

MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT,
DE LA LUTTE CONTRE
LES CHANGEMENTS CLIMATIQUES,
DE LA FAUNE ET DES PARCS

RECUEIL DES PROTOCOLES STANDARDISÉS D'INVENTAIRES DE SALAMANDRES À QUATRE ORTEILS AU QUÉBEC

Décembre 2022



Coordination et rédaction

Cette publication a été réalisée par Service de la conservation de la biodiversité et des milieux humides (SCBMH) du ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs (MELCCFP). Elle a été produite par la Direction des communications du MELCCFP.

Photographie de la page couverture

Salamandre à quatre orteils

Crédits des autres photographies

Page 3, figure 1A : Salamandre à quatre orteils, vue générale, © Lucie Veilleux, MELCCFP

Page 3, figure 1B : Salamandre à quatre orteils, vue ventrale, © Lucie Veilleux, MELCCFP

Page 4, figure 2 : Habitat de la salamandre à quatre orteils, © ELISO

Page 6, figure 4A : Site de ponte typique et monticule de mousse utilisés par la salamandre à quatre orteils femelle, © ELISO

Page 6, figure 4B : Nid de salamandre à quatre orteils avec une grappe d'œufs, © ELISO

Page 12, figure 5 : Matériel de décontamination, © Groupe de travail canadien sur la santé de l'herpétofaune

Page 13, figure 6 : Recherche active de nids de salamandre à quatre orteils dans la sphaigne, © ELISO

Page 14, figure 7 : Grappe d'œufs dans un nid de salamandre à quatre orteils, près de la surface de la sphaigne, © ELISO

Page 16, figure 8 : Coloration dorsale de la salamandre à quatre orteils adulte, © ELISO

La version intégrale de ce document est accessible à l'adresse suivante

<https://mffp.gouv.qc.ca/nos-publications/recueil-protocoles-inventaire-salamandres-quatre-orteils-au-quebec/>

Dépôt légal – 2022

Bibliothèque et Archives nationales du Québec

ISBN 978-2-550-93632-9 (PDF)

Tous droits réservés pour tous les pays.

© Gouvernement du Québec – 2022

Équipe de réalisation

Rédaction

Patrick Charbonneau, biologiste, M. Sc.	Ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs (MELCCFP), Service de la conservation de la biodiversité et des milieux humides (SCBMH)
Nathalie Tessier, biologiste, Ph. D.	MELCCFP, Direction de la gestion de la faune — Régions de l'Estrie, de Montréal, de Laval et de la Montérégie (DGFa — 05-06-13-16)
Anne-Marie Béland, technicienne de la faune	MELCCFP, SCBMH
Sarah Aubé, technicienne de la faune	MELCCFP, Service de la gestion des espèces aquatiques (SGEA)
Philippe Lamarre, biologiste, M. Sc.	MELCCFP, SCBMH

Révision

Catherine Doucet, biologiste, M. Sc.	MELCCFP, SCBMH
Yohann Dubois, biologiste, M. Sc. chef d'équipe, Division du rétablissement	MELCCFP, SCBMH
Christine Dumouchel, biologiste, M. Env.	MELCCFP, SCBMH
Anne-Marie Gosselin, biologiste chef d'équipe, Division de la biodiversité	MELCCFP, SCBMH
Émilie Trépanier, technicienne de la faune	MELCCFP, SCBMH

Remerciements

Nous remercions les techniciens et les techniciennes de la faune ainsi que les biologistes des directions régionales de la gestion de la faune (DGFa) et de la Direction de l'expertise sur la faune terrestre, l'herpétofaune et l'avifaune (DEFTHA) du MELCCFP qui ont lu et commenté ce protocole.

Référence à citer

MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT, DE LA LUTTE CONTRE LES CHANGEMENTS CLIMATIQUES, DE LA FAUNE ET DES PARCS (2022). *Recueil des protocoles standardisés d'inventaires de salamandres à quatre orteils au Québec*, gouvernement du Québec, Québec, 37 p. + annexes.

Registre du document et des mises à jour

Date	Version	Nature du document/des modifications	Chargé(e)s de projet
Janvier 2018	01	Première version officielle	Nathalie Tessier
Décembre 2022	02	Mise à jour et ajout du protocole pour l'ADNe	Patrick Charbonneau

Avant-propos

Ce document a été préparé dans le but d'accompagner les biologistes et les techniciens de la faune du ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs (MELCCFP), les consultants et les acteurs du milieu dans la réalisation d'inventaires de salamandres à quatre orteils. Il s'inspire des protocoles précédents (Ouellet, 2005; ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs [MFFP], 2018a) et bonifie l'information afin d'atteindre les objectifs et les besoins du MELCCFP en matière de conservation et de mise en valeur de la faune.

Ce document est un recueil de deux protocoles standardisés. Il présente la méthode d'inventaire traditionnelle de recherche active (*Protocole standardisé d'inventaires des nids de la salamandre à quatre orteils au Québec*) ainsi que la méthode d'inventaire par détection de l'acide désoxyribonucléique dans l'environnement (ADNe) (*Protocole standardisé d'inventaire de la salamandre à quatre orteils à l'aide de l'ADNe au Québec*).

Les personnes qui réaliseront des inventaires doivent s'assurer d'utiliser une version à jour du présent document, accessible à l'adresse suivante :

https://mffp.gouv.qc.ca/documents/faune/PT_standardise_inventaire_salamandres-4-orteils.pdf.

Par ailleurs, le présent protocole standardisé est destiné à être utilisé dans le cadre d'études d'impact ou d'autres projets nécessitant la détection de la salamandre à quatre orteils. Dans ces situations, si des modifications devaient être apportées au protocole, le plan d'échantillonnage doit être approuvé par la Direction de la gestion de la faune (DGFa) de la région concernée (voir Gouvernement du Québec [2022a] pour les adresses des bureaux régionaux).

Finalement, ce document vise à uniformiser l'information qui parvient au Centre de données sur le patrimoine naturel du Québec (CDPNQ), responsable de compiler les données d'inventaires des directions régionales, des consultants et des autres partenaires.

Table des matières

Introduction	1
Permis	1
Objectifs	2
Notions d'écologie	3
Morphologie	3
Habitat	3
Distribution	4
Ponte	4
Viabilité des occurrences	6
Menaces pesant sur l'espèce	7
Limites et mises en garde	9
Choix de la méthode de détection	9
Probabilité de détection	9
Méthodes traditionnelles d'inventaire	9
ADNe	9
Espèce semblable	10
Propagation des maladies et des espèces exotiques envahissantes	10
Lavage du matériel	10
Désinfection du matériel	11
Matériel requis	12
Véhicules	12
Protocole standardisé d'inventaire des nids de la salamandre à quatre orteils au Québec	13
Méthodologie	13
Recherche active	13
Matériel	14
Période d'inventaire	19
Effort	19
Choix des stations d'inventaire	19
Capture et manipulation des individus	19
Identification	20
Prise de données	21
Protocole standardisé d'inventaire de la salamandre à quatre orteils à l'aide de l'ADNe au Québec	22
Méthodologie	22
Matériel	22
Période d'échantillonnage	22
Effort d'échantillonnage et nombre d'échantillons	23

Localisation fine des sites d'échantillonnage	23
Volume d'eau à échantillonner	23
Préparation du matériel avant les travaux sur le terrain	23
Paquets stériles à usage unique	23
Paquets réutilisables	25
Sacs de transport de filtre individuel	26
Pompe	26
Échantillonnage et filtration	26
Notes importantes	26
Note importante n° 1	26
Note importante n° 2	27
Note importante n° 3	27
Procédure d'échantillonnage	27
Procédure de filtration	28
Conservation des échantillons filtrés au laboratoire (filtres)	30
Désinfection du matériel post-échantillonnage	30
Notes importantes	31
Note importante n° 4	31
Note importante n° 5	31
Note importante n° 6	31
Matériel	31
Procédure de désinfection	31
Exigences et transfert des données, des échantillons et du matériel utilisé	32
Permis SEG	32
Norme à respecter pour les documents traitant de l'ADNe	32
Formulaire papier	32
Formulaire électronique	32
Échantillons pour l'analyse d'ADNe	33
Élimination du matériel en plastique souillé	33
Espèces exotiques envahissantes	33
Références	34
Annexe A Procédure abrégée — Recherche active de nids	38
Annexe B Formulaire de prise de données — Inventaire de salamandres à quatre orteils — Recherche active de nids	42
Annexe C Procédure abrégée — ADNe	45
Annexe D Formulaires de prise de données — Échantillonnage de l'ADNe pour la détection de la salamandre à quatre orteils	50

