

# Grenouilles vertes indigènes et exotiques en Flandre et en Région Bruxelles-capitale



*Robert Jooris & Griet Holsbeek*





2 espèces mendéliennes: *ridibundus* et *lessonae*

+

un hybride: *esculentus*

en Europe occidentale,  
centrale et orientale

***esculentus*-synklepton**

***grafi*-  
synklepton**

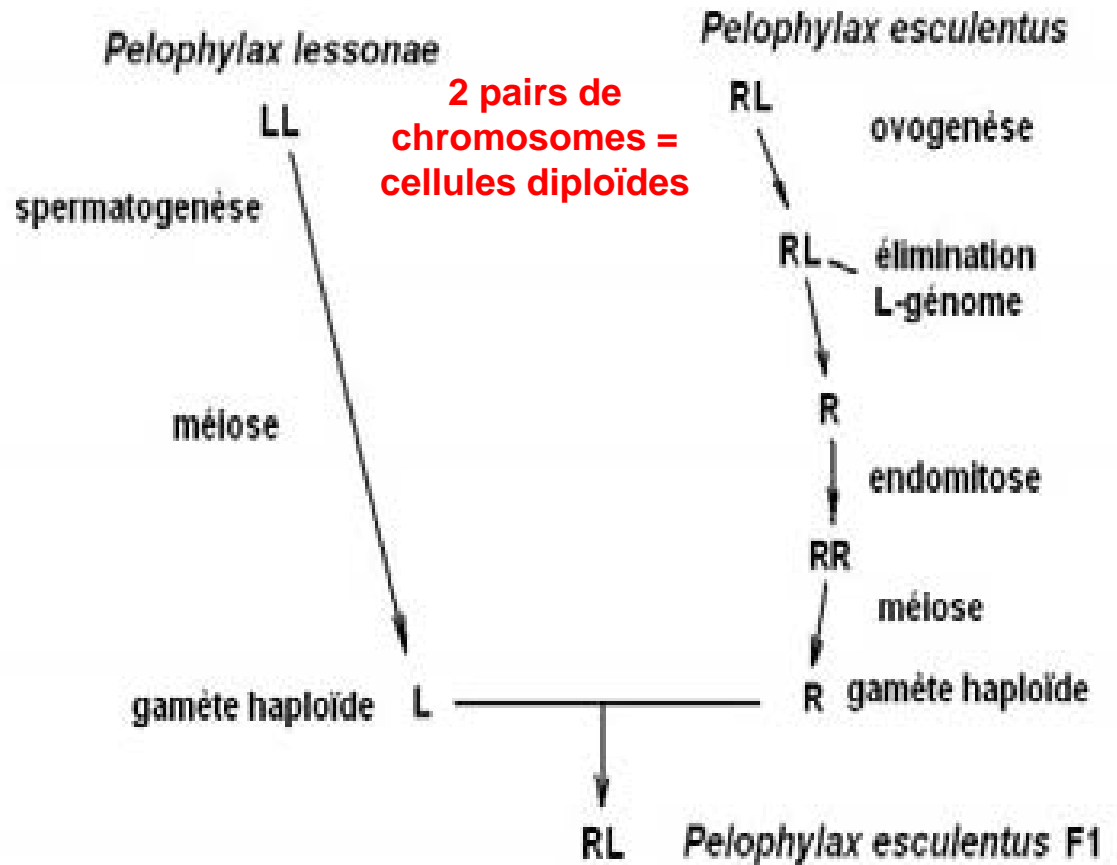
nord-est de l' Espagne et sud-  
est de la France

une espèce mendélienne: *perezi* + un hybride: *esculentus*

# Europe occidentale et centrale : *lessonae* – *esculentus* synklepton (I-e-P)



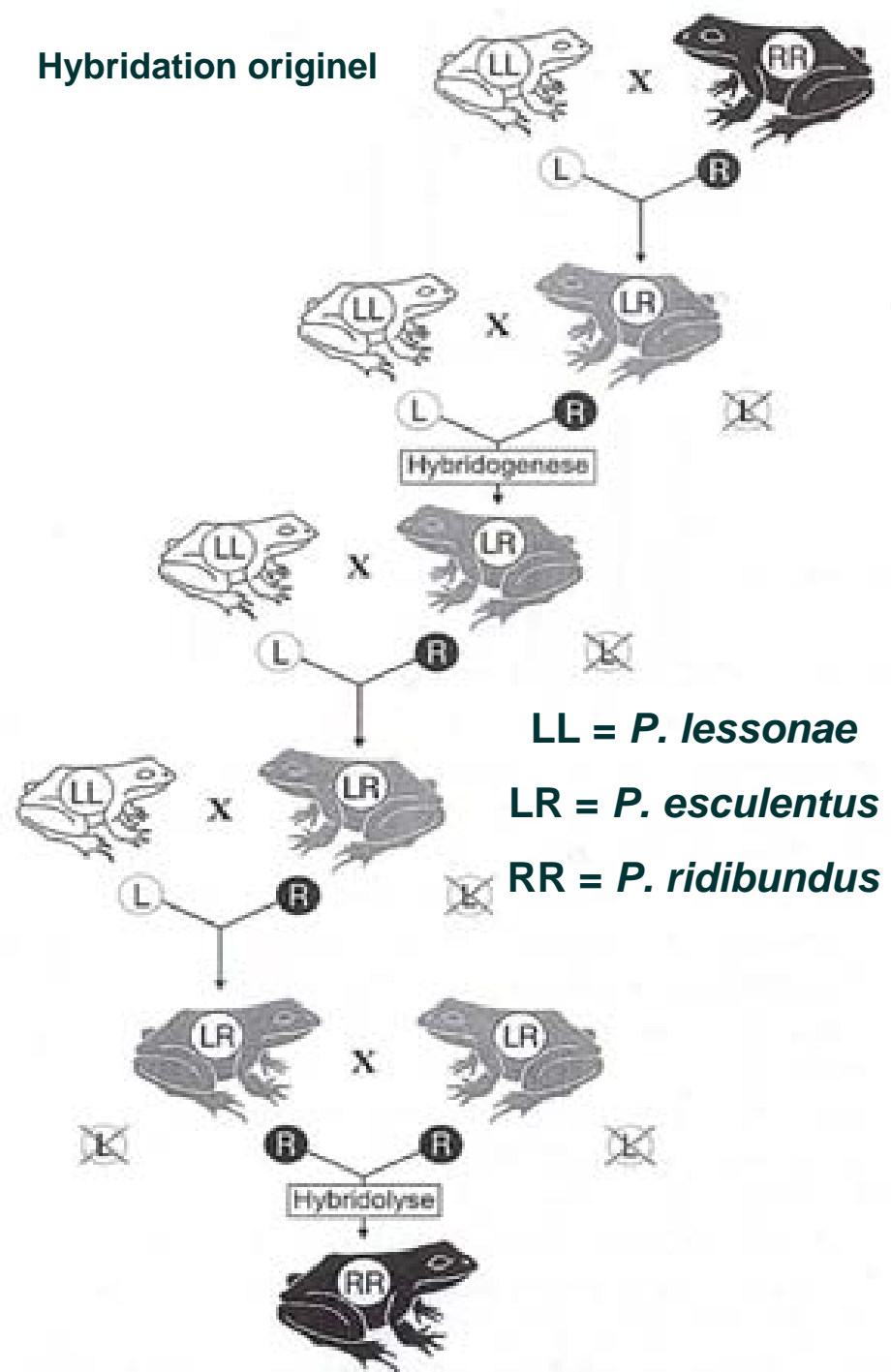
## R-hybridogénèse



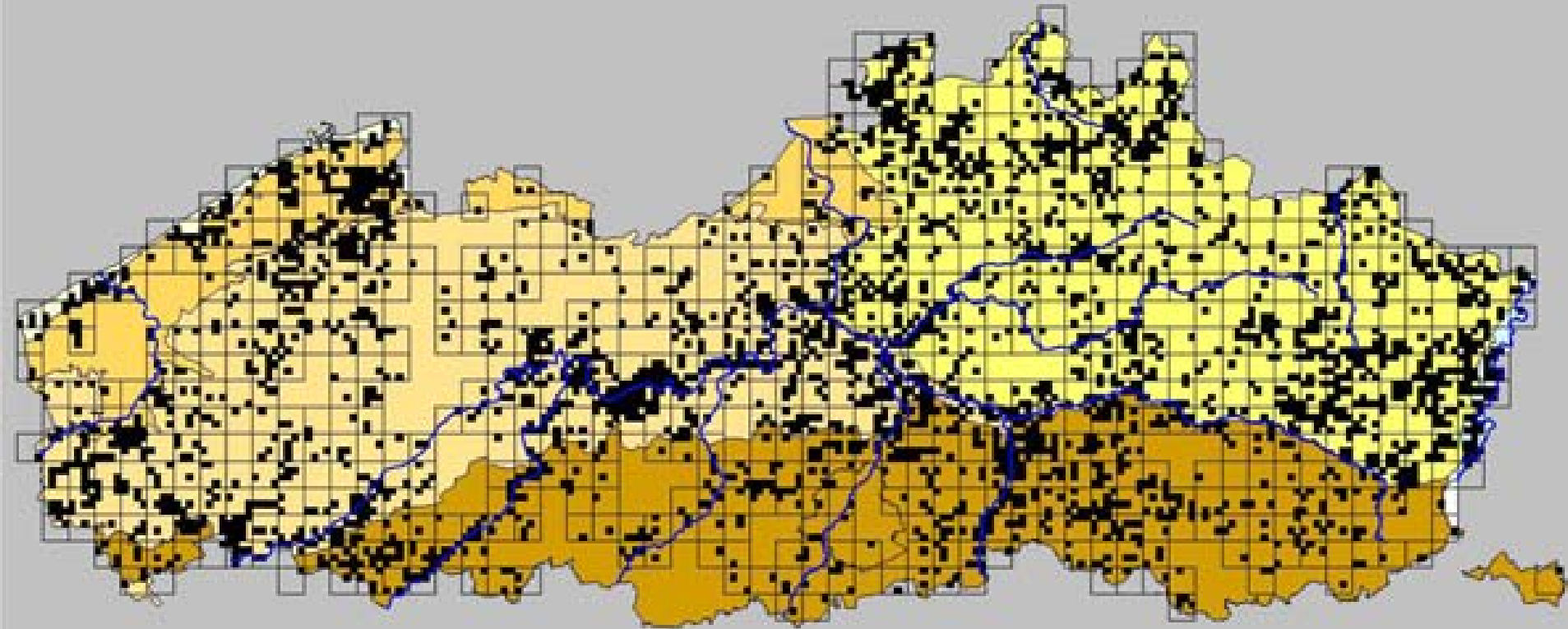


Der grüne Wasserfrosch, Mann u. Weib. *Rana viridula*,  
 seine Eier u. seine Verwandlung.

