annaba (cas des taxons allergisants). Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba

- Olivio, PD., Van de Walle, MJ., Laipis, PJ., Hauswirth, WW. 1983. Nucleotide sequence evidence for rapid genotypic shifts in the bovine mitochondrial DNA D-loop. *Nature* 306 :400-402.
- Parish CL., Beljajeva A., Arenas E., Simon A. 2007. Midbrain dopaminergic neurogenesis and behavioural recovery in a salamander lesion-induced regeneration model. *Development* 134(15):2881–2887.
- Parrain, N. (Coord). 2010. Atlas Préliminaire des reptiles et amphibiens de la Drôme, Groupe Herpétologique de la Drôme. LPO Drôme: 107 pp.
- Pasteur, G., Bons, J. 1959. Les Batraciens du Maroc. Rabat: Travaux de l’Institut Scientifique Chérifien, Série Zoologie n° 17. 241 pp.
- Penchmann, J,H,K. 2003. Natural population fluctuations and human influences: Null models and interactions. In *Amphibian conservation*, ed. R. D. Semlitsch, 85–93. Washington, DC: Smithsonian Books.
- Petit, R,J., Brewer, B.,Bordács, S., Burge, K., Cheddadi, R., Coart, E., Cottrell, R., Csaikl, U, M., Dam, M., et al. 2002. Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management* 156 (2002) 49–74
- Pidancier, N., Miquel, C., Miaud, C. 2003. Buccal swabs as a non-destructive tissue sampling method for DNA analysis in amphibians. *Herpetol. J.* **13**: 175-178.
- Poschadel, JR., Moller, D. 2004. A versatile field method for tissue sampling on small reptiles and amphibians, applied to pond turtles, newts, frogs and toads. *Conserv. Genet.* **5**: 865-867.
- Pough, F. H., C. M. Janis, and J. B. Heiser. 2001. *Vertebrate life*. (6th ed.). Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.

- Prunier, J., Kaufmann, B., Grolet, O., Picard, D., Pompanon, F., Joly, P. 2012. Skin swabbing as a new efficient DNA sampling technique in amphibians, and 14 new microsatellite markers in the alpine newt (*Ichthyosaura alpestris*). *Mol. Ecol. Resour.* **12**: 524-531.
- Pyron, R.A., Wiens, J.J. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 543–583.
- Quezel P., Médail F. 2003. *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Ed. Sc. Méd. Elsevier SAS. Paris, 571p.
- Ramade, F. 1984. *Elément d'écologie fondamentale*. Ed. Mc. GRAW-HILL. Paris. 397p.
- Raven P., Losos J., Johnson G. et Singer S., 2007. *Biologie*. Ed de boeck. 1250p.
- Rebelo, R., Caetano, M. H. 1995. Use of skeletochronological method for ecodemographical studies on *Salamandra salamandra gallaica* from Portugal. *Sci. Herpetol.* 1995: 135-140.
- Rebelo, B., Leclair, M.H. 2003. Site tenacity in the terrestrial salamandrid *Salamandra salamandra*. *J. Herpetol.* **37**: 440–445.
- Recuero, E., Canestrell, D., Vörös J. Szaboo, K., Poyarkov, N. A. Arntzen J. W. Crnobrnja-Isailovic, J. Kidov, A. A., Cogalniceanu, D. Caputo, F. P. 2012. Multilocus species tree analyses resolve the radiation of the widespread *Bufo bufo* species group (Anura, Bufonidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62:71–86.
- Recuero E., Iraola A., Rubio X. et al. 2007. Mitochondrial differentiation and biogeography of *Hyla meridionalis* (Anura: Hylidae): an unusual phylogeographical pattern. *Journal of Biogeography*, 34(7), 1207-1219.
- Reinhard, S., Renner, S., Kupfer, A. 2015a. Sexual dimorphism and age of Mediterranean salamanders. *Zoology* **118**: 19–26.

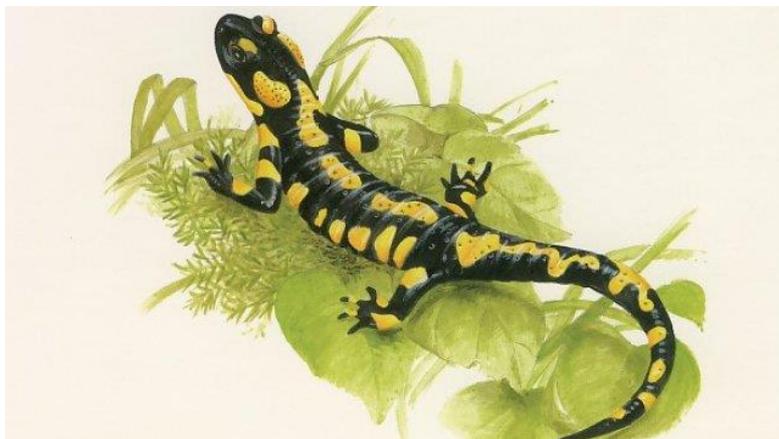
- Reinhard, S., Renner, S., Kupfer, A. 2015b. Age and fecundity in *Salamandra algira* (Caudata: Salamandridae). *Salamandra* **51**: 19-24.
- Rouag, R. 2016. Approche fonctionnelle de l'écologie de deux espèces de Reptiles Lacertidés insectivores (*Psammmodromus algirus* et *Acanthodactylus erythrurus*) et d'un reptile chélonien phytophage (*Testudo graeca graeca*), dans un maquis dunaire du parc national d'El-Kala (Wilaya d'El-Tarf). Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba.
- Salvador A. 1996. Amphibians of northwest Africa. *Smith. Herpet. Inform. Serv.*, 109: 1-45 p.
- Samraoui, B., De Bélair, G. 1997. The Guerbes-Senhadja wetlands. Part I: An overview. *Ecologie*, 28: 233-250.
- Samraoui, B., Samraoui, F., Benslimane, N., Alfarhan, A., Al-Rasheid, K.A.S. 2012. A precipitous decline of the Algerian newt *Pleurodeles poireti* Gervais, 1835 and other changes in the status of amphibians of Numidia, north-eastern Algeria. *Rev.Ecol.-Terre Vie* **67**: 71-81.
- Seltzer P. (1946): Le climat de l'Algérie. Travaux de l'Inst. Météo. et physique du globe. Alger, 219p.
- Schleich, H.h., Kästle, W., Kabisch, K. 1996. *Amphibians and Reptiles of North Africa*. Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany.
- Sibly, R. M., Atkinson, D. 1994. How rearing temperature affects adult size in ectotherms. *Funct. Ecol.* 8: 486-493.
- Shaffer H, McKnight ML. 1996. The polytypic species revisited: Genetic Differentiation and molecular phylogenetics of the tiger salamander *Ambystoma tigrinum* complex. *Evolution*, 50 (1), 417–433.
- Singh BN., Koyano-Nakagawa N., Garry JP., Weaver CV. 2010. Heart of newt: A recipe for regeneration. *J Cardiovasc Transl Res* 3(4):397–409.