Liste des tableaux

Tableau 1.	Espèces d'urodèles du Québec	1
Tableau 2.	Menaces pesant sur la salamandre à quatre orteils	8
Tableau 3.	Résumé des différentes méthodes de décontamination proposées dans le Guide des bonnes pratiques en milieu aquatique dans le but de prévenir l'introduction et la propagation d'espèces aquatiques envahissantes	11
Tableau 4.	Codes d'identification des urodèles du Québec	21

Liste des figures

Figure 1.	Salamandre à quatre orteils. A) Vue ventrale. B) Vue dorsale (la flèche rouge indique la constriction à la base de la queue).	3
Figure 2.	Habitat typique de la salamandre à quatre orteils	4
Figure 3.	Aire de répartition de la salamandre à quatre orteils au Québec	5
Figure 4.	A) Site de ponte typique et monticule de mousse utilisé par la femelle. B) Nid de salamandre à quatre orteils avec une grappe d'œufs	6
Figure 5.	Matériel de décontamination	12
Figure 6.	Recherche active de nids de salamandre à quatre orteils dans la sphaigne	13
Figure 7.	Grappe d'œufs dans un nid de salamandre à quatre orteils, près de la surface de la sphaigne	14
Figure 8.	Coloration dorsale de la salamandre à quatre orteils adulte	20
Figure 9.	Paquet de filtration ADNe stérile avec filtre autodessiccant intégré	24
Figure 10.	Paquet de filtration ADNe stérile à usage unique de marque Smith-Root	24
Figure 11.	Paquet de filtration ADNe stérile réutilisable	25
Figure 12.	Préparation de la pompe avec l'ajout d'huile	26
Figure 13.	Exemples de perche avec porte-bouteille	28
Figure 14.	A) Installation du porte-filtre. B) Installation pour la filtration d'un échantillon d'eau. C) Cylindre gradué positionné en contrebas de la pompe	29
Figure 15.	A) Sac Whirl-PAKMC avec des billes de silice. B) Retrait et pliage du filtre avec une pince. C) Insertion du filtre dans une pochette de nylon, dans le sac Whirl-PAKMC	30

Introduction

Le Québec constitue la limite nord de la répartition de plusieurs espèces animales, ce qui est particulièrement le cas pour les salamandres. Au Québec, on trouve 10 espèces d'urodèles (tableau 1).

Tableau 1. Espèces d'urodèles du Québec

Nom commun	Nom scientifique
Famille des Protéidés	
Necture tacheté	<i>Necturus maculosus</i>
Famille des Pléthodontidés	
Salamandre à deux lignes	<i>Eurycea bislineata</i>
Salamandre à quatre orteils	<i>Hemidactylium scutatum</i>
Salamandre cendrée	<i>Plethodon cinereus</i>
Salamandre pourpre	<i>Gyrinophilus porphyriticus</i>
Salamandre sombre des montagnes	<i>Desmognathus ochrophaeus</i>
Salamandre sombre du Nord	<i>Desmognathus fuscus</i>
Famille des Ambystomatidés	
Salamandre à points bleus	<i>Ambystoma laterale</i>
Salamandre maculée	<i>Ambystoma maculatum</i>
Famille des Salamandridés	
Triton vert	<i>Notophthalmus viridescens</i>

Ce recueil s'attarde plus particulièrement à la salamandre à quatre orteils (*Hemidactylium scutatum*). Un protocole standardisé a été conçu spécialement pour les inventaires de salamandres des ruisseaux (salamandre sombre des montagnes, salamandre sombre du Nord, salamandre pourpre et salamandre à deux lignes; ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs [MFFP], 2021b). Cependant, aucun protocole standardisé n'existe actuellement pour les salamandres forestières (salamandre à points bleus, salamandre cendrée et salamandre maculée) ni pour les espèces aquatiques (necture tacheté et triton vert). Dans le cas du triton vert, seul le juvénile, parfois nommé « elfe rouge », est terrestre, alors que l'adulte vit dans les lacs, les étangs et certains cours d'eau (Rodrigue et Desroches, 2018).

Pour effectuer des inventaires avec d'autres méthodes ou sur les autres espèces, veuillez contacter la Direction de la gestion de la faune (DGFa) de la région concernée (consulter Gouvernement du Québec [2022a] pour trouver les coordonnées des bureaux régionaux).

En vertu de la Loi sur les espèces menacées ou vulnérables (LEMV) (RLRQ, c. E -12.01), la salamandre à quatre orteils figure sur la Liste des espèces floristiques et fauniques susceptibles d'être désignées menacées ou vulnérables (RLRQ, c. E-12.01, r. 5).

Permis

La réalisation d'inventaires suivant le présent recueil requiert l'obtention d'un permis délivré aux fins scientifiques, éducatives ou de gestion de la faune (SEG) au préalable en vertu de l'article 47 de *Loi sur la conservation et la mise en valeur de la faune* (LCMV) (RLRQ, c. C -61.1) seulement si des individus sont

capturés et manipulés. Toutefois, l'échantillonnage d'eau pour l'analyse d'ADNe ne nécessite pas de permis. La demande de permis SEG doit être adressée au bureau régional de la DGFA de la région concernée (Gouvernement du Québec, 2022a; 2022b). La DGFA analysera la demande et en déterminera l'acceptabilité.

Il est à noter que les permis SEG délivrés aux fins de gestion de la faune, en vertu de l'article 47 de la LCMVF, sont tarifés. Les permis délivrés à des fins scientifiques ou éducatives sont exclus de la tarification.

Le permis SEG permet à son titulaire de déroger à certaines dispositions de la *Loi*, du moment qu'il se conforme aux conditions s'y rattachant. Tout manquement à l'une des conditions d'un permis SEG peut entraîner pour le titulaire des poursuites judiciaires et une amende. De plus, un projet qui implique la manipulation d'animaux à des fins scientifiques nécessite habituellement un certificat de bons soins aux animaux (CBSA) délivré par un comité affilié au Conseil canadien de protection des animaux (CCPA). Toutefois, dans le cadre du présent protocole, un inventaire dans un contexte de gestion de la faune nécessite un permis SEG, mais pas de CBSA.

Le ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs (MELCCFP, ci-après nommé le Ministère) peut assortir un permis SEG de toute condition concernant la manière dont les données à des fins scientifiques, éducatives ou de gestion de la faune doivent être communiquées. Ainsi, le titulaire d'un permis SEG est obligé de transmettre au Ministère les données brutes recueillies (stations de capture et leurs coordonnées géographiques, description du matériel et de la méthode de capture utilisés, nombre de spécimens par station, par date, par engin et par espèce, y compris les captures accidentelles) dans un fichier gabarit (de type Excel). Ces données pourront ensuite être colligées dans la banque source par le Ministère (p. ex., Banque d'observations sur les reptiles et amphibiens du Québec [BORAQ]) et au Centre de données sur le patrimoine naturel du Québec (CDPNQ) afin qu'elles puissent être utilisées pour améliorer les connaissances à des fins de conservation de la salamandre à quatre orteils.

Objectifs

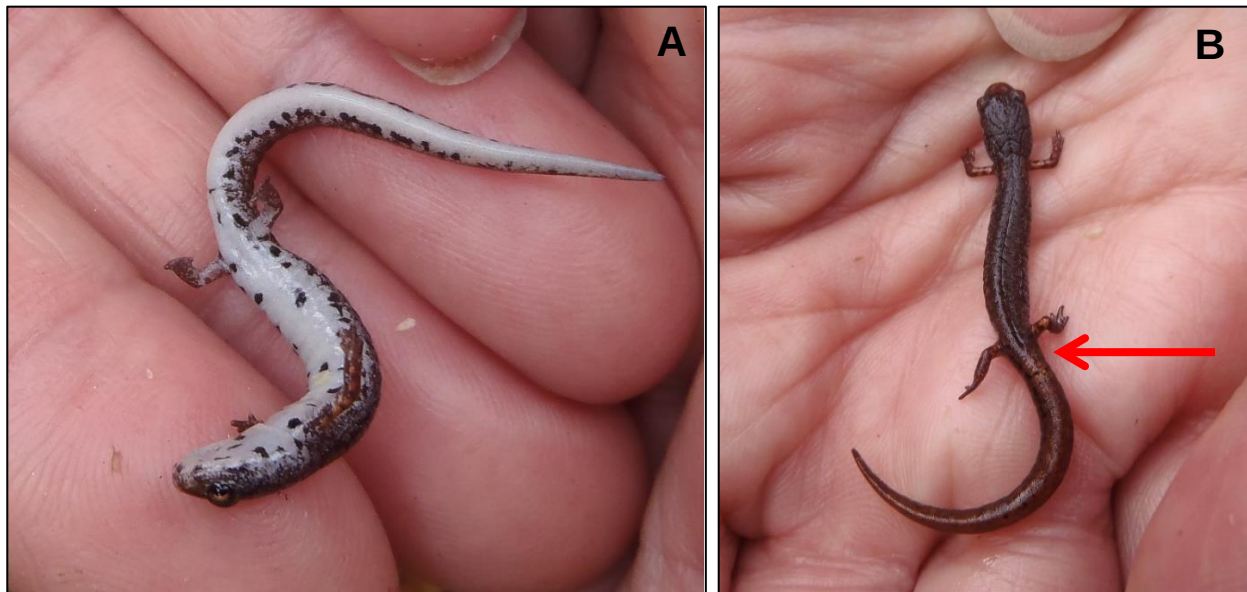
Les méthodologies du présent recueil visent à :

- confirmer la présence de la salamandre à quatre orteils afin d'en tenir compte dans le cadre d'évaluations environnementales de projets pouvant avoir des répercussions sur celles-ci ou leurs habitats;
- améliorer les connaissances sur la répartition de la salamandre à quatre orteils.