### Hybridation original



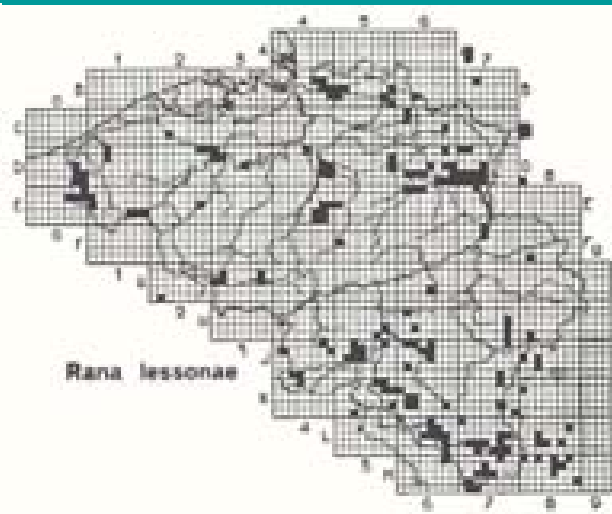
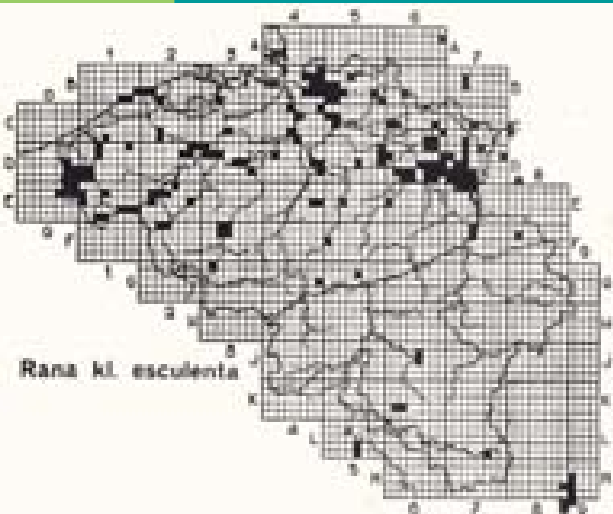
# Observations de grenouilles vertes en Flandre et en Région Bruxelles capitale) pendant la période 1990 – 2009



Carrés IFBL de 1 km (observations réelles) et de 4 km de côté : toutes les espèces

Premières cartes de répartition par IFBL carrés de 4 km de côté en 1985.

Détermination de l'espèce sur la morphométrie



Burny J. & Parent G.H., 1985. Les Grenouilles vertes de la Belgique et des régions limotrophes. Données chorologiques et écologiques. *Alytes*, 4(1): 12-33



***“Onderzoek van 124 groene kikkers (museumpreparaten) naar vorm van metatarsusknobbel, en de verhoudingen van de lengte hielgewrichtsknobbel tot de lengte eerste teen en de lengte van het scheenbeen laten geen duidelijke onderverdeling in groepen toe”***

***“Verder onderzoek zal moeten uitwijzen of ook *R. ridibunda* inderdaad aanwezig is in België zoals gesuggereerd door één exemplaar”***

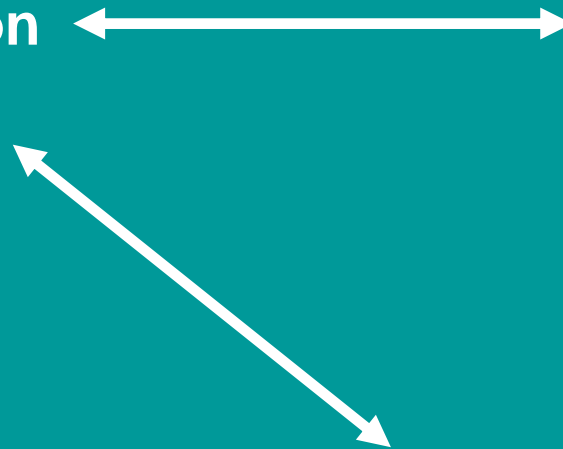
**Hulselmans, J.L.J., 1979. Morfologische gegevens betreffende “*Rana esculenta*” in België (Anura, Ranidae). Annales Soc. R. Zool. Belg., T. 108, fasc. 3-4: 151-158**

# Identification des espèces: morphologie, morphométrie, analyse moléculaire



Morphologie:  
détermination  
*a priori*

Morphométrie:  
classification  
*a posteriori*



Analyse moléculaire  
(ADN)



# Détermination morphologique



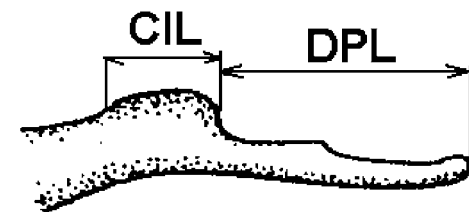
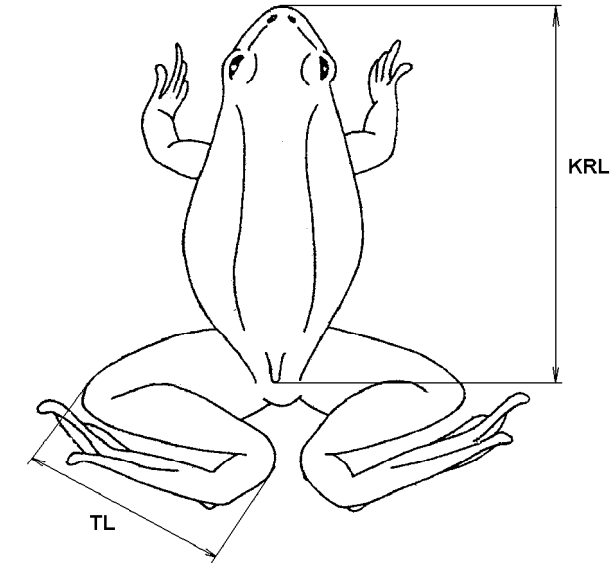
- forme du corps: conique ou allongé
- blot dessin dorsale, du tibia et du fémur
- coloration dorsale
- ligne vertébrale : + of –
- forme du tubercule métatarsien: caractère le plus important!!!



# Détermination morphométrique



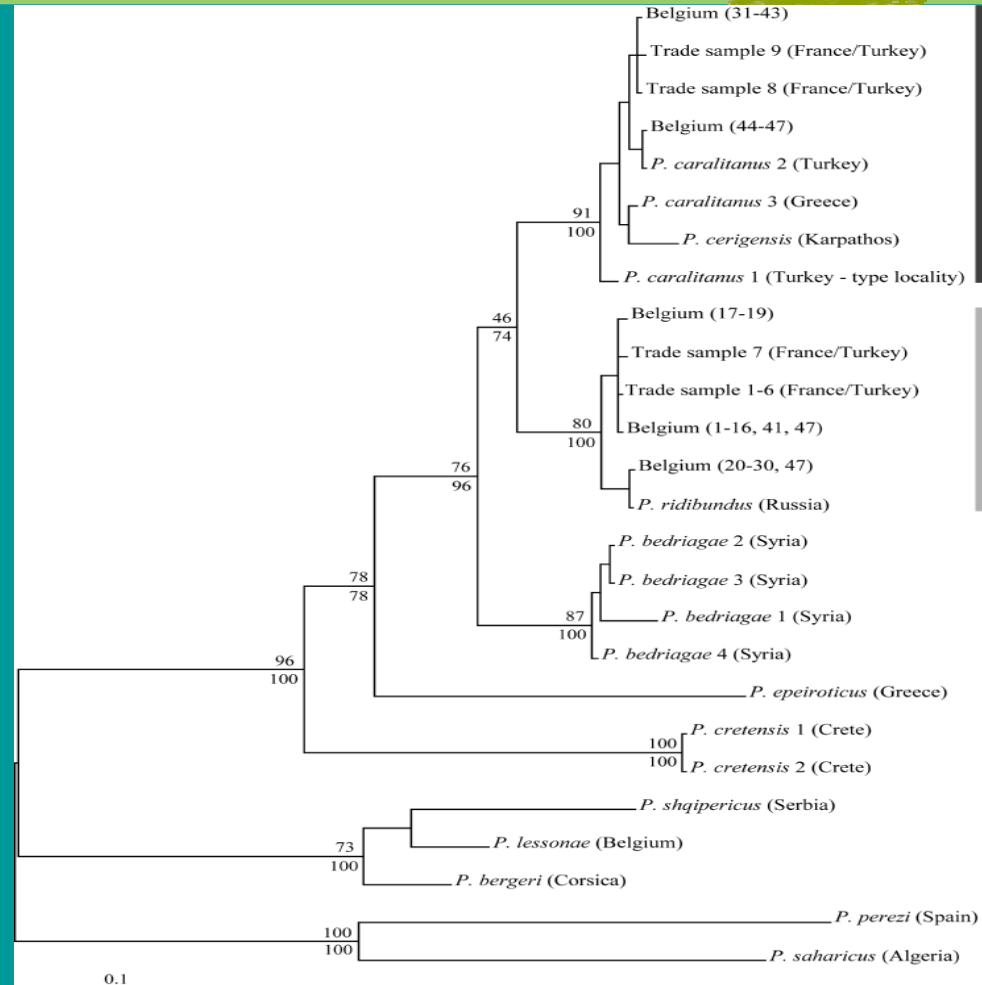
- longueur du corps - KRL
- longueur du tibia – TL
- longueur 1<sup>e</sup> doigt (digitus primus) – DPL
- longueur tubercule métatarsien -  
(callus internus) - CIL



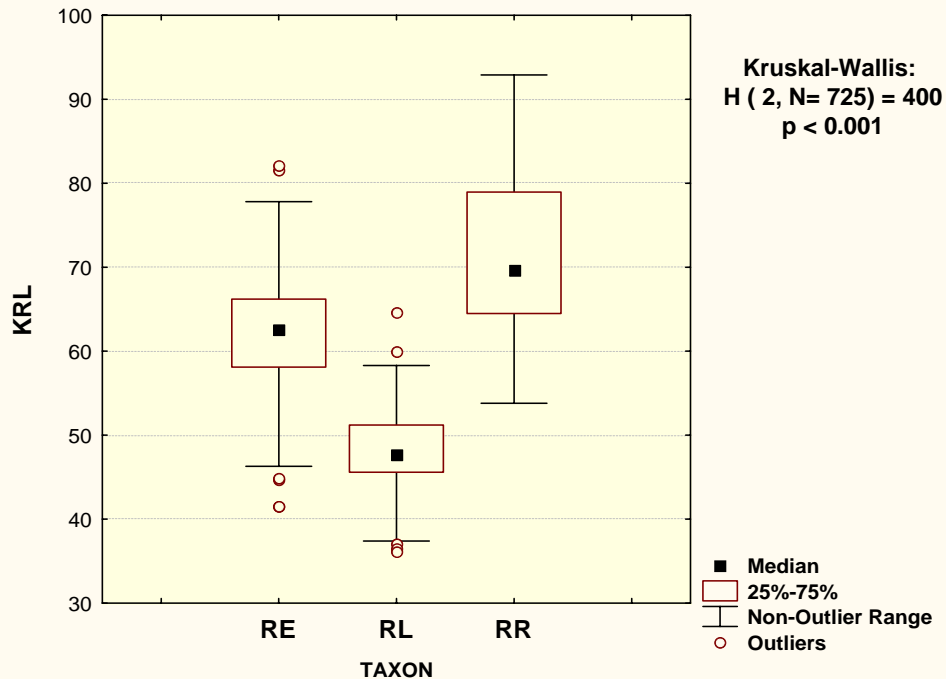
# Analyse moléculaire



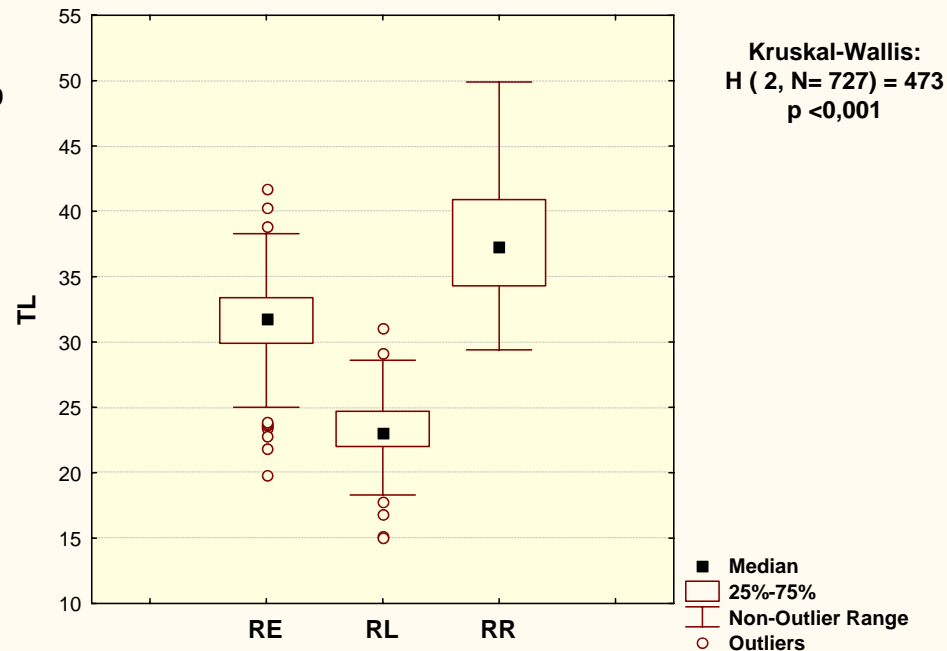
## Séquençage de l'ADN et analyse microsatellite