- Smirina E. M. 1972. Annual layers in bones of *Rana temporaria*. *Zool. Zh.*, 51: 1529-1534.
- Stearns, S. C. 1992. The evolution of life-histories. Oxford: Oxford University Press.
- Steinfartz, S., Veith, M., Tautz, D. 2000. Mitochondrial sequence analysis of *Salamandra* taxa suggests old splits of major lineages and postglacial recolonizations of central Europe from distinct source populations of *Salamandra salamandra*. *Mol. Ecol.* **9**: 397-410.
- Stöck M., Dubey S., Klütsch C. et al. 2008. Mitochondrial and nuclear phylogeny of circum-Mediterranean tree frogs from the *Hyla arborea* group. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49, 1019–1024.
- Stöck M., Dufresnes C., Litvinchuk S.N. et al. 2012. Cryptic diversity among Western Palearctic tree frogs Postglacial range expansion, range limits, and secondary contacts of three European tree frog lineages (*Hyla arborea* group). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65, 1–9.
- Strayer, D.L. Dudgeon, D. 2010. Freshwater biodiversity conservation : recent progress and future challenges. *Journal of the North American Benthological Society* 29:344-358..
- Stuart S.N., Chanson J.S., Cox N.A., Young B.E. 2004. Status and trends of Amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306, 5702, 1783-1786.
- Tanaka EM., Reddien PW. 2011. The cellular basis for animal regeneration. *Dev Cell* 21(1):172–185.
- Targa, S. 2013. Contribution à l'étude morphométrique et biogéographique des Ophidiens de la Kabylie (Algérie). Memory of Master, Université Mouloud Mammeri . 129 pp.
- Thirion, J.M., Gouraud, C., Vollette, J., Texier, A., Sudraud, J. 2016. Suivi des Amphibiens des mares de bordure du Marais poitevin 2011-2015. Rapport. Observatoire du Patrimoine Naturel du Marais poitevin : <http://www.biodiversite.parc-marais-poitevin.fr/>

- Thurre, D., médiateur culturel. 2009. Grenouilles, crapauds et autres amphibiens- Muséum d'histoire naturelle de la ville de Genève.
- Tir, K. 2009. Climatogramme d'Emberger, analyse et correction dans certaines stations météorologiques de l'Est Algérien. Magister. Université Badji Mokhtar Annaba.
- Toth, J. 1987. Effet des facteurs d'environnement sur l'accroissement du cèdre de l'Atlas. Bull. Soc. et Nat. Vaucluse. Pp.13-49.
- Veith M., Mayer C., Samraoui B., Donaire Barroso D., Bogaerts S. 2004. From Europe to Africa and vice versa: evidence for multiple intercontinental dispersal in ribbed salamanders (Genus *Pleurodeles*). J. Biogeogr., 31: 159-171.
- Véla, E., Benhouhou, S. 2007. Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). C.R. Biologies **330**: 589-605.
- Véla E., Magnin F., Pavon D., Pfenninger M. 2008. Phylogénie moléculaire et données paléobiogéographiques sur le gastéropode terrestre *Tudorella sulcata* (Draparnaud, 1805) en France et en Algérie orientale. Geodiversitas **30**: 233-246.
- Vences, M., Nicolas, V., de Pous, P., Díaz-Rodríguez, J., Donaire, D., Hugemann, K., Hauswaldt, S., Amat, F., Barnestein, J.A.M., Bogaerts, S., Bouazza, A., Carranza, S., Galán, P., de la Vega, J.P.G., Joger, U., Lansari, A., El Mouden, H., Ohler, A., Sanuy, D., Slimani, T., Tejedo, M. 2014. Characterizing contact zones of painted frogs (*Discoglossus*) in northern Africa and the Iberian Peninsula. *Amphibia Reptilia* 35: 305-320.
- Vences M, Sanchez E, Hauswaldt JS, Eikelmann D, Rodriguez A, Carranza S, Donaire D, Gehara M, Helfer V, Lötters S, Werner P, Schulz S, Steinfartz S. 2014. Nuclear and mitochondrial multilocus phylogeny and survey of alkaloid content in true salamanders of the genus *Salamandra* (Salamandridae). *Mol Phylogenet Evol* 73:208– 216.

- Veríssimo, J., Znari, M., Stuckas, H., Fritz, U., Pereira, P., Teixeira, J., Arculeo, M., Marrone, F., Sacco, F., Naimi, M., Kehlmaier, C., Velo-Antón, G. 2016. Pleistocene diversification in Morocco and recent demographic expansion in the Mediterranean pond turtle *Mauremys leprosa*. *Biol. J. Linn. Soc.* 119, 943–959.
- Vié J., Hilton-Taylor C., Stuart S. 2009. *Wildlife in a changing world. An analysis of the 2008 IUCN red list of threatened species.* World Conservation Union, Gland, Switzerland, 194p.
- Wagner, A., Schabetsberger, R., Sztatecsny, M., Kaiser, R. 2011. Skeletochronology of phalanges underestimates the true age of long-lived Alpine newts (*Ichthyosaura alpestris*). *Herpetol. J.* **21**: 145-148.
- Wake, D.B. 1991. Declining amphibian populations. *Science* 253:860
- Waples, RS., Gaggiotti, O. 2006. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Molecular Ecology*, 15, 1419–1439
- Wells KD. 2007. *The ecology and behavior of amphibians.* University of Chicago press. 1162p.
- Yacoubi Loueslati, B., Ennafaa, H., Ben Amor, M., Heyer, E., Langaney, A. 1998. Le polymorphisme de l'ADN mitochondrial révèle une différenciation génétique entre certains groupes ethniques de la population de Jerba. *Archs. Inst. Pasteur Tunis*, 1998, 75 (1/2), 3-8
- Zangari, F., Cimmaruta, R., Nascetti, G. 2006. Genetic relationships of the western Mediterranean painted frogs based on allozymes and mitochondrial markers: evolutionary and taxonomic inferences (Amphibia, Anura, Discoglossidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 87: 515-536.

# PUBLICATION SCIENTIFIQUE



# Phylogeny, age structure, growth dynamics and colour pattern of the *Salamandra algira algira* population in the Edough Massif, northeastern Algeria

Selma Bouzid<sup>1,\*</sup>, Lara Konecny<sup>2</sup>, Odile Grolet<sup>2</sup>, Christophe J. Douady<sup>2,3</sup>, Pierre Joly<sup>2,3</sup>, Zihad Bouslama<sup>1</sup>

**Abstract.** The distribution of the Fire Salamander in North Africa is discontinuous and the Edough Peninsula, Algeria, is considered as the eastern edge of the distribution area. In the current study, we establish a description of the *Salamandra algira algira* population in its type locality. In this context, an analysis of the mitochondrial DNA D-loop of 47 sequences comes to confirm the phylogenetic status of our population with regard to the other Algerian and Moroccan populations. Also, we used the skeletochronological method for establishing the age structure of the population. Maximum longevity reached 18 years, with a high frequency of young adults, which suggests a good survival of the juveniles. The growth of males is faster than that of the females, although the maximum size of the males is 180 mm, while that of the females is 210 mm. The Edough's salamander's phenotype is characterized by multiple small white spots dispersed in different parts of the body (belly, sides, legs and throat) and a high number of large red spots. These red spots are surrounded by a ring of small white spots on the lower part of the body and sometimes on the legs, thus creating specific eyespots that are often aligned along the lower sides.

**Keywords:** amphibians, colouration, Edough, eyespots, mtDNA D-loop, *Salamandra algira algira*, skeletochronology, Urodela.