Notions d'écologie

Morphologie

La salamandre à quatre orteils est une petite salamandre qui ne dépasse pas 10 cm de longueur (Petranka, 2010; Rodrigue et Desroches, 2018). Elle est facilement identifiable grâce à son ventre blanc parsemé de taches noires bien définies (figure 1A). Elle possède également une constriction importante à la base de la queue (figure 1B) qui lui permet de la détacher afin de détourner l'attention de ses prédateurs. Son dos et ses membres sont rougeâtres (figure 1B). Comme son nom l'indique, elle possède quatre orteils. Il peut toutefois être difficile de les compter en raison de sa petite taille, et l'identification d'un spécimen devrait plutôt reposer sur les critères mentionnés précédemment.



Crédit : © Lucie Veilleux, MELCCFP

Figure 1. Salamandre à quatre orteils. A) Vue ventrale. B) Vue dorsale (la flèche rouge indique la constriction à la base de la queue).

Habitat

La salamandre à quatre orteils est une espèce terrestre et forestière. Elle vit principalement dans les tourbières, les marécages à sphaigne (figure 2), mais aussi dans les étangs à castor et les forêts humides riches en mousses (Rodrigue et Desroches, 2018). Durant l'été, les adultes vivent dans les milieux forestiers en bordure des sites de ponte (Rodrigue et Desroches, 2018).



Crédit : © ELISO

Figure 2. Habitat typique de la salamandre à quatre orteils

Distribution

La salamandre à quatre orteils est rare au Québec et possède une aire de répartition discontinue (figure 3). Il est probable que plusieurs localités restent encore à découvrir.

Ponte

La salamandre à quatre orteils utilise des sites de ponte facilement reconnaissables. En effet, ils sont constitués de monticules de mousse entourés d'eau. La sphaigne est généralement le type de mousse le plus utilisé (figure 4A). Le site de ponte habituellement situé en milieu forestier, mais certains se trouvent également aux abords des tourbières. Les larves doivent passer par un stade aquatique qui peut durer jusqu'à six semaines dans certains cas. Cette espèce a donc la particularité de pondre dans des monticules de mousses qui surplombent l'eau. La femelle reste généralement avec les œufs jusqu'à l'éclosion (figure 4B). Les petites larves se laissent alors glisser dans la mousse et tombent dans l'eau où elles passeront les semaines suivantes jusqu'à leur métamorphose (Ouellet, 2005; Petranka, 2010). Selon Petranka (2010), les femelles ne pondraient pas dans un habitat où il y a du poisson.

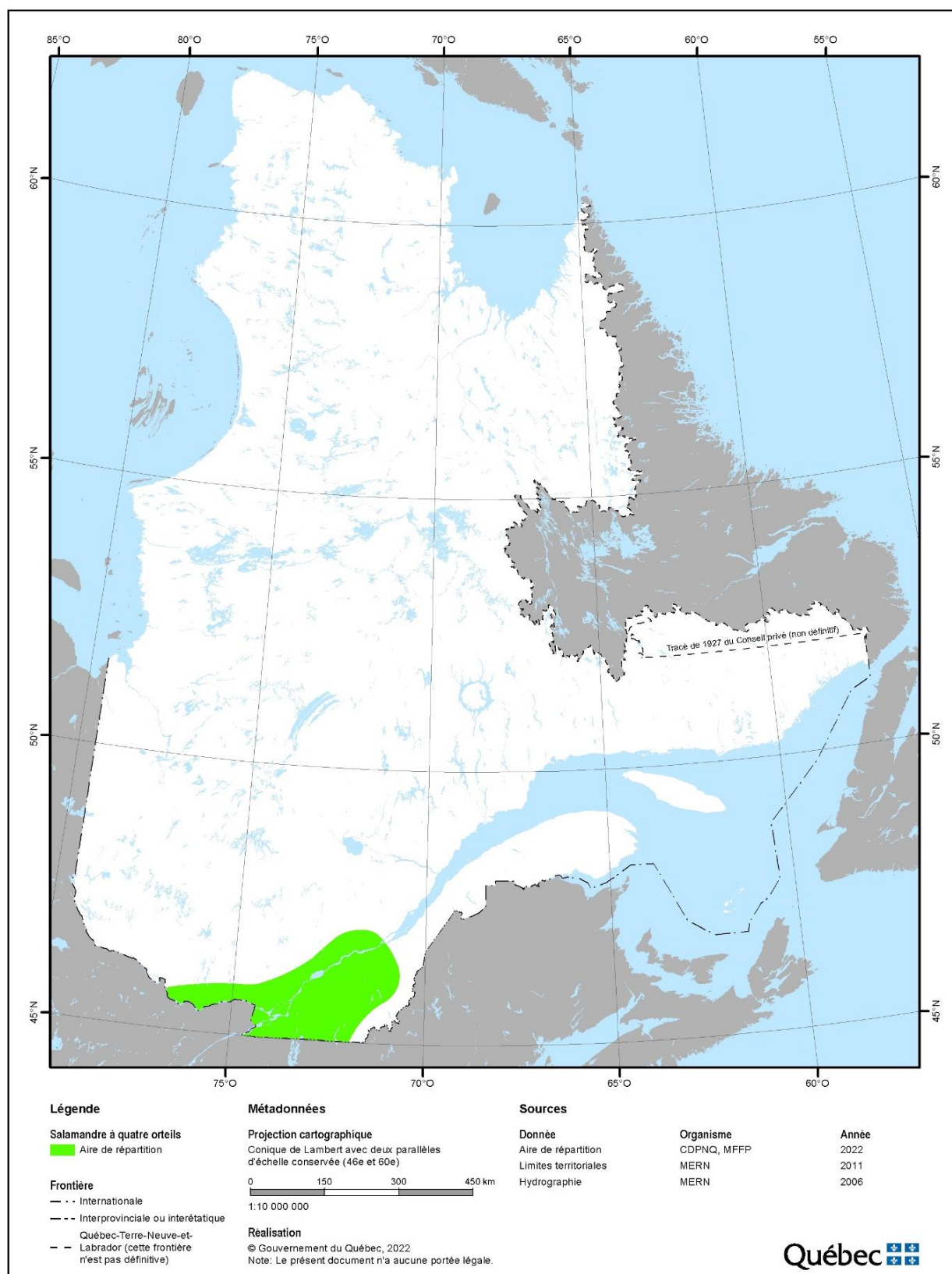


Figure 3. Aire de répartition de la salamandre à quatre orteils au Québec



Crédit : © ELISO

Figure 4. A) Site de ponte typique et monticule de mousse utilisé par la femelle. B) Nid de salamandre à quatre orteils avec une grappe d'œufs

Viabilité des occurrences

Les populations de salamandres à quatre orteils sont suivies par le CDPNQ. Les occurrences¹ y sont colligées et analysées sur le plan de la viabilité. La viabilité d'une occurrence est une estimation succincte de la probabilité de persistance de la population locale sur une échelle de 20 à 30 ans si les conditions actuelles s'y maintiennent. Elle est estimée à la suite d'une évaluation des facteurs qui y sont limitants pour l'espèce, selon la clé décisionnelle de NatureServe² (Hammerson et coll., 2020). De ces facteurs limitants, certains peuvent être inférés par géomatique à l'échelle du paysage, mais d'autres doivent être documentées sur le terrain lorsque l'information n'est pas disponible, est incomplète ou incohérente. C'est le cas notamment de nombreuses données de microhabitat dont la survie d'une population peut dépendre, mais pour lesquelles très peu de données sont disponibles. Ces renseignements doivent donc être recueillis par les équipes de terrain de façon à améliorer le suivi des populations et à documenter les paramètres qui sont importants pour la survie de l'espèce dans les occurrences.