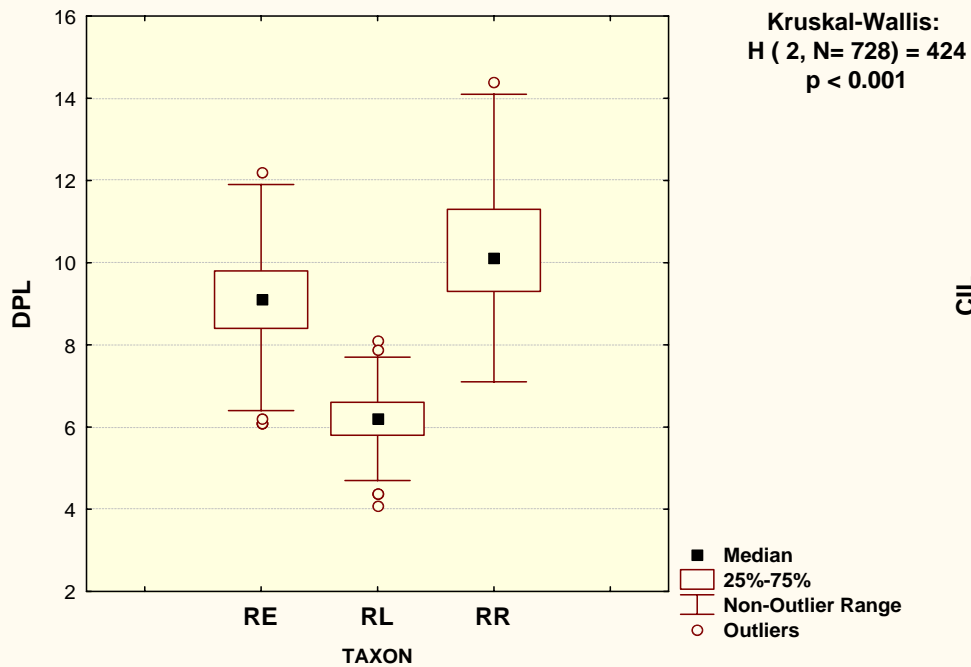
Box Plot mâles



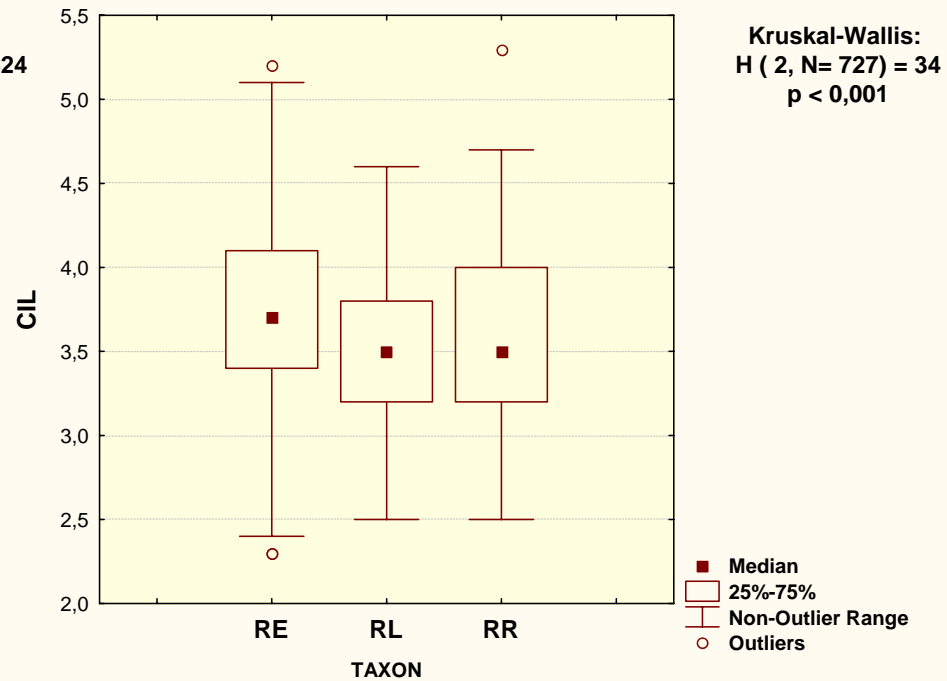
Box Plot mâles



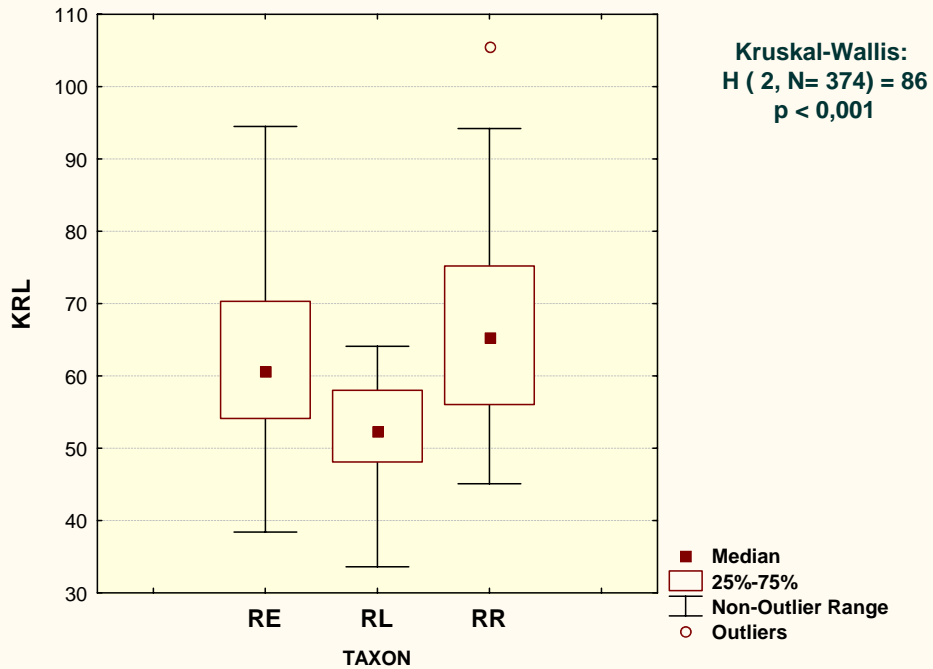
Box Plot mâles



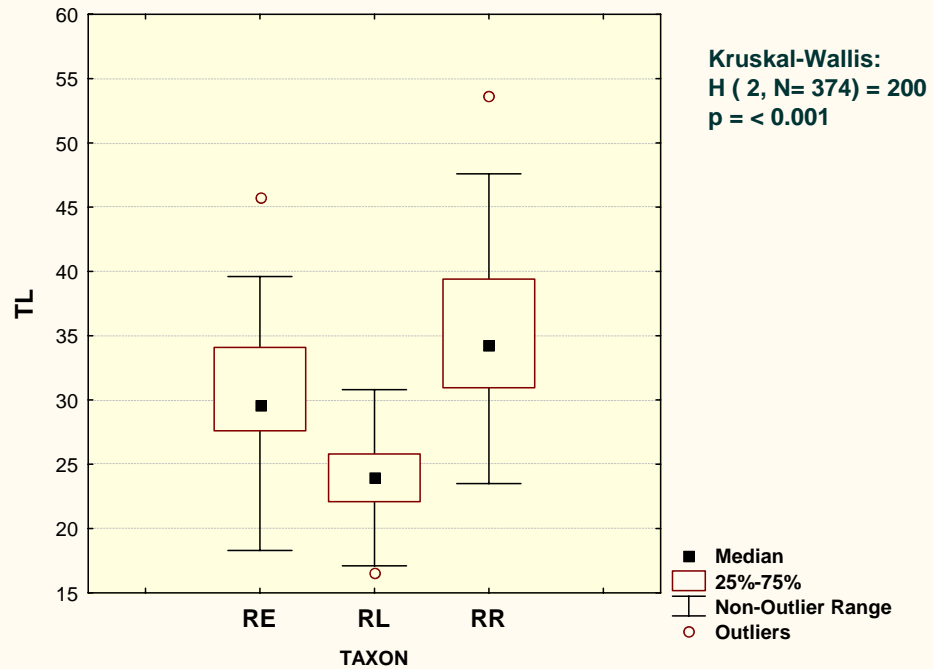
Box Plot mâles



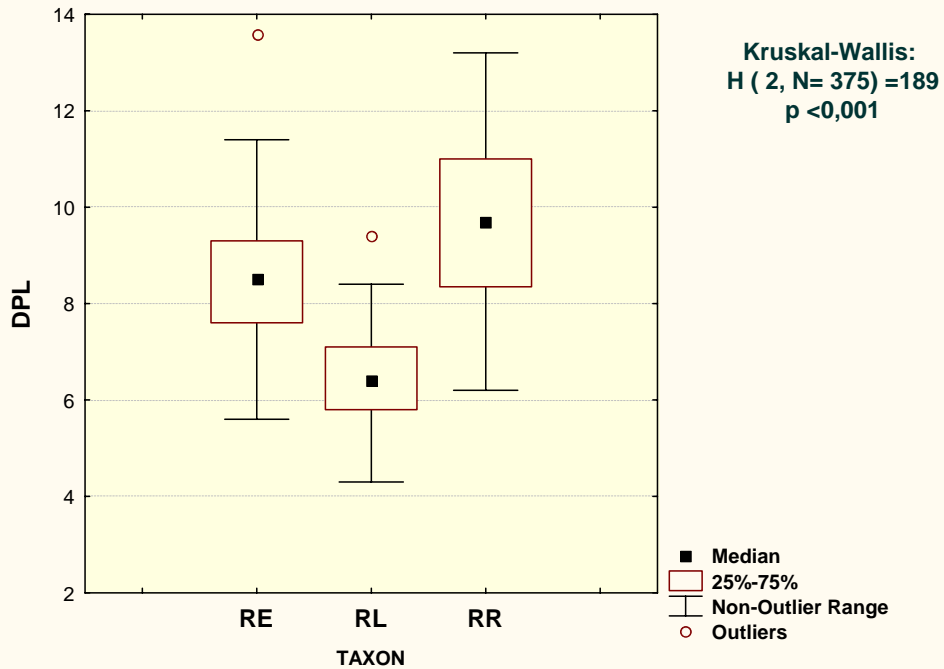
Box Plot femelles



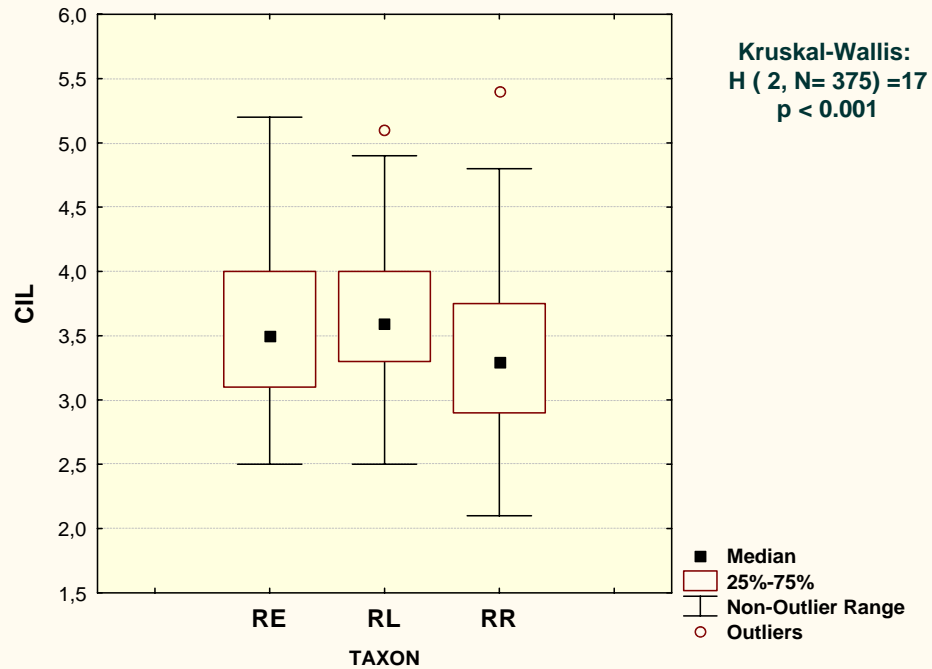
Box Plot femelles



Box Plot femelles



Box Plot femelles





**caractéristiques morphométriques**

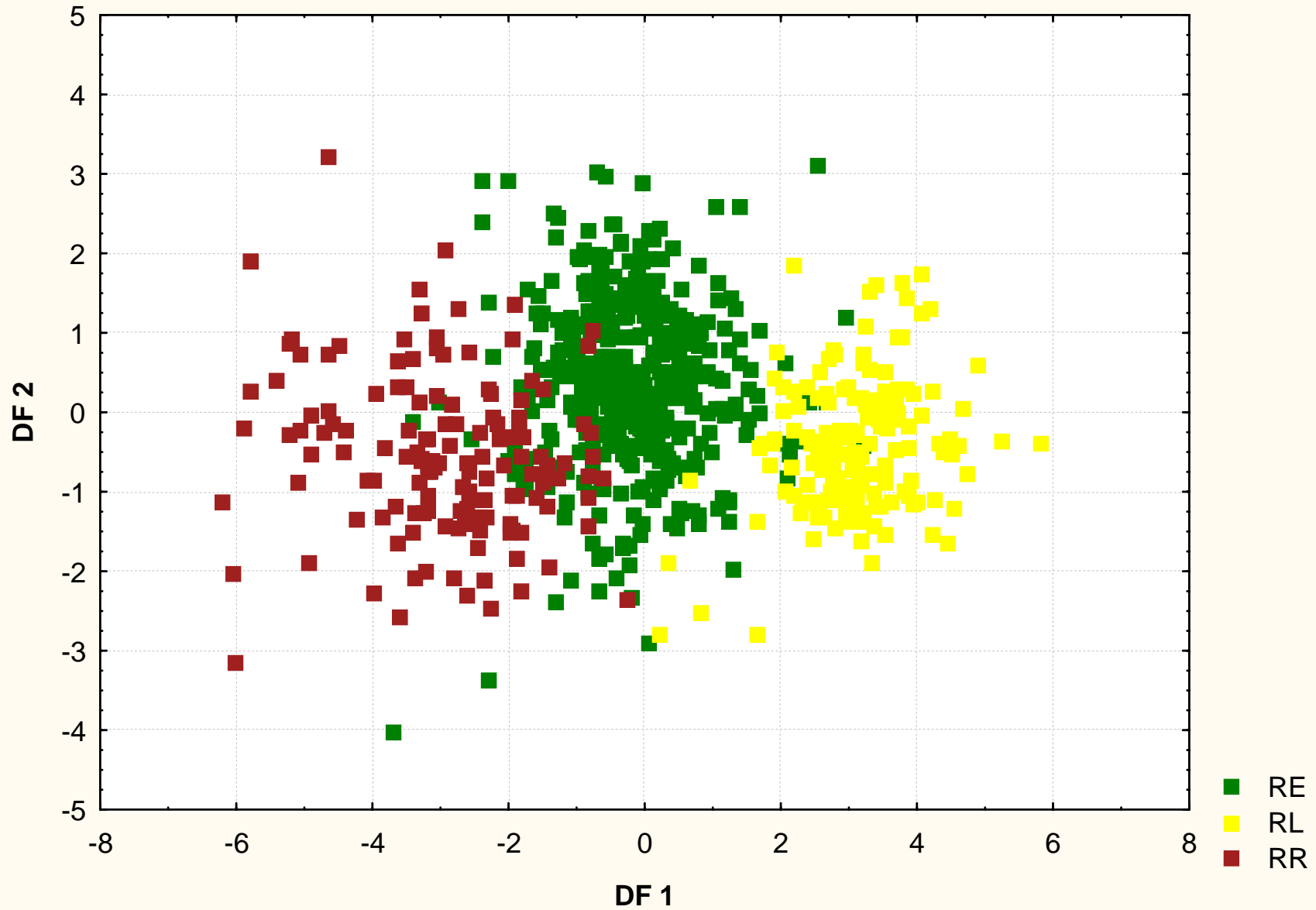


**analyse multivariée (analyse discriminante)**

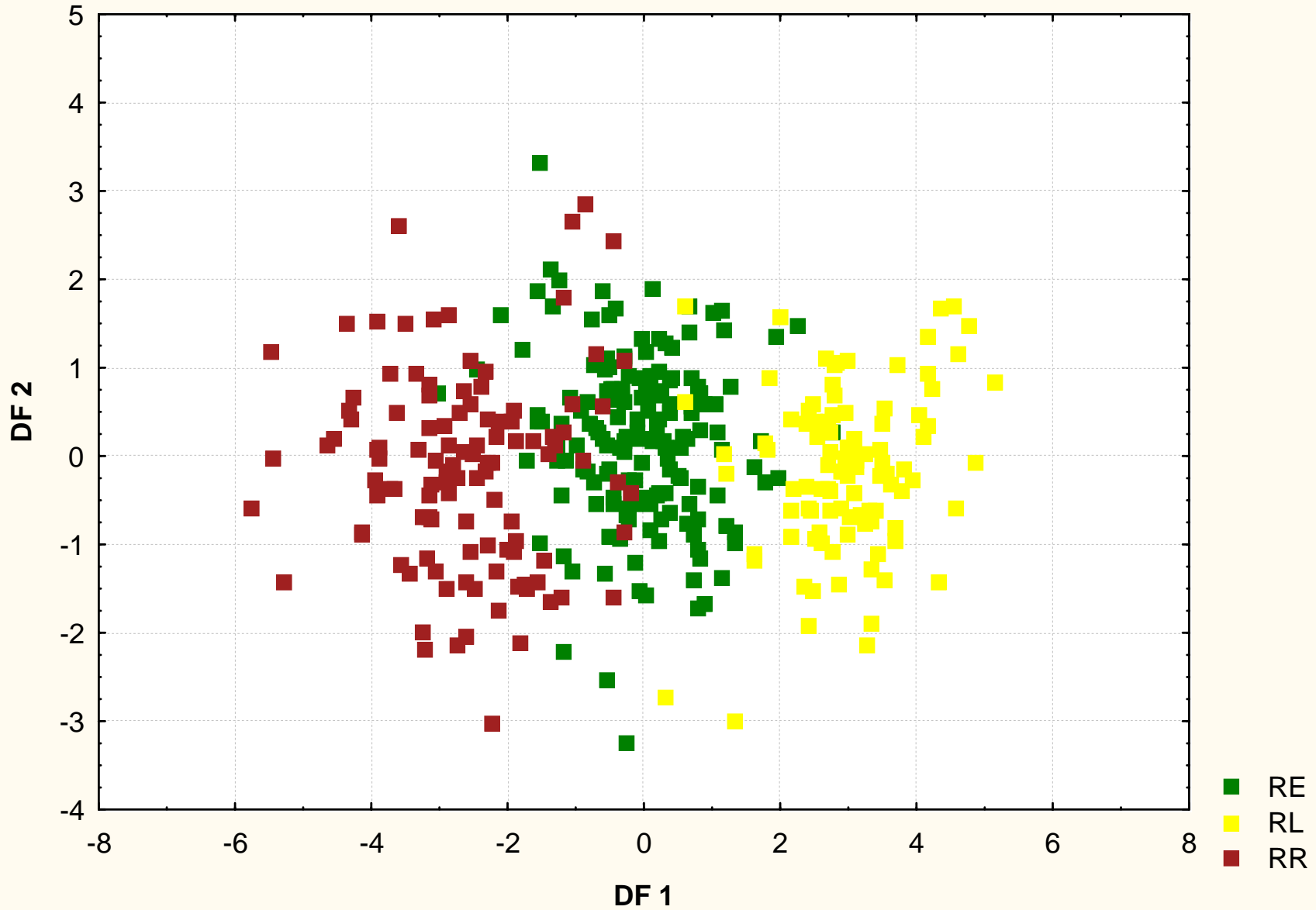


**démarcation claire en trois groupes**

Canonical scores mâles  
(n=724; Wilk's Lambda = 0,1750; F(8,143) = 249,58; p<00000)



Canonical scores females  
(n=374; Wilks' Lambda = 0,1754; F(7,736) = 127,64; p<0,0000)





# Comparaison de la détermination a priori (morphologie) - a posteriori (morphométrie) (mâles)

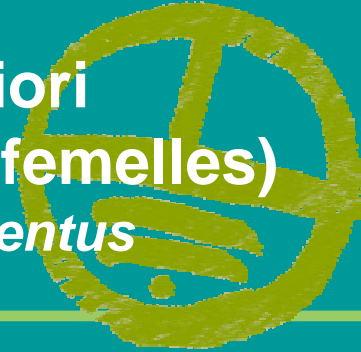