## Introduction

The North African region is known as a biodiversity hotspots (Mayers et al., 2000, Véla and Benhouhou, 2007; Cuttelod et al., 2008), belonging to the Mediterranean biota. Its geographical position between two barriers, the Mediterranean Sea in the North and the Sahara Desert in the South, strongly influences the distribution of biodiversity and has determined the rates of endemism in amphibians (Schleich, Kästle, and Kabisch, 1996). The Edough Massif, located in the north east of Algeria,

is a good example of this biodiversity (Médail and Quézel, 1999; Véla et al., 2008), with the presence of the endemic newt *Pleurodeles poireti* (Gervais, 1836), together with the two other known Algerian Urodeles: the newt *Pleurodeles nebulosus* (Guichenot, 1850) and the salamander *Salamandra algira* (Bedriaga, 1883). The type-specimen of this last species was caught in this region (Eiselt, 1958). Confronted to the sub-humid and humid forests of Morocco, Algeria and Spain (Schleich et al., 1996; Donaire-Barroso and Bogaerts, 2003, Escoriza and Ben Hassine, 2014), the distribution of *S. algira* remains highly fragmented because suitable ecological conditions only prevail in some mountainous areas (Escoriza et al., 2006; Escoriza and Ben Hassine, 2015). However, some recent genetic studies regarding the Algerian populations of *S. a. algira* (Ben Hassine et al., 2016; Merabet et al., 2016) have confirmed its monophyletic origin, despite this patchy distribution. Notwithstanding, Algerian populations differ phylogenetically from the Moroccan

---

1 - Laboratoire d'Ecologie des Systèmes Terrestres et Aquatiques, Faculté des Sciences Sciences, Université Badji Mokhtar, 23000 Annaba, Algeria

2 - UMR 5023 Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes naturels et anthropisés, Université de Lyon, Université Lyon1, CNRS, ENTPE, bât. Darwin C, 69622 Villeurbanne Cedex, France

3 - Institut Universitaire de France, 75005 Paris, France

\*Corresponding author;

e-mail: selma.bouzid@hotmail.com

ones, where three subspecies have been identified: *S. a. tingitana*, *S. a. spelaea* and *S. a. splendens* (Donaire-Barroso and Bogaerts, 2003; Escoriza and Comas, 2007; Beukema et al., 2013). The nominotypical subspecies, *Salamandra algira algira* appears to be endemic to Algeria (Escoriza et al., 2006; Ben Hassine et al., 2016), and the phylogenetic separation from its Moroccan sister subspecies, *tingitana* and *splendens*, dates from the Miocene. Its distribution is highly fragmented by both climatic and orographic constraints, creating “insular” mountain populations, leading to high genetic differentiation (Escoriza and Ben Hassine, 2015; Ben Hassine et al., 2016). This fragmentation toward local populations along with a west-east climatic gradient may have influenced the life-history characteristics of these populations, such as age structure, growth rate, longevity, and body size (Ento and Mastsui, 2002; Cayuela et al., 2014). Furthermore, Ben Hassine et al. (2016) suggest variations in colouration patterns between populations. Despite recent progress (Escoriza and Ben Hassine, 2015; Ben Hassine et al., 2016), the current knowledge about the ecology of *S. a. algira* in Algeria remains incomplete, especially with regard to population biology. As the easternmost population in the Maghreb is the most isolated one, we decided to pay particular attention to it, which generally inhabits relatively high altitudes (around 750 m) in this region that reaches an elevation of 1008 m at its highest point (Samraoui et al., 2012). In order to provide data for further comparison with other populations, our plan was threefold: 1) to specify and confirm the phylogenetic status of this population by comparing a large sample of the individual mtDNA with samples from Algeria and other regions of the Maghreb; 2) to establish body size, age structure, and growth dynamics in order to provide data concerning the profile of the population life history; 3) to accurately describe its colour phenotype to provide data for a detailed comparison with other populations.

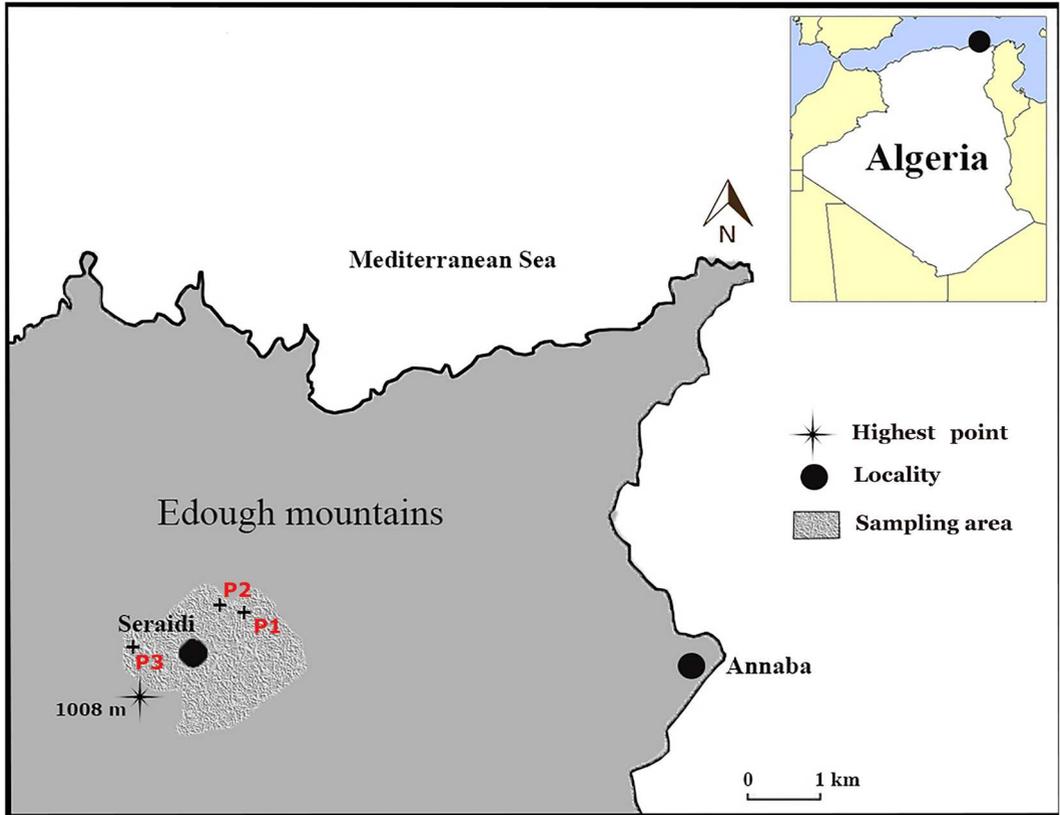
## Materials and methods

### Study sites and sampling protocol

Three sites were sampled within the Edough mountain region (Fig. 1), near to Annaba (northeast of Algeria), the type locality of *Salamandra algira* (Eiselt, 1958). The sampling was conducted on fifty-two individuals (34 females, 14 males, and 4 juveniles) during the breeding season from October to December 2015 (Escoriza and Ben Hassine, 2014). The sampling was done during the day and after rainfall periods, through turning stones and pieces of wood. Salamanders were found in humid zones within zéen oak forests (*Quercus canariensis*) at the altitudes of 744 m, 762 m, and 750 m, corresponding to P1, P2, and P3, respectively. All handling was performed by the first author, immediately after capture to reduce animals' stress. They were sexed based on their external characters (mainly cloaca shape, gravidity) (Rebello and Leclair, 2003). Individuals were anesthetized using ANESDERM Gé Ointment (5% lidocaïne). We measured snout-vent length (SVL) from the tip of the snout to the anterior edge of the cloaca and the tail length (TL) measured from the anterior edge of cloaca to the tip of the tail, using a calliper (0.02 mm accuracy). Salamanders were weighed using a portable Tanita-1479 scale (accuracy 0.1 g). We photographed different parts of the body for analysing colouration patterns. The third toe of one of the hind legs was clipped and then kept in Eppendorf tubes filled with 90% of ethanol. Cells of the mouth cavity were sampled using the buccal swabbing method (Pidancier, Miquel and Miaud, 2003; Poschadel and Moller, 2004). The swabs were placed in Eppendorf tubes, preserved in a glass jar with Silica gel granules to ensure good DNA conservation (Prunier et al., 2012). All the individuals survived the treatment and quickly recovered consciousness. They were then rinsed with fresh water, and released at the exact spot of their capture.