¹ Terme en usage dans le réseau de centres de données sur la conservation associés à NatureServe. Ce mot désigne un territoire (point, ligne ou polygone cartographique) abritant ou ayant jadis abrité un élément de la biodiversité. Une occurrence a une valeur de conservation (cote de qualité) pour l'élément de la biodiversité. Lorsqu'on parle d'une espèce, l'occurrence correspond généralement à l'habitat occupé par une population locale de l'espèce en question. Ce qui constitue une occurrence et les critères retenus pour attribuer la cote de qualité qui lui est associée varie selon l'élément de la biodiversité considéré. L'occurrence peut correspondre à une plage cartographique unique (ou point d'observation) ou à un regroupement de plusieurs plages rapprochées.

² NatureServe est un organisme non gouvernemental environnemental spécialisé dans la conservation de la nature. Cette organisation fait partie du Réseau de programmes et de centres d'information sur la conservation créée par The Nature Conservancy. Des centres existent aux États-Unis, au Canada, en Amérique du Sud et aux Caraïbes. Le CDPNQ est un membre actif de NatureServe.

La répartition de la salamandre à quatre orteils serait favorisée par les facteurs naturels suivants :

- un milieu humide (étang, marécage, tourbière à sphaigne);
- l'humidité de l'habitat;
- la qualité de l'eau;
- un couvert forestier;
- de la mousse et de la sphaigne;
- l'absence de poisson.

En général, une bonne caractérisation de l'habitat permet de documenter ces facteurs.

Menaces pesant sur l'espèce

L'analyse des menaces du Ministère se base sur la *Classification standardisée des menaces affectant la biodiversité* (MFFP, 2021a) pour lesquelles des indicateurs concrets ont été définis afin de faciliter leur documentation sur le terrain. Comme pour l'analyse de la viabilité, de nombreux outils géomatiques permettent une analyse à l'échelle du territoire, mais plusieurs menaces doivent être documentées par des observations sur le terrain.

La documentation des menaces sur le terrain vise à déterminer des enjeux pour l'espèce au cours des inventaires. De ce fait, l'observation des menaces dans le cadre des inventaires courants ne requiert pas d'analyse extensive, mais permettra de répertorier des besoins ponctuels et de broser un profil de l'incidence de ces menaces relatives aux occurrences.

Plusieurs menaces planent sur les populations de salamandres à quatre orteils. Cependant, ces dernières ne sont pas toutes visibles sur le terrain (p. ex., un rabattement de la nappe phréatique). Les menaces documentées par le protocole et le formulaire de terrain ne comprennent que les menaces pour lesquelles l'information sur le terrain est essentielle et détectable. Puisque ses habitats sont souvent détruits pour la construction d'habitations, par les coupes forestières ou le remblai pour l'agriculture, la situation de la salamandre à quatre orteils est précaire au Québec.

Les menaces qui pèsent sur l'espèce ont été classées selon la classification du Ministère (MFFP, 2021a). Elles comprennent plusieurs activités anthropiques qui peuvent induire un stress chez les individus (p. ex., blessures et mort) ou l'habitat (p. ex., conversion des terres, dégradation, fragmentation) (tableau 2). Les menaces à répertorier sur le terrain sont décrites à l'aide d'indicateurs qui sont suivis sur le terrain, pendant l'inventaire (en bleu dans le tableau 2).

Tableau 2. Menaces pesant sur la salamandre à quatre orteils

ID	Menace	Indicateurs suivis sur le terrain
1.1.1	Zones résidentielles et urbaines denses	
1.1.2	Zones résidentielles à faible densité	
1.3.2	Terrains de camping	
1.3.4	Sentiers récréatifs	Sentiers aménagés dans l'habitat utilisé par l'espèce
2.1.1	Agriculture de type annuelle (grandes cultures)	
2.1.3	Agriculture autre	
2.2.1	Production de bois de pulpe	
3.2.3	Carrières et sablières	
3.2.4	Récolte de la tourbe	Prélèvement commercial de la tourbe dans l'habitat
4.2.1	Lignes de transport d'énergie et de services	
5.3.1	Retrait total du couvert forestier	
5.3.2	Retrait partiel du couvert forestier	
6.1.1	Véhicules motorisés	Orniérage, présence ou trace de passage de VTT
7.2.3	Gestion de l'eau par ponceau	Ponceau mal construit ou endommagé (engendrant une discontinuité ou de l'érosion)
7.2.4	Drainage en milieu agricole	Canaux de drainage en milieu agricole, fossés drainant l'habitat
7.2.5	Drainage en milieu forestier	Canaux de drainage en milieu forestier, fossés drainant l'habitat
7.2.6	Prélèvement des eaux de surface	Tuyaux de prélèvement de l'eau, déviation du cours d'eau (réservoir, lac artificiel)
8.4.3	Agent pathogène fongique	Individus malades ou morts présentant des symptômes associés à une infection fongique (p. ex., apathie, décoloration, lésions cutanées, taches noires)
9.1.2	Effluents urbains	
9.3.1	Charge de nutriments	
9.3.2	Érosion du sol, sédimentation	Eau souillée, boue ou sédiments provenant d'une activité humaine (p. ex., réseau routier, chemins forestiers, agricoles)
9.3.3	Herbicides et pesticides	
11.3.1	Vagues de chaleur	Vagues de chaleur extrême pendant l'inventaire (au-dessus des normales saisonnières)
11.4.2	Sécheresse	Stress hydrique subi par l'espèce ou son habitat, causé par un manque de précipitations (en deçà des normales saisonnières)

Limites et mises en garde

Choix de la méthode de détection

Le choix de la méthode à employer dépend de l'expérience de l'équipe de terrain pour trouver des nids de salamandre à quatre orteils ou échantillonner de l'eau pour des analyses d'ADNe, sans la contaminer, et ainsi s'assurer de la validité des résultats. Dans ce dernier cas, l'accessibilité à un laboratoire spécialisé dans ce genre d'analyse pourrait être un facteur limitant pour le choix de l'ADNe comme technique de détection de la salamandre à quatre orteils.

Probabilité de détection

La probabilité de détection d'une espèce est définie comme la probabilité de détecter au moins un individu d'une espèce donnée au cours d'une occasion d'échantillonnage unique dans un contexte particulier, en sachant que des individus de l'espèce vivent dans la zone inventoriée (Boulinier et coll., 1998; MacKenzie et coll., 2002).

Méthodes traditionnelles d'inventaire

La probabilité de détection des salamandres varie selon plusieurs facteurs (Mazerolle et coll., 2007; Schmidt et Pellet, 2009). Les facteurs qui influencent le taux de détection sont : la composition de la communauté de salamandres étudiée, la densité locale, les habitats (notamment les étangs pour la salamandre à quatre orteils), les perturbations anthropiques et naturelles, les conditions environnementales, la taille des espèces, les années (Bailey, 2002; Bailey et coll., 2004a; Corser et Dodd, 2004; Dodd et Dorazio, 2004; McGhee, 2016; Barata et coll., 2017; Hernández-Pacheco et coll., 2019), les comportements particuliers relatifs à l'abondance et à la saisonnalité (Otis et coll., 1978; Bailey et coll., 2004b et 2004c; Kroll et coll., 2008; McGhee, 2016; Hernández-Pacheco et coll., 2019) ainsi que les méthodes d'inventaire (Barr et Babbitt, 2001; Hyde et Simons, 2001; Jenkins et coll., 2002; Bailey et coll., 2004c). Aussi, l'inexpérience des observateurs peut avoir un effet négatif sur la probabilité de détection des salamandres (Barata et coll., 2017). Chez la salamandre à quatre orteils en particulier, les éléments qui favorisent sa nidification et les chances de trouver des nids sont des étangs entourés de mousse de sphagne et d'herbes (Chalmers, 2004), dont les berges sont abruptes et le pH de l'eau est moyennement faible (pH = 5,26) (Wahl et coll., 2008).

La standardisation des méthodes d'inventaire est l'une des solutions pour limiter les variations des probabilités de détection (Schmidt et Pellet, 2009), d'où la publication d'un protocole standardisé pour cette espèce rare par le Ministère.

ADNe

L'ADNe fournit une alternative judicieuse et non invasive aux techniques traditionnelles en détectant les traces d'ADN rejetées par une espèce cible dans son environnement. Kaganer et coll. (2022) ont évalué l'efficacité de cette technique pour la salamandre à quatre orteils. L'ADN de cette espèce se retrouverait en faible concentration dans l'habitat, ce qui implique qu'un grand nombre d'échantillons d'eau doivent être prélevés (plus de 125 ml/échantillon et plus de trois échantillons/1,2 ha).