RL: *P. lessonae*, RR: *P. ridibundus*, RL: *P. esculentus*



<b>Classification Matrix males</b>				
<b>Rows: Observed classifications</b>				
<b>Columns: Predicted classifications</b>				
Group	Percent Correct	RE $p=,57597$	RL $p=,22514$	RR $p=,19890$
RE	<b>94</b>	<b>393</b>	<b>11</b>	<b>13</b>
RL	<b>97</b>	<b>5</b>	<b>158</b>	<b>0</b>
RR	<b>80</b>	<b>29</b>	<b>0</b>	<b>115</b>
Total	<b>92</b>	<b>427</b>	<b>169</b>	<b>128</b>

# Comparaison de la détermination a priori (morphologie) - a posteriori (morphométrie) (femelles)

RL: *P. lessonae*, RR: *P. ridibundus*, RL: *P. esculentus*



<b>Classification Matrix females</b>				
<b>Rows: Observed classifications</b>				
<b>Columns: Predicted classifications</b>				
Group	Percent Correct	RE p=,42781	RL p=,27273	RR p=,29947
RE	<b>90</b>	<b>144</b>	<b>7</b>	<b>9</b>
RL	<b>95</b>	<b>5</b>	<b>97</b>	<b>0</b>
RR	<b>84</b>	<b>18</b>	<b>0</b>	<b>94</b>
Total	<b>90</b>	<b>167</b>	<b>104</b>	<b>103</b>