### DNA processing

The DNA was extracted from swabs using proteinase K (15 mg/mL) with 7% Chelex (Casquet, Thebaud and Gillespie, 2012). The three mitochondrial genes, Cytochrome b (cytb), 12S rRNA and D-loop were amplified using the following primers SalaCytbF (5'-CTAATGACCCACATCCTT CGAAAAACA-3'), SalaCytbR (3'TGGGAGTACGTATCC TACAAAGGCTG-5') for cytb, 12SAL (5'-AAACTGGGA TTAGATACCCACTAT-3'), 16SR3 (3'-TTTCATCTTCC CTTGCGGTAC-5') for 12S rRNA and L-Pro-ML (5'-GGCACCCAAGGCCAAAATTCT-3'), H-12S1-ML (3'-C AAGCCAGGACCAAAACCTTTA-5') for the D-loop fragment (Merabet et al., 2016). The final volume of PCR was 30  $\mu$ l, composed as follows: 3 mL of standard buffer 10 $\times$ , 0.9  $\mu$ l of MgCl<sub>2</sub> 50 $\mu$ M, 0.6  $\mu$ l of primer 10 mM (forward and reverse), 0.3  $\mu$ l of BSA 100 $\times$ , 0.26  $\mu$ l dNTP 20 mM, 0.26  $\mu$ l EUROBIOTAQ DNA pol 5 U/mL and 22.09 of purified water, with 2  $\mu$ l DNA, following the same conditions and cycle numbers as in Merabet et al. (2016),



**Figure 1.** Location of the area sampled in the region of the highest summit of the Edough Massif, Annaba (North-East of Algeria). P1 site “Ain Chfa” ( $36^{\circ}54'844''\text{N}$ ;  $7^{\circ}41'085''\text{E}$ , 744 m altitude), P2 site “La source” ( $36^{\circ}54'37.80''\text{N}$ ;  $7^{\circ}40'04.09''\text{E}$ , 762 m altitude) and P3 site “Pont Romain” ( $36^{\circ}54'14.72''\text{N}$ ;  $7^{\circ}39'03.05''\text{E}$ , 750 m altitude).

whom themselves are following Steinfartz, Veith and Tautz (2000), and Beukema et al. (2010). We checked the amplification through migration of a  $5\text{-}\mu\text{l}$  sample of PCR product stained with  $1\ \mu\text{l}$  of Blue-GelRed on 1.3% agarose gel in TAE. DNA sequencing was performed by BIOFL-DAL Laboratory (Lyon, France) amidst both amplification primers.

We only used the D-loop sequences from the Algerian populations (*S. algira algira*) published in (Merabet et al., 2016), from Annaba (Steinfartz et al., 2000), those from the Moroccan populations (*S. algira tingitana*, *S. algira splendens*, and *S. algira spelaea*) were retrieved from NCBI. Clear sequence alignments were produced by eye using SEAVIEW software 4.2.12 (Gouy, Guindon and Gascuel, 2010). Cytb and 12S data were found to be highly conserved in all the sampled specimens, thus we only used D-loop sequences for further analyses. Maximum likelihood phylogenies were estimated using PhyML (Version 3.0; Guindon et al., 2010) under a GTR + G + I model of evolution. Estimation of Branch support was conducted using LRT metrics (Anisimova and Gascuel, 2006).

#### Age estimation

To estimate individuals age, we used the skeletochronology method (Castanet and Smirina, 1990) based on the formation of a line of arrested growth (LAGs) during periods of inactivity, especially when overwintering (Castanet, 2002). We used the phalange bones since the implied injury is mitigated by finger regeneration within one year after sampling. After removing the skin, the bone was decalcified through its immersion in a solution of nitric acid, depending on the bone diameter, at a concentration of 0.5, 1 or 3%. Cross-sections (18 and  $20\ \mu\text{m}$  thickness) were cut in the diaphysis region using a freezing microtome (Microm). The sections were stained with Ehrlich's hematoxylin (Miaud, 1992; Miaud, Joly and Castanet, 1993). Sections were examined independently by at least two people using a BX51 Olympus microscope, before being photographed using a Cell-D software.

The first immediate and permanent convergence regarding the lines of arrested growth (LAGs) corresponds to the age of maturity (Fattah et al., 2014). The age of the oldest individuals can be underestimated as endosteal resorption can destroy the oldest bone layers (Miaud, 1992; Miaud et

al., 2001; Castanet, 2002). In our population, we detected a clear tightening between the LAGs that usually refers to sexual maturity in salamanders. This last one is reached at three years in both sexes. As a result, we added three years if the bone section exhibited high endosteal resorption, and when the detectable LAGs were very tight, thus expressing the typical slow growth that takes place after maturity is reached. This compensation was necessary for 6 individuals. We have been aware for identifying LAGs due to the detrimental effect of drought events on growth. These LAGs are closely parallel to a LAG due to overwintering and they are discontinuous. We used the normality test Shapiro-Wilk and Pearson correlation processed with the software R.

#### Colour patterns

Beside the large yellow/orange stains on the back similar to those observed in other populations, we focused on small white dots and large red spots. For each individual, we calculated the number and the location of these two kinds of marks on the different parts of the body (throat, belly, sides and legs) using photos. We regularly detected associations of the red and white dots, often combined into eyespots with small white dots encircling a larger red spot. We counted these eyespots, especially on the sides of the body where they were often aligned. The data were processed with Microsoft Excel 2010.

## Results

### Genetic structure of the sample

The phylogenetic tree was made up of 87 specimens' D-loop (584 pb), including our sample of 47 individuals from the Edough Massif, the 40 samples by Merabet et al. (2016) concerning other Algerian populations, and those from GenBank for the Moroccan populations. This analysis revealed two major clades, the first group included the Moroccan subspecies *Salamandra a. splendens* and *S. a. tingitana*, while the second group included all the Algerian populations together with the Moroccan subspecies *S. a. spelaea* inhabiting the Beni Snassen Massif located on the eastern side of the Moulouya River (Fig. 2), hence agreeing with recent studies led by Merabet et al. (2016) and Ben Hassine et al. (2016).

The Algerian samples were found to be genetically very homogeneous. However, a slight differentiation into two clades was noticeable,