Pierson et coll. (2016) ont démontré que, pour une espèce de salamandre de ruisseaux, la probabilité de détection avec l'ADNe est plus efficace et moins coûteuse que la méthode passive utilisant des sacs de substrat déposés sur le lit des cours d'eau. Plante et coll. (2021), quant à eux, mentionnent que l'ADNe est un excellent outil pour détecter les salamandres de ruisseaux. Contrairement aux cours d'eau, la dispersion de l'ADNe dans un système lentique comme un marécage, un étang ou un lac est beaucoup plus limitée (Stricler et coll., 2015; Dunker et coll., 2016), ce qui améliore les chances de détecter l'ADN de la salamandre à quatre orteils.

La persistance de l'ADNe dans l'environnement varie de 1 à 58 jours et dépend de plusieurs facteurs comme la température de l'eau, son pH et l'exposition aux rayons ultraviolets (UV) (Dejean et coll., 2011; Thomsen et coll., 2012; Barnes et coll., 2014; Strickler et coll., 2015; Sassoubre et coll., 2016; Andruszkiewicz et coll., 2017; Nevers et coll., 2018). Il est donc important de viser une période d'échantillonnage propice afin de s'assurer que l'ADN visé de l'espèce se trouve dans l'eau.

Espèce semblable

Une attention particulière doit être portée à la salamandre cendrée, car elle peut être confondue avec la salamandre à quatre orteils (Rodrigue et Desroches, 2018). Toutefois, la salamandre cendrée n'a pas le ventre blanc, mais plutôt poivre et sel, elle n'a pas de constriction à la base de la queue et ses pattes arrière ont cinq orteils.

Propagation des maladies et des espèces exotiques envahissantes

Il est fortement recommandé d'adopter une approche de biosécurité pouvant permettre de réduire les risques de propagation de maladies ou d'espèces exotiques envahissantes (EEE). Notamment chez les salamandres, bien qu'absente du Québec à ce jour, la chytridiomycose, une maladie létale causée par l'agent pathogène *Batrachochytrium salamandrivorans* (BSal) figure parmi les menaces pour les salamandres. En effet, cette maladie pourrait réduire la biodiversité d'amphibiens et engendrer des répercussions écosystémiques néfastes (Gray et coll., 2015; Richgels et coll., 2016; Yap et coll., 2017). Une étude rassurante, effectuée en laboratoire où l'on inoculait BSal aux salamandres, conclut que les salamandres de la famille des Pléthodontidés, notamment la salamandre cendrée et la salamandre sombre du Nord, sont résistantes à BSal, mais que le triton vert est très vulnérable à l'agent pathogène (DiRenzo et coll., 2021).

Jusqu'ici, des mesures ont été mises en place afin de limiter les risques d'introduction de l'agent pathogène au Québec. Par exemple, une restriction sur l'importation des salamandres au Canada est en vigueur et des mesures sanitaires sont exigées si des importations sont autorisées.

Dans le cas où certaines exigences sont inscrites sur le permis SEG délivré par le Ministère, ces dernières ont préséance sur les recommandations de la présente section.

Lavage du matériel

Tout le matériel ayant été en contact avec l'eau (bottes, bottes de pêche, épuisettes, nasses, seaux, etc.) peut être un vecteur de transmission d'agents infectieux ou d'espèces exotiques envahissantes. Il est donc recommandé, entre chaque milieu humide inventorié, de nettoyer à la brosse et de rincer (avec l'eau du milieu humide) l'ensemble du matériel utilisé afin d'enlever la terre, la vase, les algues, les plantes aquatiques et tous les petits organismes qui pourraient être collés à l'équipement (Dejean et coll., 2007; Groupe de travail canadien sur la santé de l'herpétofaune [GTCSH], 2017). Selon le GTCSH, il est recommandé d'effectuer le lavage avant de quitter le site d'échantillonnage ou de le faire sur une surface imperméable. Il est important de faire ce nettoyage entre chaque milieu humide inventorié.

Il est également possible de faire sécher le matériel pour détruire les organismes. Le séchage ne détruit pas l'ADN, il élimine uniquement les maladies ou les EEE. Afin d'éliminer ces dernières, il est nécessaire de prévoir un temps de séchage minimum de cinq jours consécutifs. Les conditions météorologiques pendant cette période doivent être propices au séchage, soit une absence de pluie et un taux d'humidité inférieur à 65 % (tableau 3). Si jamais la météo est défavorable (pluie ou taux d'humidité atmosphérique trop élevé), le temps de séchage devra être prolongé. Avant la période de séchage, toute eau stagnante doit être drainée de l'équipement.

Tableau 3. Résumé des différentes méthodes de décontamination proposées dans le *Guide des bonnes pratiques en milieu aquatique dans le but de prévenir l'introduction et la propagation d'espèces aquatiques envahissantes* (MFFP, 2018b)

Méthode	Concentration	Pression	Temps de traitement par surface pour déloger les organismes
Nettoyage*	Vapeur > 60 °C	2 600 psi	5 à 10 secondes
Eau chaude*	60 °C	Sans pression	10 minutes
	60 °C	2 600 psi	5 à 10 secondes
Eau froide	< 40 °C	2 600 psi	30 secondes
Chlore ou eau de Javel (non concentré)*	100 ml/L	-	10 minutes
Vinaigre blanc*	750 ml/L	-	20 minutes
Séchage à l'air*	Humidité de < 65 %	-	5 jours consécutifs
Congélation*	De -9 à 0 °C	-	24 heures
	-9 °C et moins	-	8 heures

Source : MFFP (2018).

* Tue les organismes aquatiques si les directives sont respectées.

Désinfection du matériel

Entre chaque milieu humide inventorié, tous les équipements doivent être désinfectés sur place. Il est préférable de choisir un chemin, une route ou une surface compacte et imperméable suffisamment éloignée du milieu aquatique pour limiter les écoulements de solution de désinfectants dans le milieu.

Plusieurs désinfectants chimiques ont été évalués pour leur efficacité, leur disponibilité, leur facilité d'usage et de rejet après utilisation (Dejean et coll., 2007). L'eau de Javel (hypochlorite de sodium) est un désinfectant efficace, mais son utilisation comporte certains risques pour les utilisateurs, les amphibiens et le milieu aquatique. Toutefois, le GTCSH mentionne que l'eau de Javel se dégrade relativement vite et présente un risque moindre pour l'environnement que d'autres désinfectants (GTCSH, 2017). Une immersion dans une solution d'eau de Javel relativement diluée (1 partie d'eau de Javel dans 19 parties d'eau, p. ex., 50 ml dans 950 ml) suffit pour neutraliser la chytridiomycose causée par *Batrachochytrium dendrobatidis*, les ranavirus et la maladie fongique du serpent causée par le champignon *Ophidiomyces ophiodiicola* (GTCSH, 2017). L'eau de Javel diluée doit être appliquée pendant au moins 15 minutes, et son utilisation doit se faire aussi loin que possible du milieu aquatique (Dejean et coll., 2007; GTCSH, 2017).

Matériel requis

Le matériel suivant est requis pour bien décontaminer les éléments utilisés durant un inventaire en milieu aquatique (GTCSH, 2017; figure 5) :

- Agent de blanchiment domestique commercial : p. ex., eau de Javel Clorox^{MD} (ingrédient actif : hypochlorite de sodium 4 % à 6 %);
- Savon biodégradable;
- Grand seau, sac ou bac pouvant contenir environ 25 L d'eau (p. ex., bacs Rubbermaid^{MD});
- Seau ou contenant doté d'un couvercle étanche;
- Contenant d'eau du robinet;
- Flacons pulvérisateurs;
- Brosses à récurer;
- Gants à usage unique;
- Lunettes de sécurité.



Source : GTCSH (2017).

Véhicules

Les véhicules terrestres ne semblent pas être des vecteurs de transmission reconnus d'agents infectieux. Cependant, un nettoyage régulier est une précaution souhaitable. La désinfection de l'équipement et son rangement dans des bacs (eux-mêmes régulièrement désinfectés) dans le véhicule permettent de limiter les risques de contamination croisée secondaire.

Les véhicules tout-terrain (VTT) qui ont été en contact avec le milieu aquatique, ainsi que le matériel en contact avec l'eau (p. ex., bottes), devraient faire l'objet d'une désinfection (lavage à l'eau, puis en fonction de leur taille, trempage, lessivage ou pulvérisation de solution désinfectante) et d'un séchage à l'air libre (Dejean et coll., 2007; MFFP, 2018b). Une visite au lave-auto est une autre option préconisée.