# Comparaison de la détermination morphologique avec l'analyse moléculaire microsatellites Res 16 & Rica 1b5) (\*)





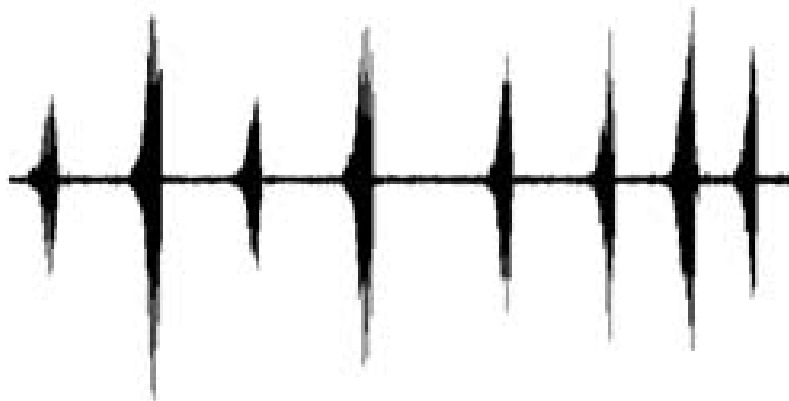
	Re		RI		Rr		% correct	
	M	V	M	V	M	V	M	V
Re	60	52	4	0	1	4	92	93
RI	0	1	72	39	0	0	100	97
Rr	4	4	0	0	27	43	87	91

(\*) Holsbeek G., Maes G.E., De Meester L. & Volckaert F.A.M.,  
Mol. Ecol., 18: 1071-1087. Molecular conservation in the  
introgressed European water frog complex

# Identification des espèces par le chant des mâles



- ❑ chant des mâles: spécifique à l' espèce
- ❑ cri territorial: moins spécifique
- ❑ libération cri: non spécifique 
- ❑ terreur appel: non spécifique à l' espèce mais habituellement  chez la Grenouille rieuse



*Pelophylax lessonae*  
Grenouille de Lessona

cri territorial

Beernem, Bulskampveld



*Pelophylax esculentus*  
Grenouille verte

cri territorial

Houthulst, militair domein



*Pelophylax ridibundus*  
Grenouille rieuse

cri territorial

Watervliet



Grenouille de Lessona

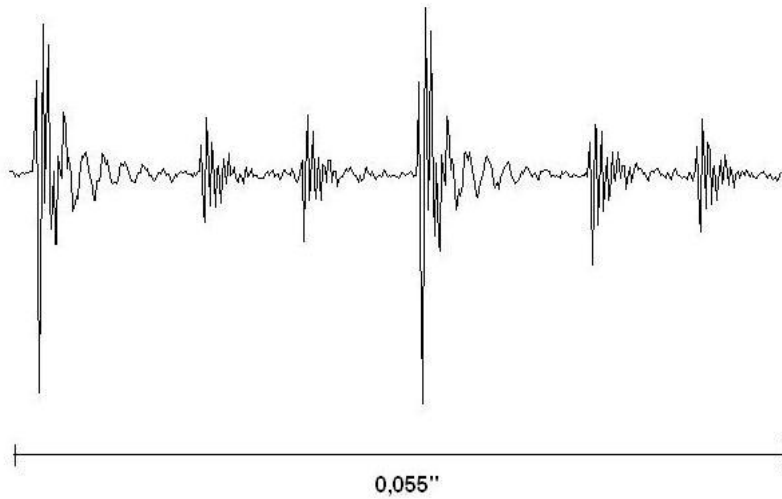


sacs vocaux: blanc ou blanchâtres

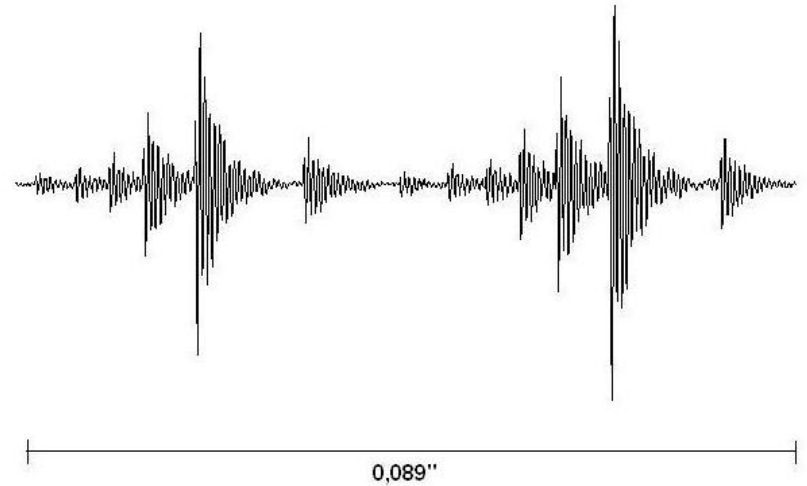
Grenouille verte



sacs vocaux blanchâtres ou sombres



nombre d'impulsion par groupe:  $x=3.11$ ,  $se=0.17$ ,  $n=9$



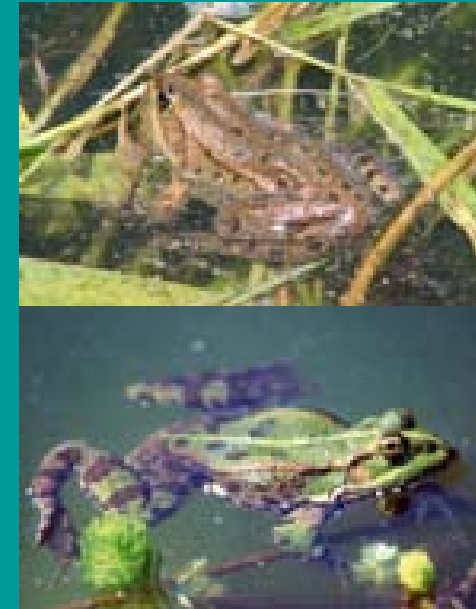
nombre d'impulsions par groupe:  $x=6.36$ ,  $se=0.27$ ,  $n=10$

# Paramètres de chant chez les Grenouilles rieuses



## Paramètres indépendants de la température:

- nombres de groupes d'impulsions
- nombre d'impulsions par groupe



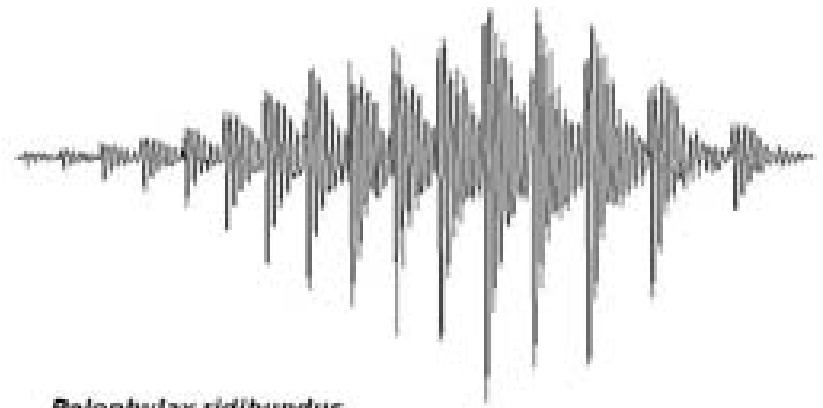
Schneider H. & Sinsch U., 1992. Mating call variations in Lake frogs referred to as *Rana ridibunda* Pallas, 1771: taxonomic implications. *Z. zool. Syst. Evol.- Forsch.* 30: 297-315

Schneider H. & Sinsch U., 1999. Taxonomic reassessment of Middle Eastern water frogs: Bioacoustic variation among populations considered as *Rana ridibunda*, *R. bedriagae* or *R. levantina*. *J. Zool. Syst. Evol. Research* 37: 57-65

## Grenouille rieuse



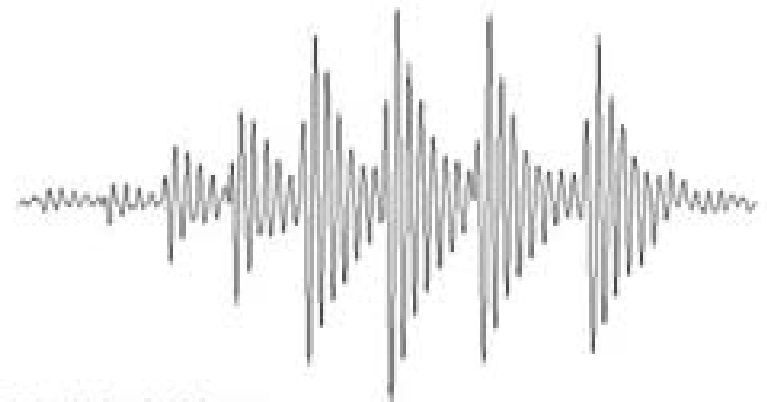
sacs vocaux: gris ou gris noir



*Pelophylax ridibundus*  
Grenouille rieuse

nombre d'impulsions par groupe:  $x=20.69$ ,  $se=1.13$ ,  $n=13$

## Grenouille de Bedriaga



*Pelophylax bedriagae*  
Grenouille de Bedriaga

nombre d'impulsion par groupe:  $x=7.66$ ,  $se=0.57$ ,  $n=3$

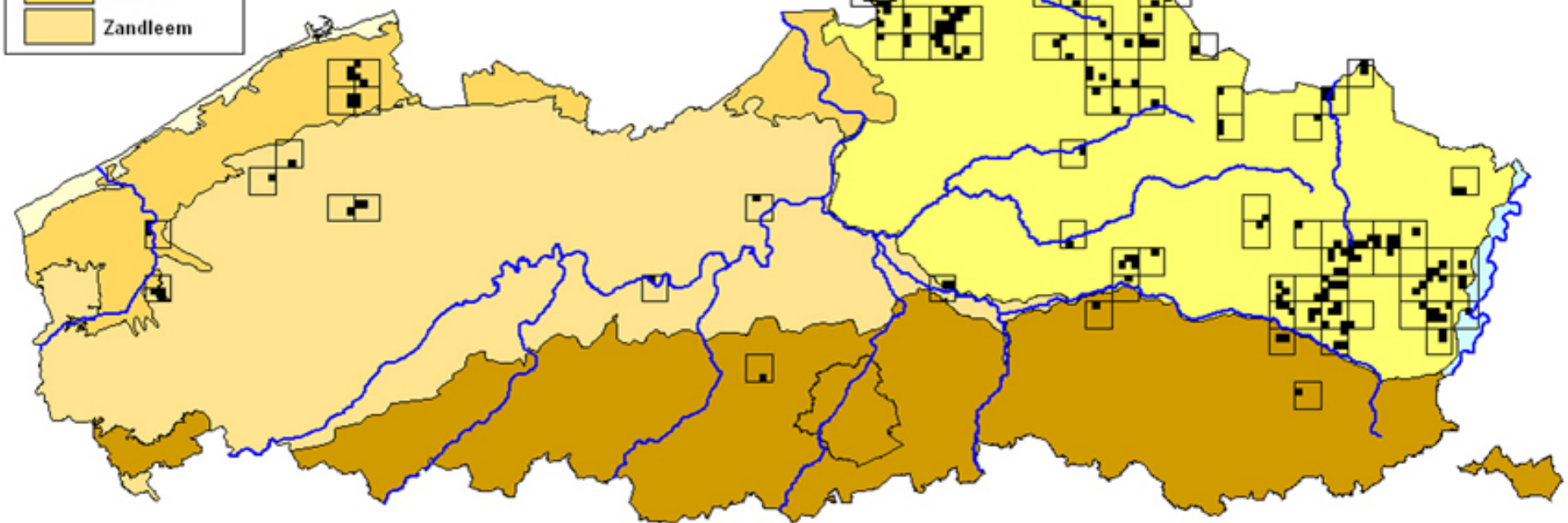
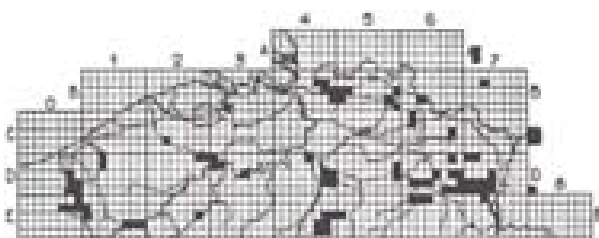