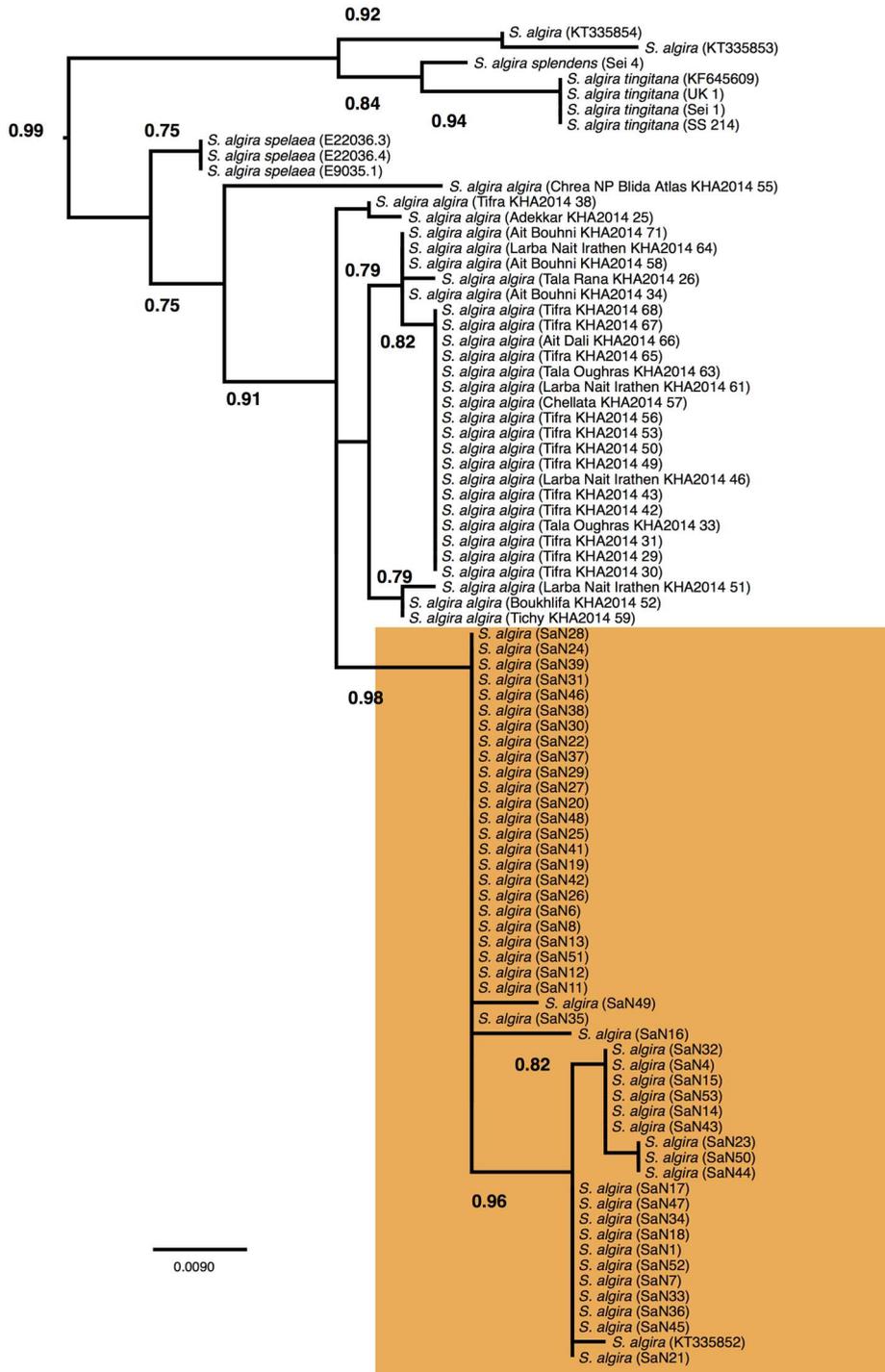
the first one included the Chrea sample and the second one gather together the other samples from Kabylie and the Edough Massif. The cladogram overall reflects the geography of favourable habitats. Whereas the geographic distance between our population and the other Algerian populations could explain the genetic distance, our data clearly show isolation by distance with respect to other *S. algira* populations of the Maghreb region for which data are available.

### Biometry

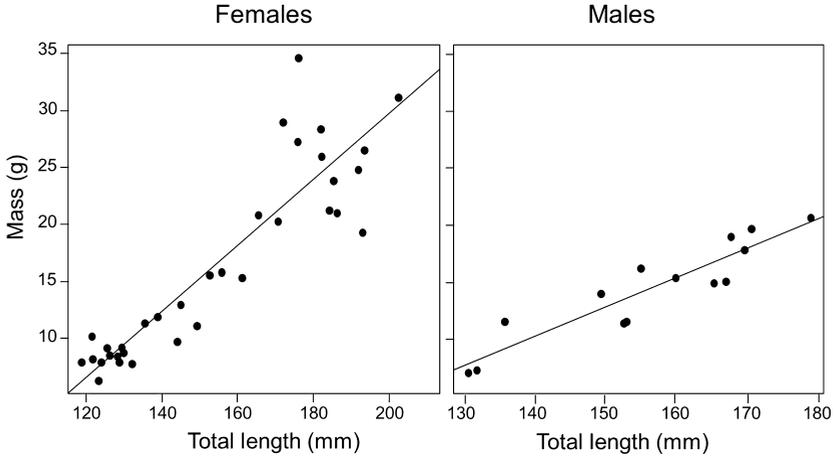
In our population, female size varied from 120 to 210 mm (mean  $15.5 \pm 4.6$  mm), while males size varied from 130 to 180 mm (mean  $15.6 \pm 1.03$  mm). When of similar total length, females were heavier than males ( $WF = 0.29TLF - 28.2$ ;  $WM = 0.22 TLM - 21.0$ ). The biggest females reached 35 g while the biggest males never exceeded 19 g (Fig. 3). The correlation between size and weight was strong and positive ( $r = 0.928$ ,  $t = 14.34$ ,  $df = 33$ ,  $P < 0.001$  for females and  $r = 0.922$ ,  $t = 8.25$ ,  $df = 12$ ,  $P < 0.001$  for males).

### Age structure and growth

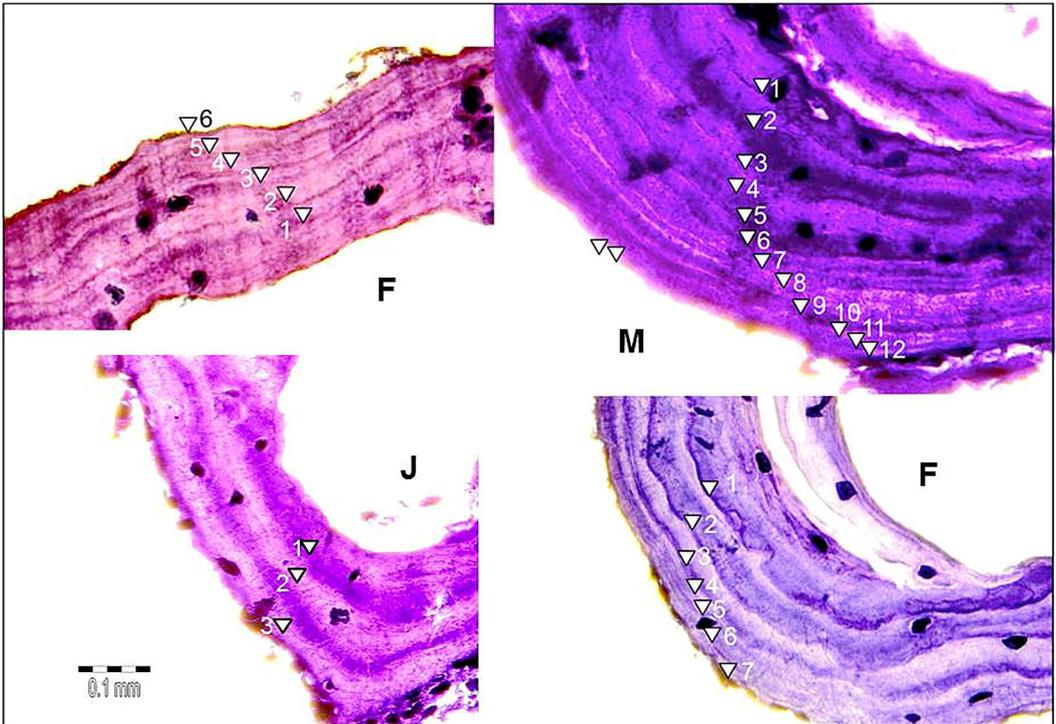
We were able to correctly estimate the age of all the studied individuals. Bone sections revealed well-marked LAGs (Fig. 4) making it possible to recognize dark overwintering LAGs from light estivation LAGs, which remained rare. Only overwintering LAGs were used for age determination. The observed longevity was 15 years for both sexes. However, when age was corrected to compensate the loss of LAGs due to the endosteal resorption, longevity could reach 18 years. Age distribution was characterized by a large number of young individuals (the highest frequency was between 4 and 6 years), signifying high recruitment due to successful reproduction during preceding years and good juvenile survival. Age distribution also suggested a higher survival rate inside the male population than in females one (Fig. 5a).