Protocole standardisé d'inventaire des nids de la salamandre à quatre orteils au Québec

Méthodologie

Une procédure abrégée est présentée à l'annexe A. Un modèle de la qualité de l'habitat (MQH) a été développé pour planifier les inventaires de salamandre à quatre orteils (Gallagher-Duval et coll., 2022).

Recherche active

Il est très difficile d'observer la salamandre à quatre orteils, car elle est surtout active la nuit. La technique utilisée pour sa détection est la recherche active des nids au printemps dans les habitats préférentiels (figure 6).



Crédit : © ELISO

Figure 6. Recherche active de nids de salamandre à quatre orteils dans la sphaigne

Pour trouver les nids, il suffit d'écarter délicatement la mousse des monticules avec le bout des doigts. Cette opération doit être réalisée avec précaution pour éviter, dans la mesure du possible, de détruire l'habitat. Les œufs et la femelle (généralement présente) sont près de la surface (figure 7). Il arrive que des nids communautaires soient observés. Il faut se rappeler que les larves devront glisser de la mousse jusqu'à l'eau. La recherche doit donc se faire dans les monticules de mousse qui surplombent l'eau. Il est important de bien refermer la mousse qui a été écartée afin d'éviter que les œufs et la femelle soient exposés au soleil et que la mousse perde son humidité.



Crédit : © ELISO

Figure 7. Grappe d'œufs dans un nid de salamandre à quatre orteils, près de la surface de la sphaigne

Si le nombre de nids doit être compté durant l'inventaire, il est recommandé d'utiliser du ruban de couleur pour marquer l'emplacement des nids afin d'éviter leur recomptage. Ce ruban devra alors être retiré à la fin de l'inventaire.

Matériel

Le matériel suivant est nécessaire au bon déroulement de l'inventaire des nids de la salamandre à quatre orteils, sans toutefois s'y limiter :

- Contenant avec de l'eau propre sans chlore;
- Petite épuisette à poisson d'aquarium;
- Sacs Ziploc^{MD};
- Contenants de verre ou de plastique transparent;
- Gants à usage unique sans talc (optionnel);
- Thermomètre;
- pH-mètre;
- GPS et piles de rechange;
- Appareil photo;
- Procédure abrégée du protocole;
- Formulaire de prise de données (papier ou électronique [cellulaire ou tablette]);
- Étiquette en papier à l'épreuve de l'eau et crayons de plomb;
- Guide d'identification;
- Loupe;
- Matériel de désinfection de l'équipement et de lavage des mains;
- Une copie du permis SEG délivré par le Ministère.

Période d'inventaire

Les inventaires devront être réalisés pendant la période de nidification de la salamandre à quatre orteils au mois de mai, de préférence du 15 au 31 mai. Cet intervalle de deux semaines peut varier en fonction du type de printemps, hâtif ou tardif. Après cette période, les œufs seront éclos et les femelles auront entamé leur retour en milieu terrestre dans les forêts, ce qui rend leur détection très ardue.

Effort

L'espèce atteint généralement une bonne densité dans les zones où les monticules de mousse et le niveau de l'eau sont propices. L'effort de recherche active par hectare doit être adapté à l'abondance des abris dans l'habitat et à la superficie du terrain à inventorier, soit :

- de 1 à 2 h/ha pour les terrains de moins de 8 ha;
- de 0,5 h/ha pour les terrains de plus de 8 ha.

Afin d'éviter de stresser inutilement les salamandres et de perturber leur habitat, une seule visite est nécessaire si des salamandres à quatre orteils sont observées. Toutefois, si aucune salamandre ou aucun nid ne sont vus, une ou deux autres visites sur les sites sont nécessaires au cours du mois de mai, pour un maximum de trois visites. Selon les objectifs de l'étude, l'inventaire peut cesser dès que la salamandre à quatre orteils est observée.

Choix des stations d'inventaire

Une station d'inventaire comprend la totalité des berges du milieu humide visité. Afin de standardiser l'effort d'inventaire, la recherche active est réalisée dans l'habitat propice à la salamandre à quatre orteils : étangs, temporaires ou permanents, avec des berges couvertes de sphaignes et d'herbe, en milieu forestier.

Capture et manipulation des individus

Au moment de manipuler la salamandre à quatre orteils, les personnes doivent privilégier les méthodes rapides et efficaces en saisissant l'animal par le corps, en évitant de le soulever par la queue. De cette manière, on évite que la salamandre ait recours à l'autotomie (mode de défense consistant à détacher la queue pour distraire le prédateur et permettre la fuite) et perde ainsi ses réserves énergétiques. Les personnes doivent avoir les mains propres et humides, sans insectifuge, crème solaire, parfum, lotion ou autre substance potentiellement toxique ou enfiler des gants à usage unique comme recommandé par le Conseil canadien de protection des animaux (CCPA, 2004). Les gants ne doivent pas contenir de talc et il faut les humidifier avant de manipuler les salamandres.

Les salamandres capturées doivent toujours être conservées dans un environnement humide et frais, de préférence à l'ombre pour une durée maximale de 10 minutes. Les captures non identifiables rapidement peuvent être maintenues temporairement dans un sac de plastique contenant de l'eau et de l'air (CCPA, 2004). Il est recommandé d'utiliser des sacs de plastique (de type Ziploc^{MD}) contenant idéalement l'eau du milieu humide. Les sacs devront être décontaminés adéquatement entre chaque utilisation, tout comme le reste du matériel entrant en contact direct ou indirect avec les salamandres et leur milieu, si l'on désire les réutiliser sur un autre site. La propagation de maladies telles que la chytridiomycose des salamandres est ainsi évitée (voir la section « Limites et mises en garde »). Tous les spécimens sont relâchés à l'endroit même de leur capture.

Identification

L'identification des salamandres à quatre orteils doit être faite par une personne ayant la formation ou l'expérience de terrain suffisante à leur identification précise, surtout en bordure de l'aire de répartition connue (figure 3).

Les spécimens doivent être correctement identifiés par un examen attentif et, si possible, sous un bon éclairage. L'utilisation d'une loupe et d'une lampe frontale est suggérée. Les salamandres sont identifiées à l'aide de critères morphologiques externes (Rodrigue et Desroches, 2018). La salamandre à quatre orteils s'identifie facilement grâce à son ventre blanc parsemé de taches noires bien définies (figure 4B). Elle possède également une constriction importante à la base de la queue qui lui permet de la détacher (figure 4A). Son dos et ses membres sont rougeâtres (figure 8). Comme son nom l'indique, elle possède quatre orteils. Il peut toutefois être difficile de les compter en raison de sa petite taille et l'identification d'un spécimen devrait plutôt reposer sur les critères mentionnés précédemment (Rodrigue et Desroches, 2018).



Crédit : © ELISO

Figure 8. Coloration dorsale de la salamandre à quatre orteils adulte

Des photos doivent être prises sous différents angles, avec une étiquette indiquant la station, la date et le numéro de spécimen, pour les présenter à d'autres experts afin de déterminer l'espèce. Une confirmation de l'identification par les experts du Ministère est souhaitable dans ces cas particuliers.

Prise de données

Durant l'inventaire, les données suivantes doivent être notées sur le formulaire de prise de données (annexe B) :

- Nom du site;
- Date;
- Nom des observateurs et leur affiliation;
- Temps de recherche (heure de début et de fin);
- Température de l'eau;
- pH de l'eau;
- Type de couvert forestier (feuillus, mixte, résineux);
- Type de milieux humides (étang, marécage, tourbière);
- Abondance de sphaigne;
- Couvert nuageux (0-25 %, 25-50 %, 50-75 %, 75-100 %);
- Précipitations;
- Menaces;
- Code de l'espèce capturée ou vue (tableau 4);
- Nombre de nids potentiels fouillés;
- Conditions hydrologiques (pluies moins de 48 heures, sécheresse);
- Coordonnées géographiques (degrés décimaux NAD 83) si une espèce menacée, vulnérable ou susceptible d'être désignée (EMVS) a été repérée;
- Signes de maladie;
- Numéro des photographies.

Si aucune salamandre n'est trouvée, cette information doit apparaître sur le formulaire de terrain (donnée zéro), et une photo du site est requise. Ces données permettront d'évaluer l'effort de recherche et l'habitat inventorié. L'absence de salamandres dans le milieu inventorié doit être mentionnée sur la feuille de terrain. Les salamandres ayant échappé à la capture doivent également être notées. Si une identification fiable a été faite, il faut indiquer l'espèce. Cependant, dans les cas douteux, il faut toujours indiquer la mention « sp. » pour « indéterminée ».