# Répartition Grenouille de Lessona (*Pelophylax lessonae*) par IFBL carrés de 4 et 1 km de côté, période 1990 - 2009



- Duin
- Kempen
- Leemstreek
- Maasregio
- Polders
- Zandleem

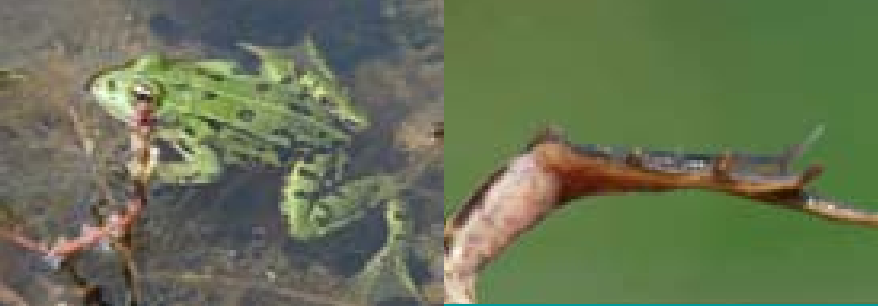


# Habitat de préférence sur le 'Groot-Schietveld' à Brecht -Wuustwezel

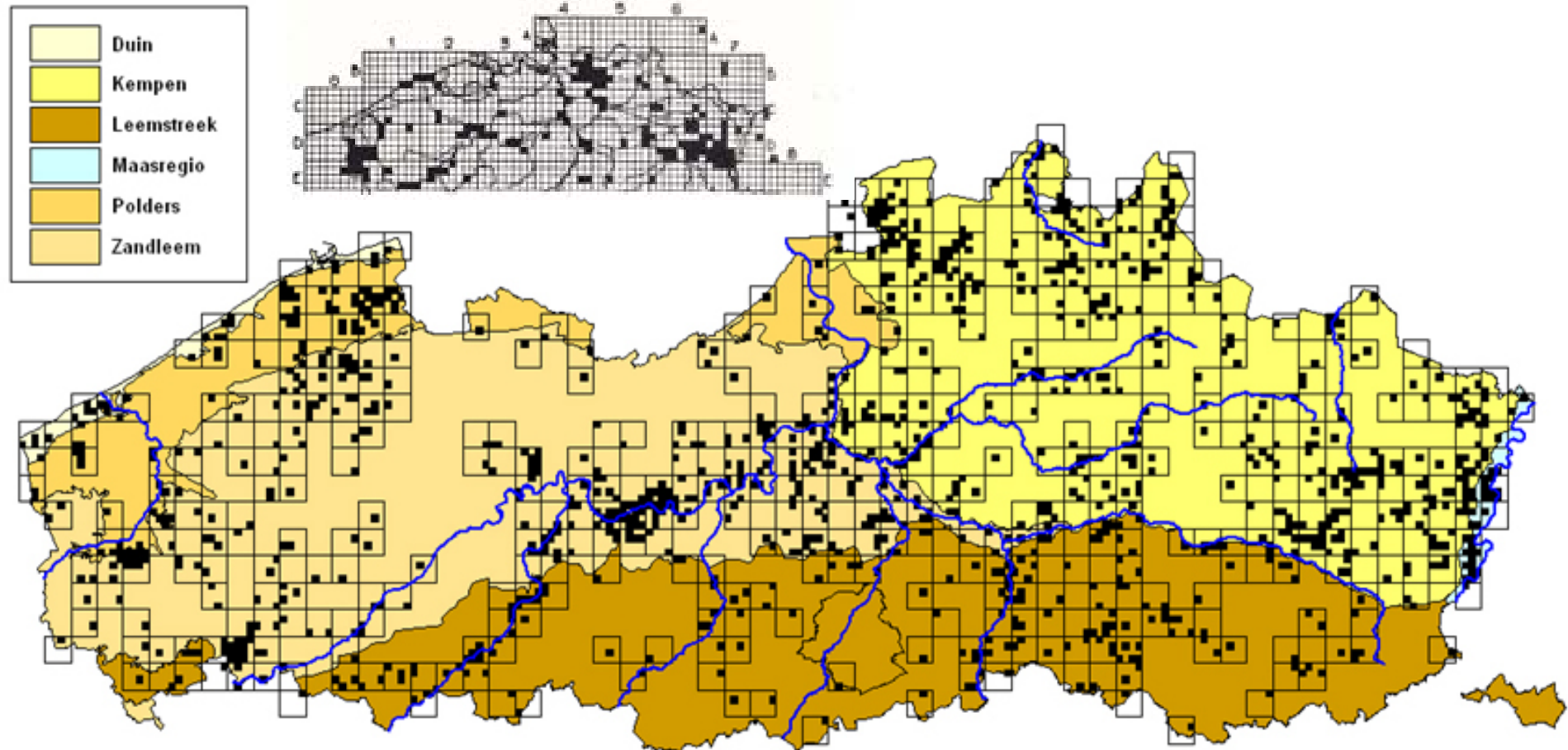


# Habitat dans les 'Halsche beemden' à Hoogstraten



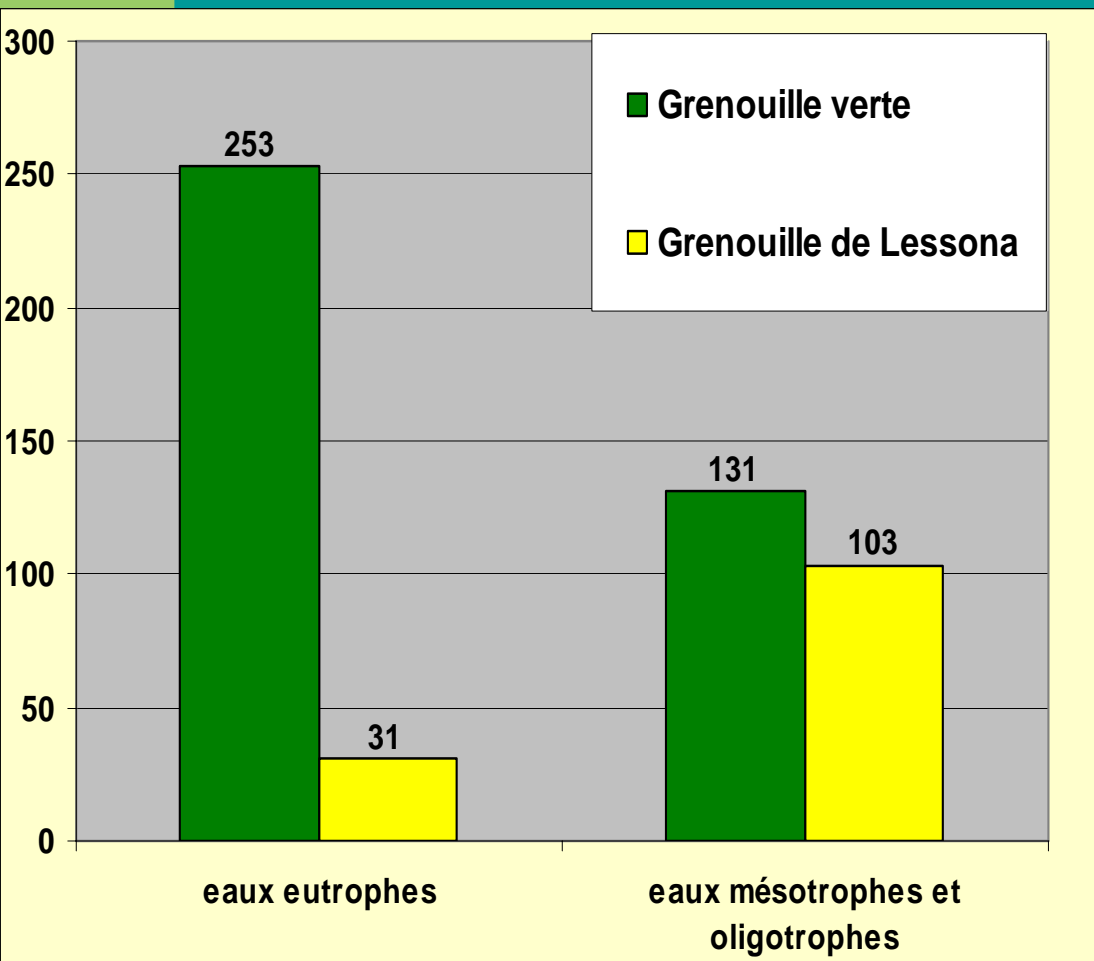


# Répartition Grenouille verte (*Pelophylax esculentus*) par IFBL carrés de 4 et 1 km de côté, période 1990 - 2009





# Choix de l'habitat chez la Grenouille de Lessona et la Grenouille verte



**Grenouille verte: peu difficile, dans les eaux oligotrophes et eutrophes**

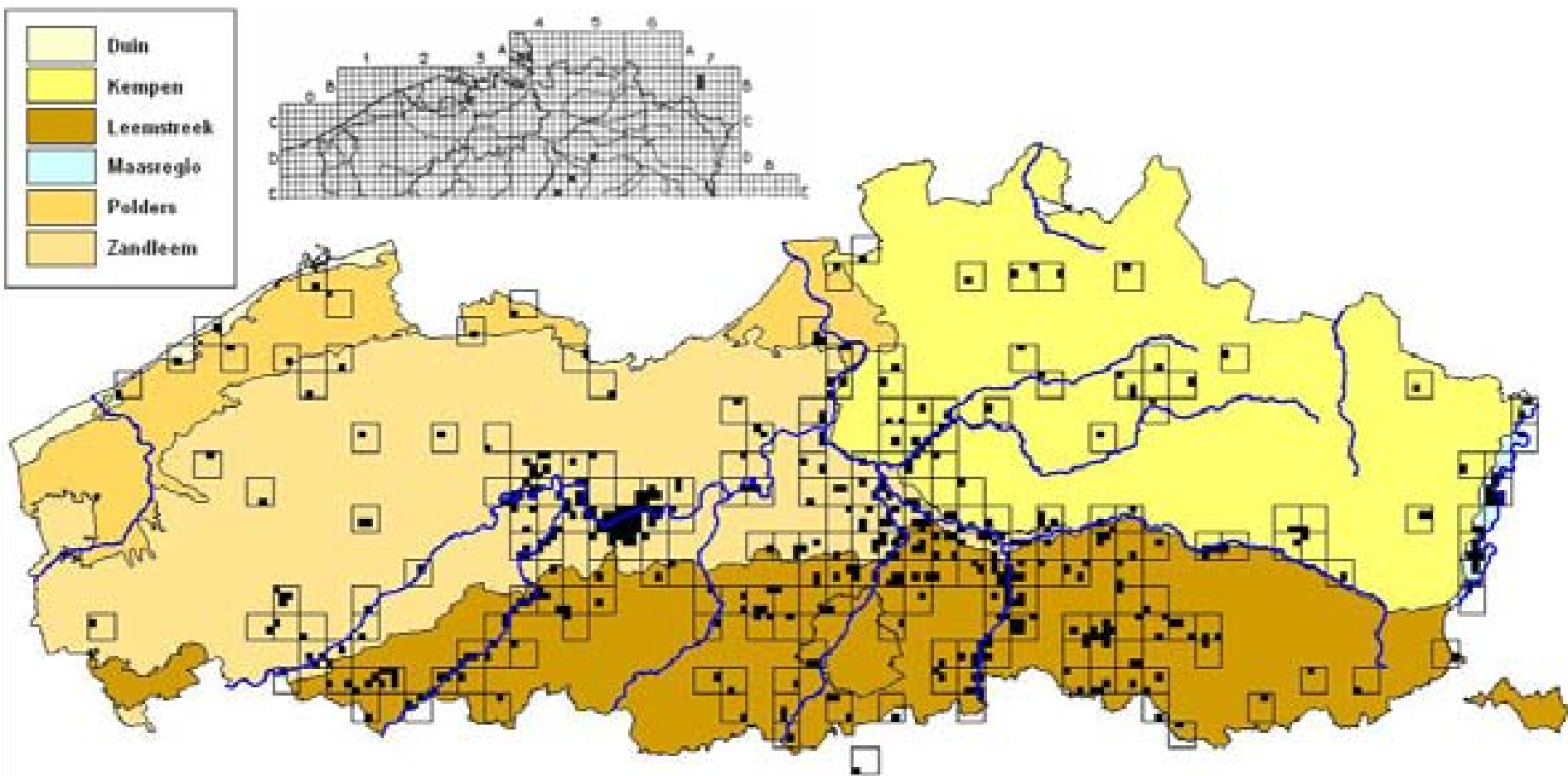
**Grenouille de Lessona: en particulier dans les eaux oligotrophes ou mésotrophes en Campine!**

**Significative de préférence entre les deux espèces:**

$$\chi^2=74,86, p=0,0000, df=1$$



# Répartition Grenouille rieuse (*Pelophylax ridibundus*) par IFBL carrés de 4 et 1 km de côté, période 1990 - 2009





En Flandre et en  
Région Bruxelles-  
capitale :



deux espèces de  
**Grenouilles rieuse**  
**asiatique!**



EGYPTISCHE  
GROENE KIKKERS

375 fr.