**Figure 2.** Phylogenetic tree of mitochondrial DNA of *Salamandra algira* with the D-loop segment, using PhyML software (584 pb).



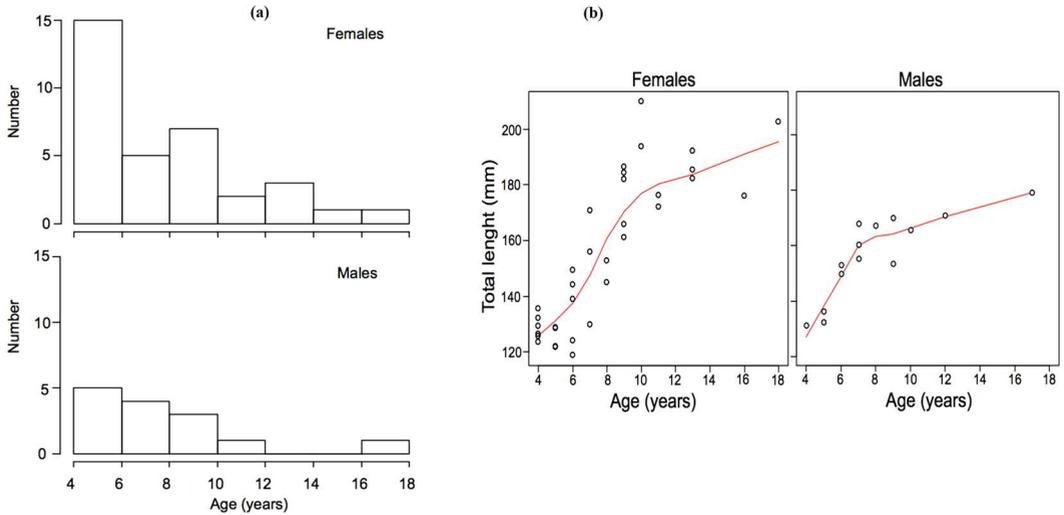
**Figure 3.** Relationship between total body length (mm) and mass (g) for both females and males.



**Figure 4.** Four examples of sections in the diaphysis of the third phalanx of the hindleg treated with Ehrlich's hematoxylin, revealing the lines of arrested growth (LAG) formed during the wintering periods. Only well-marked lines were counted since the light ones could result from inactivity during hot summer periods (estivation). F = female; M = male; J = juvenile.

The relationship between age and size (Fig. 5b) revealed a continuous growth throughout life (correlation  $r = 0.843$ ,  $t = 9.17$ ,  $df = 34$ ,  $P < 0.001$  for females and  $r = 0.842$ ,  $t =$

$5.42$ ,  $df = 12$ ,  $P < 0.001$  for males). Notwithstanding the fact that the sample size was not sufficient for a proper growth modeling (e.g. following von Bertalanffy's growth equation),



**Figure 5.** (A) Age structure of the Edough population of *Salamandra algira*. Top: females; bottom: males. (B) The relation between age and total length. Left: females; right: males.

the shape of the curve was consistent with a logistic growth, with an inflection point at about 7 years for males and 9 years for females. Furthermore, growth dynamics varied substantially between the sexes. The males grow faster than females during the first part of adult life (on average, males reached 160–180 mm at the age of 8, whilst females reached only 140–160 mm at the same age), females maintain a faster growth rate during the second part of their adult life (after the growth inflection point). As a result, the females finally reached a bigger size than the males, with 26.5% of them exceeding 180 mm, whereas none of the sampled males reached this length (Fig. 3).

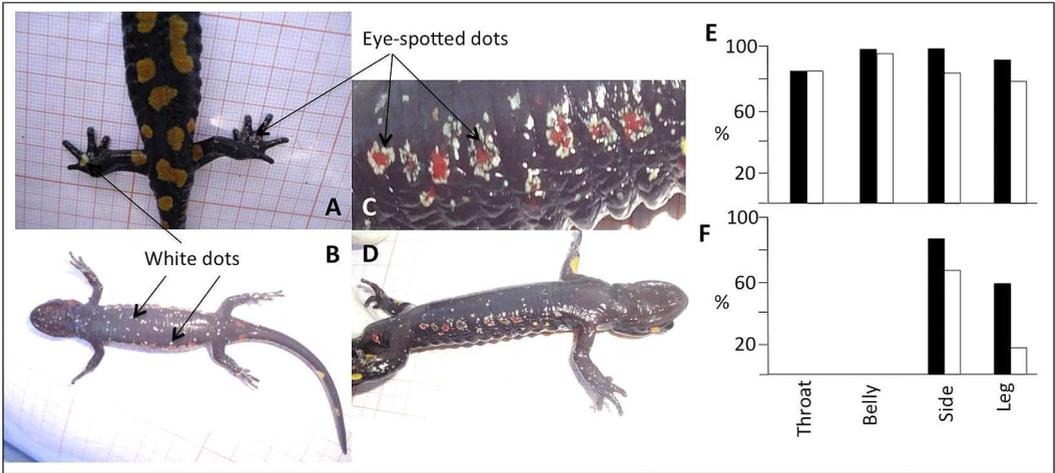
### Colour patterns

Besides the usual coloration consisting of large yellow/orange spots on a dark brown/black background, most of the Edough's salamanders also exhibited small white spots (around 1 mm), these spots are spaced out on the belly (Fig. 6B), the legs (Fig. 6A), the sides, the throat, and sometimes even over the whole body. The Edough's salamanders also have red

spots (around 2–4 mm diameter) on the paratoid glands, the tail, and the legs. The eyespots were found on the legs or the tail and were frequently distributed according to a line (8–10 eyespots) on the sidelong of the body (Fig 6, C and D). Usually (48 individuals out of 52), these eyespots are distributed symmetrically, with the same number of eyespots ( $\pm 1$ ) on both sides. These rows of eyespots were observed on both sides of the body for 80% of males and 60% of females. Eyespots were less frequent on the legs (57.1% of males and 15.6% of females) and were never observed on the throat or on the belly (Fig. 6, E and F). The juveniles showed the same coloration as adults, white spots on different parts of the body, though eyespots were rarely observed.