Tableau 4. Codes d'identification des urodèles du Québec

Espèce	Code
Necture tacheté	NEMA
Salamandre à deux lignes	EUBI
Salamandre à points bleus	AMLA
Salamandre à quatre orteils	HESC
Salamandre cendrée	PLCI
Salamandre maculée	AMMA
Salamandre pourpre	GYPO
Salamandre sombre des montagnes	DEOC
Salamandre sombre du Nord	DEFU
Triton vert (elfe rouge)	NOVI

1 : Le code est composé des deux premières lettres de chaque mot du nom scientifique de l'espèce.

Protocole standardisé d'inventaire de la salamandre à quatre orteils à l'aide de l'ADNe au Québec

Méthodologie

Une procédure abrégée d'échantillonnage de l'eau est présentée à l'annexe C.

Matériel

Le matériel requis pour échantillonner l'eau est le suivant :

- Boîtier antichoc pour protéger et transporter la pompe pour la filtration;
- Pompe utilitaire portative (p. ex., ECOFLO, 350 gal/h, 12 V CC [Modèle n° PUP61DC]);
- Batterie 12 V rechargeable;
- Cylindre gradué de 2 L ou contenant gradué;
- Paquets de filtration ADNe stériles. Les sachets contiennent un porte-filtre avec filtre de 1 micron, un bout de tubulure pour échantillonner avec un préfiltre de 200 microns installé au bout avec un élastique (préalablement décontaminé) :
 - paquets à usage unique avec filtre autodessiccant,
 - paquets à usage unique (p. ex., de marque Smith-Root),
 - paquets réutilisables (c'est-à-dire porte-filtre désinfecté avec filtre, préfiltre installé au bout de la tubulure avec élastique et paire de pinces stériles);
- Tubulure d'échantillonnage de diamètre extérieur de 1/2" et de diamètre intérieur de 3/8" (1,23 cm × 1,9 cm) (p. ex., Waterra – LDPE – HDPE);
- Glacière pour conserver les échantillons (glacière électrique ou une glacière avec blocs réfrigérants de type Ice Packs^{MD});
- Gants en nitrile à usage unique;
- Bouteilles de 2 L;
- Eau distillée;
- Virkon^{MD} Aquatic (solution de 2 %);
- Sacs Whirl-Pak^{MD} (4 oz);
- Billes de silice
- Filtre de nylon (160 µm; Dulytek^{MD}; 200 po × 2 po) (environ 5 cm de long) préalablement coupé;
- Contenant hermétique (p. ex., Tupperware^{MD}) pour y déposer les sacs Whirl-Pak^{MD};
- Sacs de poubelle;
- Thermomètre (°C);
- Procédure abrégée;
- Formulaire de terrain et le nécessaire pour prendre des notes;
- GPS avec stations d'échantillonnage préalablement téléchargées;
- Perche avec porte-bouteille.

Période d'échantillonnage

Il est recommandé de réaliser l'échantillonnage après l'éclosion des œufs, lorsque les larves glissent dans l'eau de l'étang, soit du 15 mai au 15 juin.

Effort d'échantillonnage et nombre d'échantillons

Il est proposé de prélever les échantillons d'eau selon une grille d'échantillonnage, en fonction des spécifications suivantes :

- 1 échantillon d'eau par 400 m² (parcelle de 20 m × 20 m). Choisir la cuvette qui semble offrir le meilleur potentiel quant au nombre de larves (cuvette avec de l'eau et des boutons de sphaigne entourant la cuvette);
- 10 échantillons au minimum par habitat de reproduction. Si l'habitat de reproduction est petit, il se peut que la densité d'échantillons soit plus élevée que 1 échantillon/400 m².

Localisation fine des sites d'échantillonnage

L'idée est d'augmenter la probabilité de récolter l'eau à proximité d'une salamandre à quatre orteils non visible. L'hypothèse est que plus l'échantillonnage est réalisé près d'une salamandre, plus il y a de chance de capter une molécule d'ADN de l'animal. La localisation des sites où sont prélevés les échantillons d'eau doit donc tenir compte des préférences d'habitats de l'espèce. Il est ainsi préférable de prélever l'eau près des berges abruptes surplombées d'un amoncellement de mousse de sphaigne (figure 4A).

Volume d'eau à échantillonner

Le volume minimal d'eau à échantillonner à chacune des stations est de **2 L**.

Préparation du matériel avant les travaux sur le terrain

Paquets stériles à usage unique

Avant d'aller sur le terrain, préparer autant de paquets à usage unique que de stations d'échantillonnage prévues. Pour une filtration à l'aide d'un paquet à usage unique, les éléments suivants doivent être préparés :

- 1) Préparer les paquets stériles à usage unique (p. ex., Smith-Root). Si vous utilisez des filtres autodessiccants (Thomas et coll., 2019; figure 9), sautez l'étape 2;
- 2) Un filtre doit être inséré dans chaque porte-filtre. Cette manipulation doit être effectuée avec des gants à usage unique;
- 3) Couper une longueur d'environ 3 à 4 po (7,6 à 10,1 cm) d'une tubulure d'échantillonnage 1/2" × 3/8" (1,23 cm × 0,95 cm) pour chaque station d'échantillonnage. Les outils de découpe doivent être stérilisés;
- 4) Une fois les morceaux de tubulure coupés et stérilisés, insérer un bout de tubulure dans chacun des paquets. Le bout de tubulure peut être mis directement dans le paquet (figure 10).



Figure 9. Paquet de filtration ADNe stérile avec filtre autodessiccant intégré

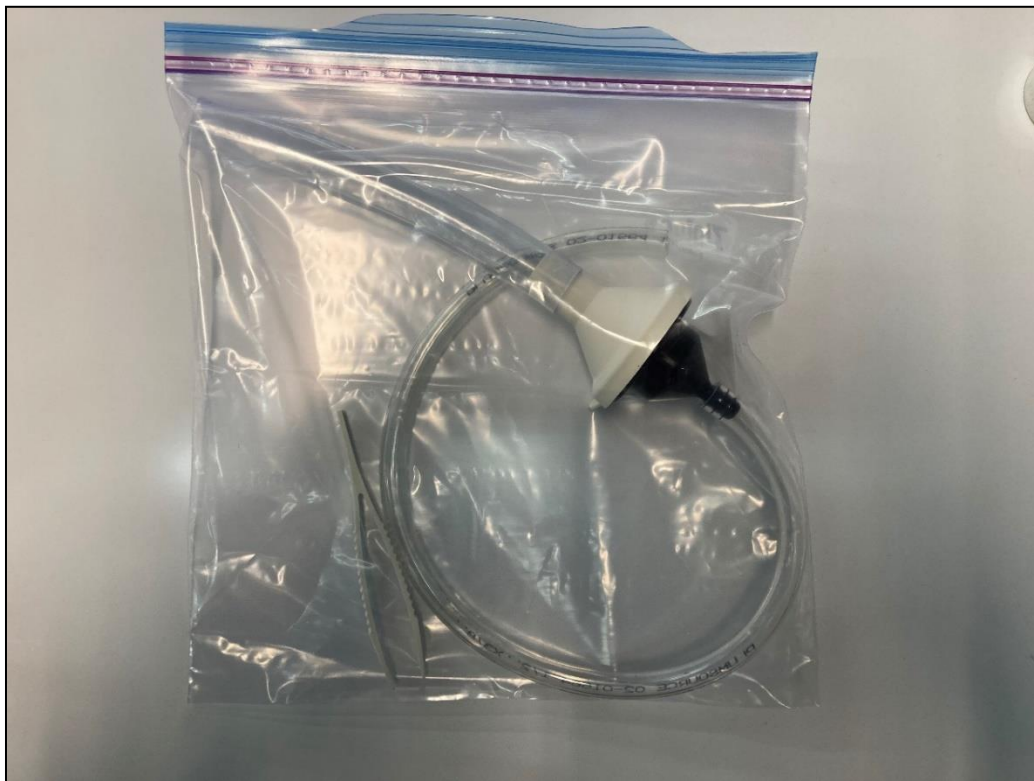


Figure 10. Paquet de filtration ADNe stérile à usage unique de marque Smith-Root

Paquets réutilisables

Avant d'aller sur le terrain, préparer autant de paquets réutilisables que de stations d'échantillonnage prévues. Pour une filtration à l'aide d'un paquet réutilisable, les éléments suivants doivent être préparés :