WINTERHARD!  
KWAKEN BIJ WARM WEER!



# Répartition de la Grenouille de Bedriaga (*Pelophylax bedriagae*) par IFBL carrés de 4 et 1 km de côté, période 1990 - 2009



# Habitat de reproduction de la Grenouille de Bedriaga (*P. bedriagae*) à Nieuwkerken-Waas

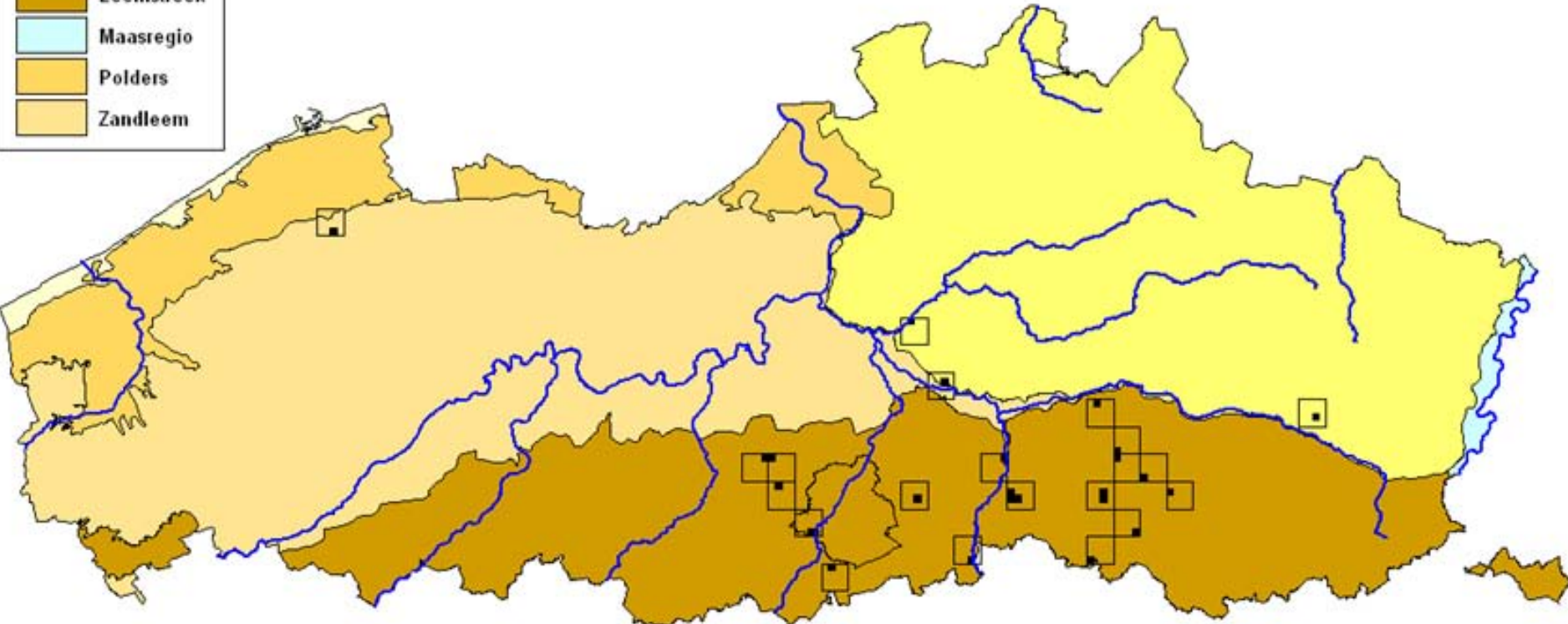




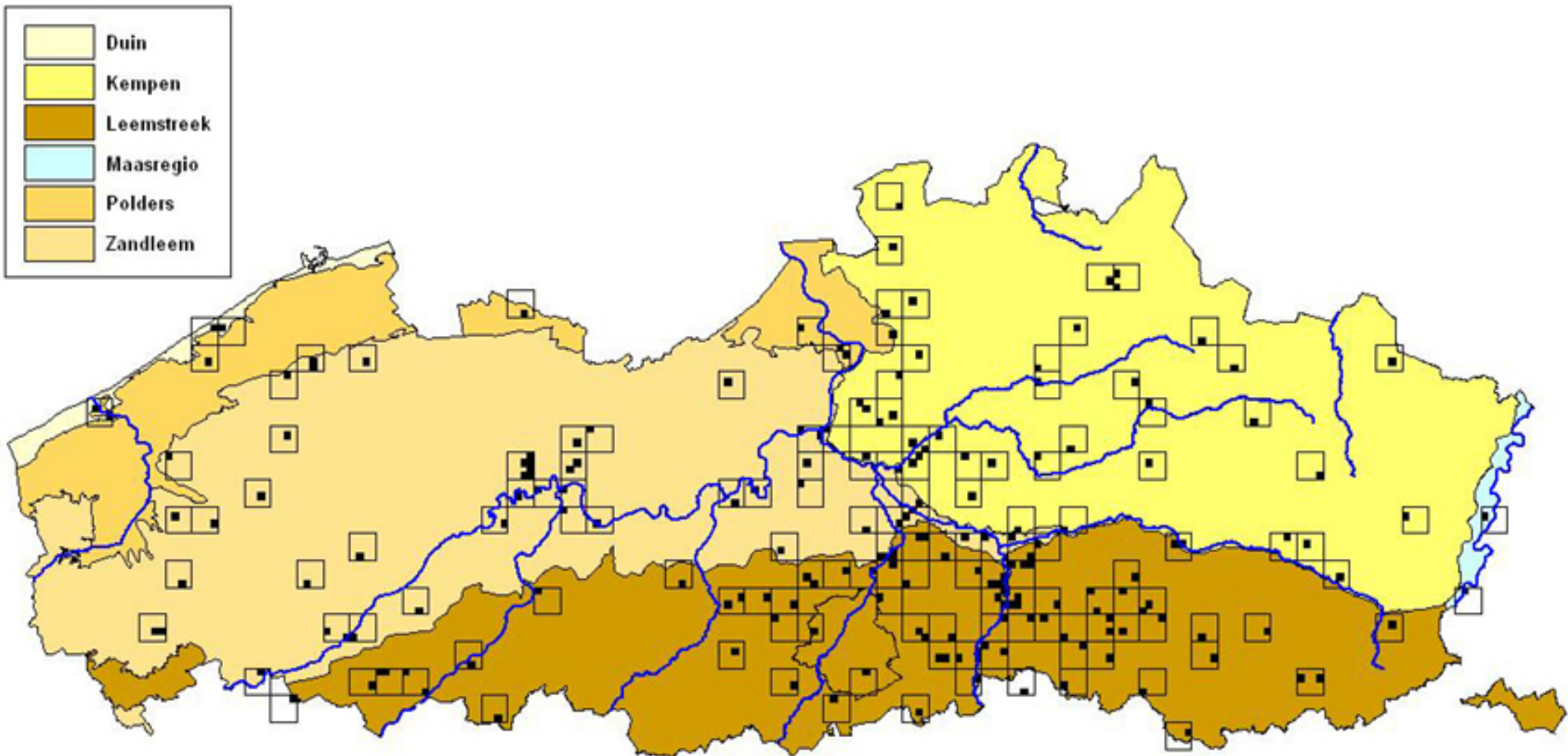
# Répartition des Grenouilles d'Anatolie (*Pelophylax cf. bedriagae*) par IFBL carrés de 4 et 1 km de côté, période 1990 - 2009



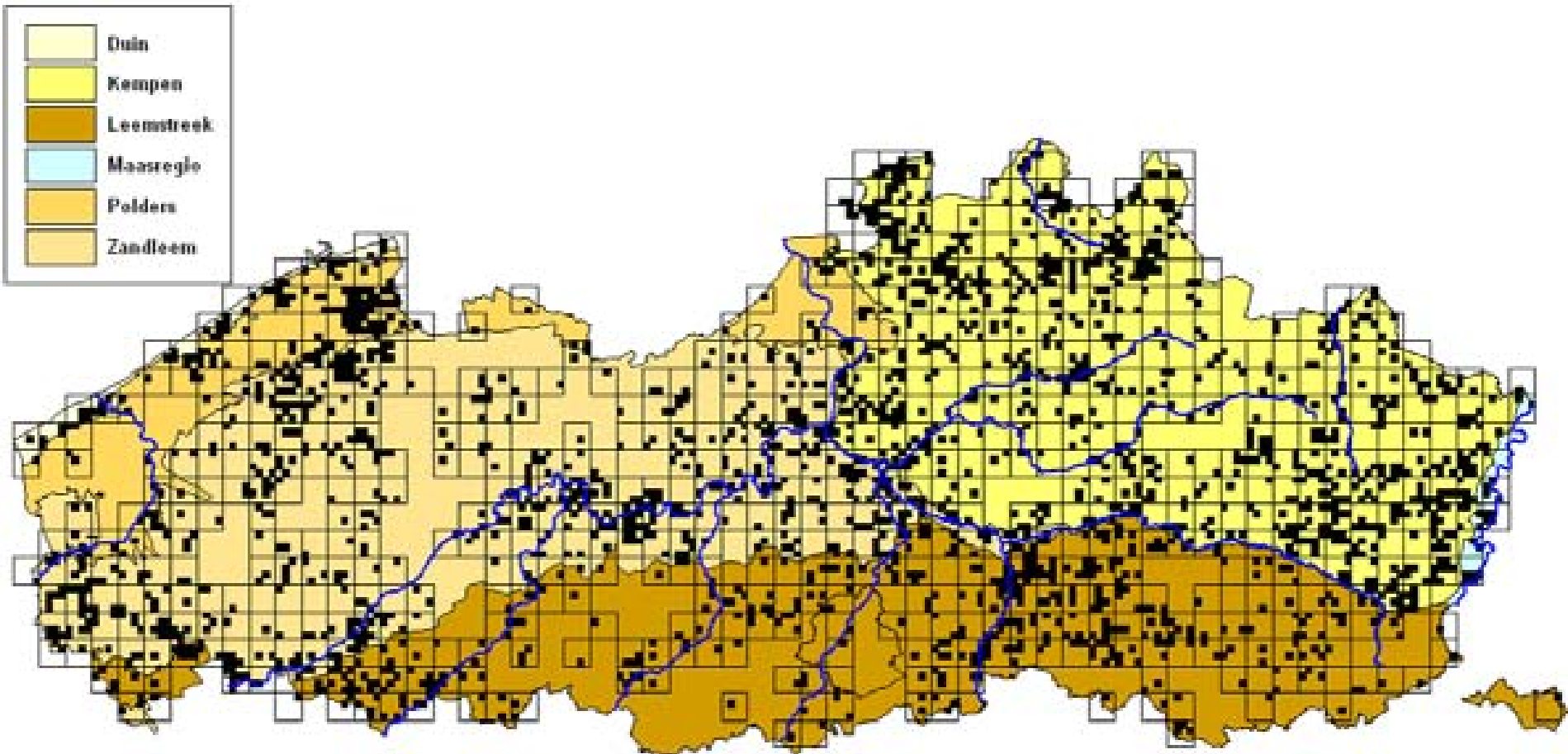
- Duin
- Kempen
- Leemstreek
- Maasregio
- Polders
- Zandleem