### Discussion

This study describes an Algerian population of *Salamandra algira algira* in the Edough massif including samples considered as fairly representative. Our analyses confirm that this population belongs to the subspecies *S. a. algira*,



**Figure 6.** Colour patterns in *Salamandra algira* from the Edough Massif. (A) male with red/white eyespots aligned on the lower side of the body. (B) Dorsal view of the lower limbs showing the usual yellow spots on a black/dark-brown background. White spots on the left back leg and white/red eyespots on the right back leg. (C, D) close-up shot of eyespots with a crown of large (C) and small (D) white spots encircling large red spots in two specimens. Distribution of white (E) and red (F) spots on different parts of the body in males (filled bars) and females (open bars).

notwithstanding the isolated character of the region thus in agreement with other recent studies (Ben Hassine et al., 2016; Merabet et al., 2016). The genetic distance from these other Algerian population was not sufficient to support the hypothesis of long-term isolation. Even the most distant sample studied (by Merabet et al., 2016), located in the Chrea Atlas Mountains, and belonging to a separate clade, was genetically not very distant from ours. Despite their great homogeneity, our samples presented a structure in two subclades that did not appear to be specific to any geographical location. Our result confirms those established by Ben Hassine et al. (2016) for the samples originating from the same region and which were classified into three groups. This could probably be an adaptation to an environmental influence or a weak interpopulation mutation rate. The *S. a. algira* clade is the sister group of *S. a. spelaea* found in the Beni-Snassen Mountains at the eastern side of the Moulouya River in Morocco (Escoriza and Comas, 2007; Beukema et al., 2010; Ben Hassine et al., 2016; Merabet et al., 2016). Our results agree with previous studies to confirm the monophyletic character of Algerian salamanders. *Salamandra algira* is

generally found in mountainous regions and requires humid conditions and low temperatures to survive (Escoriza and Ben Hassine, 2015). The vegetation of the Edough's Massif is dominated by *Quercus suber* and *Quercus canariensis*. These forests provide suitable conditions for salamanders. Nevertheless, further ecological studies should improve our knowledge of the specific conditions that determine the presence of *S. a. algira*.

In salamanders, the investment in reproduction and growth depends on rules of resources allocation that determine the dynamics of growth (Miaud, Guyétant and Faber, 2000; Miaud et al., 2001). Here, we established for the first time the age structure and growth dynamics concerning a population of *S. a. algira* in Algeria. The age structure and growth rates were found to be similar to that of *S. algira* in Morocco (Reinhard, Renner and Kupfer, 2015a, 2015b). Longevity was around 20 years for a maximum size of 210 mm. However, the skeletochronological method tends to underestimate the age, due to bone remodeling and the tightening of LAGs (Wagner et al., 2011; Fattah et al., 2014), these processes occurring mainly in populations living at high altitudes (Wagner et

al., 2011; Reinhard et al., 2015a). Our population showed good growth dynamics and an age structure with a high proportion of young adults, suggesting successful reproduction during the years that preceded sampling and also a high juvenile survival. We also observed a clear difference in mass between both sexes (Fig. 3) that can be explained by the gestation of females during the activity period (Miaud et al., 2001).

Growth dynamics obeys to a logistic pattern with a slowing-down of adult growth in the middle of the adult life. This pattern is similar to the one described in *S. lanzai* in the French-Italian Alps (Miaud et al., 2001), with males growing faster than females during the first half of adult life, and females growing faster than males in the second half. The growth is more restricted for females during the first years of their adult life due to a greater investment in eggs and embryo development (Halliday and Verrell, 1988), yet continuous growth throughout life could provide females with a substantial fitness gain by increasing fecundity (Joly, 1991; Miaud et al., 2001; Reinhard et al., 2015b). The male investment in reproduction is generally lower than for females, and this is what leads them to reach sexual maturity earlier and at a smaller size (Caetano, Castanet and Francillon, 1985; Miaud et al., 2001). We also suspect that male size above a given threshold does not provide a significant mating advantage. A larger size could restrict their access to small refuges and lead to competition with females for large refuges and larger prey. In the future, experimental studies should confirm this hypothesis.

Compared to other Algerian populations of *S. a. spelaea* and *S. a. algira* (Escoriza and Comas, 2007; Ben Hassine et al., 2016; Merabet et al., 2016), the Edough salamanders have numerous white and red spots distributed over most of their body. They also exhibited a mixture of these two colors specifically in the form of eyespots localized on the sides and legs. These eyespots were present in higher numbers in males than in females. This could be due to the difference in size of our samples. Until the results of

further studies concerning the colouration patterns in other populations, we can consider these eyespots to be frequent in the Edough population. Because of their night-time activity, we presume this white dot ring configuration improves the optical contrast between the dark background and the red spot. This could confer a badge role to these eyespots to simplify communication between individuals. To our knowledge, such a badge effect created by a red spot encircled by a lighter colour has been detected only in *S. salamandra gallaica* in Portugal. Behavioural studies could highlight the functional role, if any, of these eyespots.

This study provides a detailed description of the Edough population of *Salamandra algira algira* that can be used as a sound basis for comparison with other populations across the Maghreb. It also contributes to establishing the biological traits of *Salamandra* population found in one of its distribution outposts providing key elements for conservation guidelines.

**Acknowledgements.** We would like to thank Mohcene Allam and Amir Boulemtafes for their valuable contribution to this work. Our gratitude also goes to Khaled Merabet for his cooperation and support. All field studies were carried out with the agreement of the General Directorate of Forests, Annaba. We thank two anonymous referees for their constructive comments.

## References

- Anisimova, M., Gascuel, O. (2006): Approximate likelihood-ratio test for branches: a fast, accurate, and powerful alternative. *Syst. Biol.* **55**: 539-552.
- Bedriaga, J. (1883): Beiträge zur Kenntniss der Amphibien und Reptilien der Fauna von Corsika. *Arch. Naturgesch.* **49**: 124-273.
- Ben Hassine, J., Gutiérrez-Rodríguez, J., Escoriza, D., Martínez-Solano, I. (2016): Inferring the roles of vicariance, climate and topography in population differentiation *Salamandra algira* (Caudata, Salamandridae). *J. Zool. Syst. Evol. Res.* **54**: 116-126.
- Beukema, W., de Pous, P., Donaire, D., Escoriza, D., Bogaerts, S., Toxopeus, A.G., De Bie, C.A.J.M., Roca, J., Carranza, S. (2010): Biogeography and contemporary climatic differentiation among Moroccan *Salamandra algira*. *Biol. J. Linnean. Soc.* **101**: 626-641.

- Beukema, W., de Pous, P., Donaire-Barroso, D., Bogaerts, S., García-Porta, J., Escoriza, D., Arribas, O.J., El Mouden, E.H., Carranza, S. (2013): Review of the systematics, distribution, biogeography and natural history of Moroccan amphibians. *Zootaxa* **3661**: 1-60.
- Caetano, M.H., Castanet, J., Francillon, H. (1985): Détermination de l'âge de *Triturus marmoratus marmoratus* (Latreille 1800) du Parc National de Peneda-Gênes (Portugal). *Amphibia-Reptilia* **6**: 117-132.
- Casquet, J., Thebaud, C., Gillespie, R.G. (2012): Chelex without boiling, a rapid and easy technique to obtain stable amplifiable DNA from small amounts of ethanol-stored spiders. *Mol. Ecol. Res.* **12**: 136-141.
- Castanet, J. (2002): Amphibiens et Reptiles non aviens: un matériel de choix en squelettechronologie. *Bull. Soc. Herp. Fr.* **103**: 21-40.
- Castanet, J., Smirina, E.M. (1990): Introduction to the skeletochronological method in amphibians and reptiles. *Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim.* **11**: 191-196.
- Cayuela, H., Besnard, A., Bonnaire, E., Perret, H., Rivoalen, J., Miaud, C., Joly, P. (2014): To breed or not to breed: past reproductive status and environmental cues drive current breeding decisions in a long-lived amphibian. *Oecologia* **176**: 107-116.
- Cuttelod, A., García, N., Abdul Malak, D., Temple, H., Katariya, V. (2008): The Mediterranean: a biodiversity hotspot under threat. In: *The 2008 Review of the IUCN Red List of Threatened Species*. Vié, J.-C., Hilton-Taylor, C., Stuart, S.N., Eds, IUCN, Gland, Switzerland.
- Donaire-Barroso, D., Bogaerts, S. (2003): A new subspecies of *Salamandra algira* Bedriaga, 1883 from northern Morocco. *Pod@rcis* **4**: 84-100.
- Eiselt, J. (1958): Der Feuersalamander *Salamandra salamandra* (L.). Beiträge zu einer taxonomischen Synthese. Abhandlungen und Berichte für Naturkunde, Museum für Naturkunde, Magdeburg **10**: 77-154.
- Ento, K., Mastsui, M. (2002): Estimation of age structure by skeletochronology of a population of *Hynobius nebulosus* in a breeding season (Amphibia, Urodela). *Zoological Sci.* **19**: 241-247.
- Escoriza, D., Ben Hassine, J. (2014): Microclimatic variation in multiple *Salamandra algira* populations along an altitudinal gradient: phenology and reproductive strategies. *Acta Herpetol.* **9**: 33-41.
- Escoriza, D., Ben Hassine, J. (2015): Niche partitioning at local and regional scale in the North African Salamandridae. *J. Herpetol.* **49**: 276-283.
- Escoriza, D., Comas, M.M. (2007): Description of a new subspecies of *Salamandra algira* Bedriaga, 1883 (Amphibia: Salamandridae) from the Beni Snassen massif (Northeast Morocco). *Salamandra* **43**: 77-90.
- Escoriza, D., Comas, M.M., Donaire, D., Carranza, S. (2006): Rediscovery of *Salamandra algira*. Bedriaga, 1883 from the Beni Snassen massif (Morocco) and phylogenetic relationships of North African *Salamandra*. *Amphibia-Reptilia* **27**: 448-455.
- Fattah, A., Slimani, T., El Mouden, E.H., Grolet, O., Joly, P. (2014): Age structure of a population of *Barbarophryne brongersmai* (Hoogmoed 1972) (Anura, Bufonidae) inhabiting an arid environment in the Central Jbilet (West-Morocco). *Acta Herpetol.* **9**: 237-242.
- Gervais, P. (1836): Énumération de quelques espèces de reptiles provenant de Barbarie. *Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim. Paris, série 2* **6**: 308-313.
- Gouy, M., Guindon, S., Gascuel, O. (2010): SEAVIEW version 4.2.12; a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Mol. Biol. Evol.* **27**: 221-224.
- Guichenot, A. (1850): Exploration scientifique de l'Algérie: pendant les années 1840, 1841, 1842. Sciences physiques. Histoire naturelle des reptiles et des poissons, vol. 5. Paris.
- Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O. (2010): New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* **59**: 307-321.
- Gül, S., Özdemir, N., Kumlutas, Y., Ilgaz, Ç. (2014): Age structure and body size in three populations of *Darevskia rudis* (Bedriaga, 1886) from different altitudes (Squamata: Sauria: Lacertidae). *Herpetozoa* **26**: 151-158.
- Halliday, T.R., Verrell, P.A. (1988): Body size and age in amphibians and reptiles. *J. Herpetol.* **20**: 570-574.
- Joly, P. (1991): Variation in size and fecundity between neighbouring populations in the common frog, *Rana temporaria*. *Alytes* **9**: 79-88.
- Mayers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A.B., Kent, J. (2000): Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**: 853-858.
- Médail, F., Quézel, P. (1999): Biodiversity hotspots in the Mediterranean Basin: setting global conservation priorities. *Conserv. Biol.* **13**: 1510-1513.
- Merabet, K., Sanchez, E., Dahmana, A., Bogaerts, S., Donaire, D., Steinfartz, S., Joger, U., Vences, M., Karar, M., Moali, A. (2016): Phylogeographic relationships and shallow mitochondrial divergence of Algerian populations of *Salamandra algira*. *Amphibia-Reptilia* **37**: 1-8.
- Miaud, C. (1992): La squelettechronologie chez les *Triturus* (Amphibiens, Urodèles) à partir d'une étude de *T. alpestris*, *T. helveticus* et *T. cristatus* du Sud-Est de la France. In: *Tissus durs et âge individuel des vertébrés*, pp. 363-384. Baglinière, J.L., Castanet, J., Conand, F., Meunier, F.J., Eds, Colloque ORSTOM-INRA, Bondy.
- Miaud, C., Andreone, F., Ribéron, A., De Michelis, S., Clima, V., Castanet, J., Francillon-Vieillot, H., Guyétant, R. (2001): Variations in age, size at maturity and gestation duration among two neighbouring populations of the alpine salamander (*Salamandra lanzai*). *J. Zool., Lond.* **254**: 251-260.
- Miaud, C., Guyétant, R., Faber, H. (2000): Age, size and growth of the alpine newt, *Triturus alpestris* (Urodela: Salamandridae) in high altitude and a review of life-history trait variation throughout its range. *Herpetologica* **56**: 135-144.
- Miaud, C., Joly, P., Castanet, J. (1993): Variation in age structures in a subdivided population of *Triturus cristatus*. *Can. J. Zool.* **71**: 1874-1879.
- Pidancier, N., Miquel, C., Miaud, C. (2003): Buccal swabs as a non-destructive tissue sampling method for DNA analysis in amphibians. *Herpetol. J.* **13**: 175-178.

- Poschadel, J.R., Moller, D. (2004): A versatile field method for tissue sampling on small reptiles and amphibians, applied to pond turtles, newts, frogs and toads. *Conserv. Genet.* **5**: 865-867.
- Prunier, J., Kaufmann, B., Grolet, O., Picard, D., Pompanon, F., Joly, P. (2012): Skin swabbing as a new efficient DNA sampling technique in amphibians, and 14 new microsatellite markers in the alpine newt (*Ichthyosaura alpestris*). *Mol. Ecol. Resour.* **12**: 524-531.
- Rebelo, B., Leclair, M.H. (2003): Site tenacity in the terrestrial salamandrid *Salamandra salamandra*. *J. Herpetol.* **37**: 440-445.
- Reinhard, S., Renner, S., Kupfer, A. (2015a): Sexual dimorphism and age of Mediterranean salamanders. *Zoology* **118**: 19-26.
- Reinhard, S., Renner, S., Kupfer, A. (2015b): Age and fecundity in *Salamandra algira* (Caudata: Salamandridae). *Salamandra* **51**: 19-24.
- Samraoui, B., Samraoui, F., Benslimane, N., Alfarhan, A., Al-Rasheid, K.A.S. (2012): A precipitous decline of the Algerian newt *Pleurodeles poireti* Gervais, 1835 and other changes in the status of amphibians of Numidia, north-eastern Algeria. *Rev. Ecol.-Terre Vie* **67**: 71-81.
- Schleich, H.H., Kästle, W., Kabisch, K. (1996): *Amphibians and Reptiles of North Africa*. Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany.
- Steinfartz, S., Veith, M., Tautz, D. (2000): Mitochondrial sequence analysis of *Salamandra* taxa suggests old splits of major lineages and postglacial recolonizations of central Europe from distinct source populations of *Salamandra salamandra*. *Mol. Ecol.* **9**: 397-410.
- Véla, E., Benhouhou, S. (2007): Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le Bassin méditerranéen (Afrique du Nord). *C.R. Biologies* **330**: 589-605.
- Véla, E., Magnin, F., Pavon, D., Pfenninger, M. (2008): Phylogénie moléculaire et données paléobiogéographiques sur le gastéropode terrestre *Tudorella sulcata* (Draparnaud, 1805) en France et en Algérie orientale. *Geodiversitas* **30**: 233-246.
- Wagner, A., Schabetsberger, R., Sztatecsny, M., Kaiser, R. (2011): Skeletochronology of phalanges underestimates the true age of long-lived Alpine newts (*Ichthyosaura alpestris*). *Herpetol. J.* **21**: 145-148.

Submitted: March 16, 2017. Final revision received: September 25, 2017. Accepted: September 26, 2017.

Associate Editor: Matthias Stöck.