# Répartition des Grenouilles rieuses sensu lato (*Pelophylax ridibundus sensu lato*) par IFBL carrés de 4 et 1 km de côté , période 1990 - 2009



# Répartition des Grenouilles vertes non déterminées (*Pelophylax esculentus-synklepton*) par IFBL carrés de 4 et 1 km de côté , période 1990 - 2009



# Répartition des différentes populations



- ❑ Populations mixtes de Grenouilles de Lessona et Grenouilles vertes (**e-l-P**): surtout dans la Campine
- ❑ Pure populations de Grenouilles vertes (**e-P**): de plus en plus rare en raison de la colonisation par la Grenouille rieuse. Ils survivent encore dans la région côtière, les polders, Heuvelland, Ypres, vallée de la Durme, certaines région du Brabant Flamand et la Campine
- ❑ Populations mixtes de Grenouilles vertes et Grenouilles rieuses (**e-r-P**): particulièrement dans la vallée de l' Escaut, Beneden-Nete et Brabant Flamand
- ❑ Populations mixtes de Grenouilles de Lessona, Grenouilles vertes et Grenouilles rieuses (**e-l-r-P**): observé à huit endroits . A Rijmenan (Kassenbroek), Beerse, Tielrode, Rillaar, Mechelen a/d Maas et Hasselt
- ❑ Pures populations de Grenouilles rieuses (**r-P + taxa Asiatiques**): Région de Bruxelles-capitale, Linkebeek, Louvain, Brabant (Hagelland et Haspengouw) t

# Sex-ratio des différentes populations



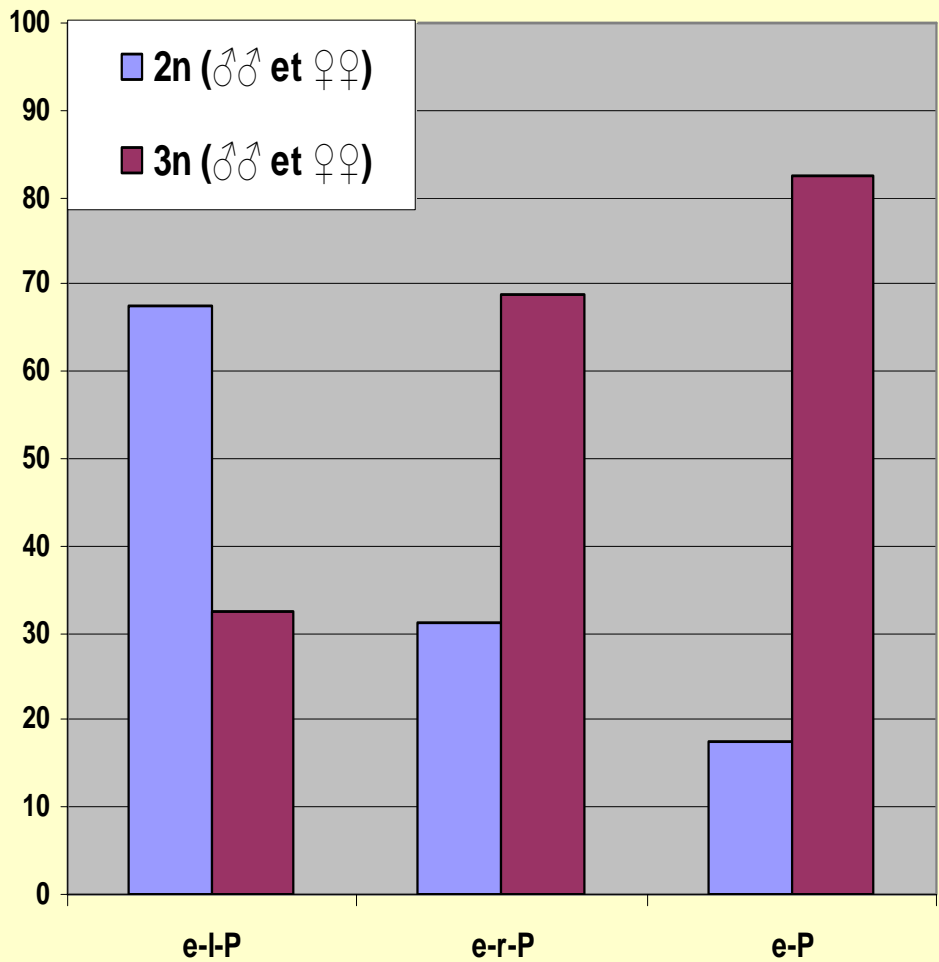
population	espèces	♂♂	♀♀	sex-ratio
e-l-P (44)	Grenouille verte	157	131	1,2
	Grenouille de Lessona	160	98	1,6
e-r-P (27)	Grenouille verte	98	6	<b>16,3</b>
	Grenouille rieuse	99	72	1,4
e-P (19)	Grenouille verte	161	23	<b>7,0</b>
r-P (8)	Grenouille rieuse	31	39	0,8

**$\chi^2$ : 53,02, p = 0.0000, df=1 (e-l-P et e-r-P)**

écarts statistiques significantes

**$\chi^2$ : 55,57, p = 0.0000, df=1 (e-l-P et e-P)**

# Ploïdie (%) de la Grenouille verte dans les différentes populations

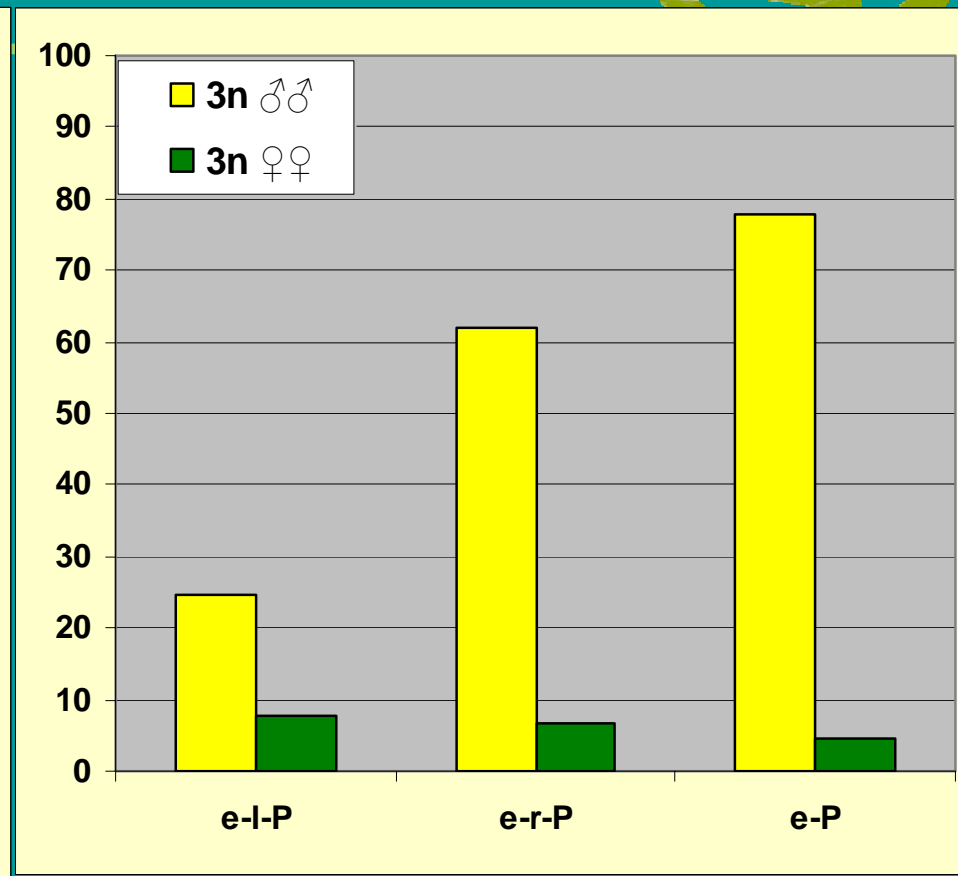
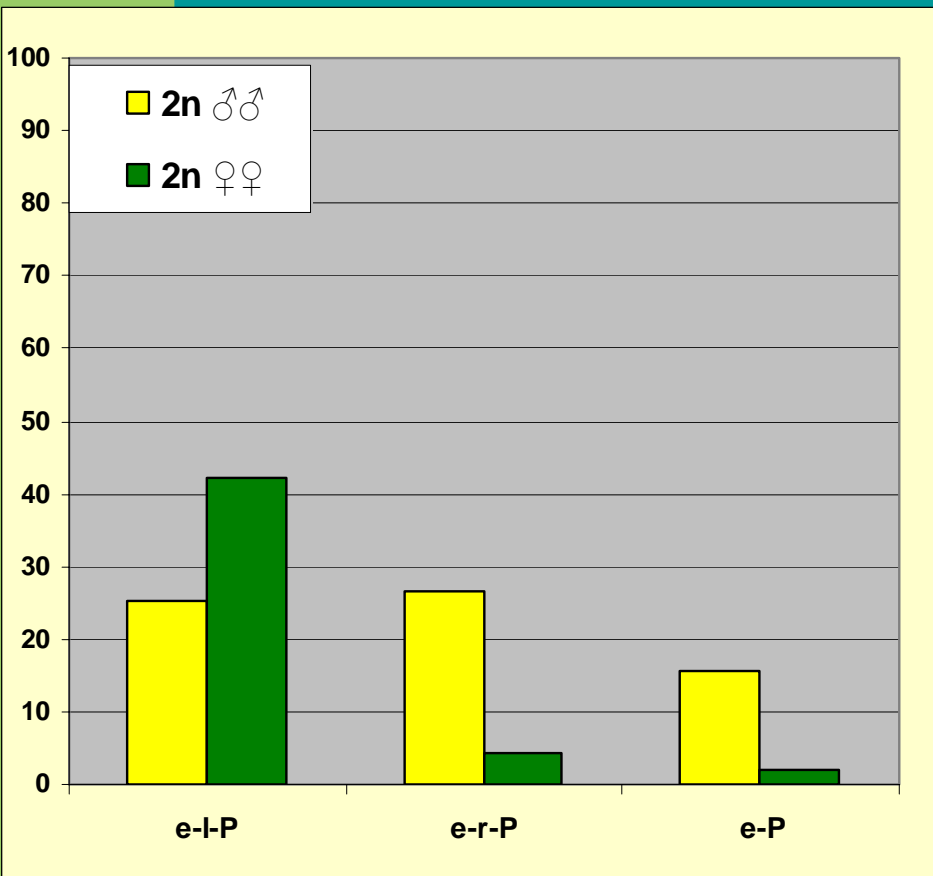


e-l-P : individus diploïdes +++

e-r-P en e-P: individus triploïdes +++



# Ploïdie (%) de la Grenouille verte (par sexe) dans les différentes populations



triploïde individus (LLR) de la Grenouille verte remplacent les Grenouilles de Lessona : fournisseurs de la L-génome



*Der grüne Wasserfrosch, Männ. u. Weib. Rana acculeata,  
seine Eier u. seine Verwandlung.*