- 1) Préparer les paquets avec les porte-filtres réutilisables;
- 2) Un filtre doit être inséré dans chaque porte-filtre réutilisable. Cette manipulation doit être effectuée avec des gants à usage unique;
- 3) Couper une longueur d'environ 3 à 4 po (7,6 à 10,1 cm) d'une tubulure 1/2" × 3/8" (1,23 cm × 0,95 cm) pour chaque station d'échantillonnage;
- 4) Couper un bout d'environ 12 po (30,5 cm) de tubulure de polyéthylène blanc 1/4" (0,6 cm) pour chaque station d'échantillonnage. Ce bout de tubulure doit être courbé dans l'eau chaude afin de faciliter l'utilisation sur le terrain. Le bout de tubulure sera fixé à un embout qui se visse au porte-filtre de 1/4" (0,6 cm);
- 5) Stériliser tous les morceaux du paquet : 15 minutes aux rayons ultra-violets ou avec une solution d'eau de Javel à 10 %. Les bouts de tubulure doivent être désinfectés à l'eau de Javel (10 %). Une fois tous les éléments stérilisés, le filtre peut être placé dans le porte-filtre, en y ajoutant une pince stérile et des gants à usage unique. Le paquet peut être préparé avec les deux bouts de tubulure, un porte-filtre, une pince stérile, le tout déposé dans un sac à fermeture glissière de type Ziploc^{MD} (figure 11). Chaque station d'échantillonnage doit avoir son propre paquet.

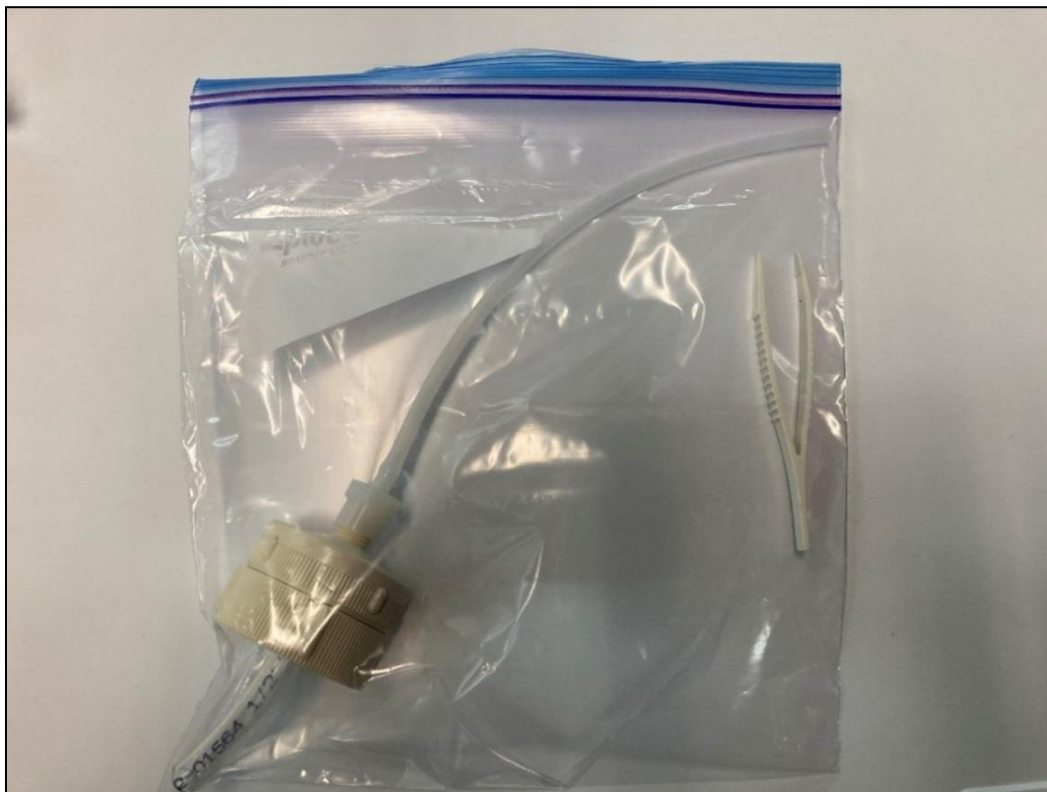


Figure 11. Paquet de filtration ADNe stérile réutilisable

Sacs de transport de filtre individuel

Pour les paquets avec filtre autodessiccant et ceux à usage unique, le porte-filtre est remis dans son sac et tous les sacs sont placés ensemble dans un grand sac Ziploc^{MD}.

Pour les paquets réutilisables : Avant d'aller sur le terrain, préparer autant de sacs de transport de filtre individuel que de stations d'échantillonnage prévues. Ces sacs de transport sont composés de sacs Whirl-Pak^{MD} (4 oz) avec un fond de billes de silice contenant un filtre de nylon d'environ 5 cm de long préalablement coupé (160 µm; Dulytek^{MD}; 200 po × 2 po).

Pompe

Au début de chaque journée, un peu d'huile doit être mise dans l'entrée de la pompe (figure 12). La personne responsable de l'échantillonnage doit mettre la tubulure dans un contenant d'eau et faire fonctionner la pompe pendant **30 secondes** pour faire circuler l'huile dans celle-ci.



Figure 12. Préparation de la pompe avec l'ajout d'huile

Échantillonnage et filtration

La procédure abrégée de l'échantillonnage d'eau pour l'extraction de l'ADNe est présentée à l'annexe C.

Notes importantes

Note importante n° 1

Lorsqu'il y a eu de fortes précipitations dans les 48 heures précédant l'échantillonnage (plus de 40 mm en 24 heures), il faut déterminer si la sortie aura lieu. La probabilité de détection étant meilleure plus le nombre de jours sans précipitation est grand (Akre et coll., 2019).

Note importante n° 2

Il faut éviter d'échantillonner l'eau près d'un lieu de regroupement d'oiseaux. Les oiseaux peuvent être des vecteurs de différentes sources d'ADNe.

Note importante n° 3

Pour éviter la contamination, l'équipement utilisé (impermeables, contenants, etc.) doit, idéalement, servir uniquement aux projets d'ADNe.

Procédure d'échantillonnage

Pour s'assurer d'un échantillonnage réussi, les étapes suivantes doivent être respectées :

1. L'équipe sur le terrain devra être composée d'au moins deux personnes;
2. L'échantillonnage devrait toujours être exécuté de manière à ne pas augmenter la turbidité de l'eau (MFFP, 2021c). L'ADNe peut être conservé dans les sédiments pendant très longtemps (Buxton et coll., 2018), donc le signal pourrait en être faussé et créer un faux positif;
3. Pour une filtration sur le terrain, il faut préparer la pompe. Une fois sur le site, l'échantillonneur doit ouvrir le boîtier de la pompe et s'assurer qu'elle est bien préparée. Au début de chaque journée, avant de fixer la tubulure, un peu d'huile devra être versée dans l'entrée de la pompe (figure 12). Il faut alors fixer la tubulure et activer la pompe pendant **30 secondes** pour que l'huile circule à l'intérieur. Pendant cette manipulation, l'échantillonneur devra mettre la tubulure dans un contenant d'eau pour éviter que la pompe aspire de l'air, ce qui pourrait endommager son moteur;
4. Avant de commencer l'échantillonnage, il faut faire tourner le moteur de la pompe avec de l'eau distillée ou de l'eau du milieu à échantillonner. Il s'agit de prendre l'eau sans aucun porte-filtre avec la tubulure qui se trouve en amont du porte-filtre;
5. L'échantillonneur doit mettre des gants à usage unique et peut ensuite fixer la bouteille stérile (neuve ou stérilisée) de 2 L au porte-bouteille (perche d'au moins 2 m de longueur; figure 13), sans toucher au manche (manche manipulé par l'aide-échantillonneur);
6. La bouteille peut maintenant être plongée dans l'eau à l'aide de la perche manipulée par l'aide-échantillonneur. L'eau doit être collectée à une profondeur maximale de 1 m. Si le fond se trouve à moins de 1 m, il faut faire attention de ne pas toucher le fond avec le système d'échantillonnage (perche et bouteille). Cela remet en suspension les sédiments et pourrait fausser le résultat;
7. Effectuer les étapes 4 à 6 pour chacune des stations d'échantillonnage.

LES GANTS À USAGE UNIQUE DOIVENT ÊTRE CHANGÉS ENTRE CHAQUE STATION D'ÉCHANTILLONNAGE S'ILS ONT ÉTÉ EN CONTACT AVEC LA POMPE OU TOUT AUTRE MATÉRIEL QUI EST UTILISÉ D'UN SITE À UN AUTRE SANS POUVOIR ÊTRE DÉSINFECTÉS « TOTALEMENT ».

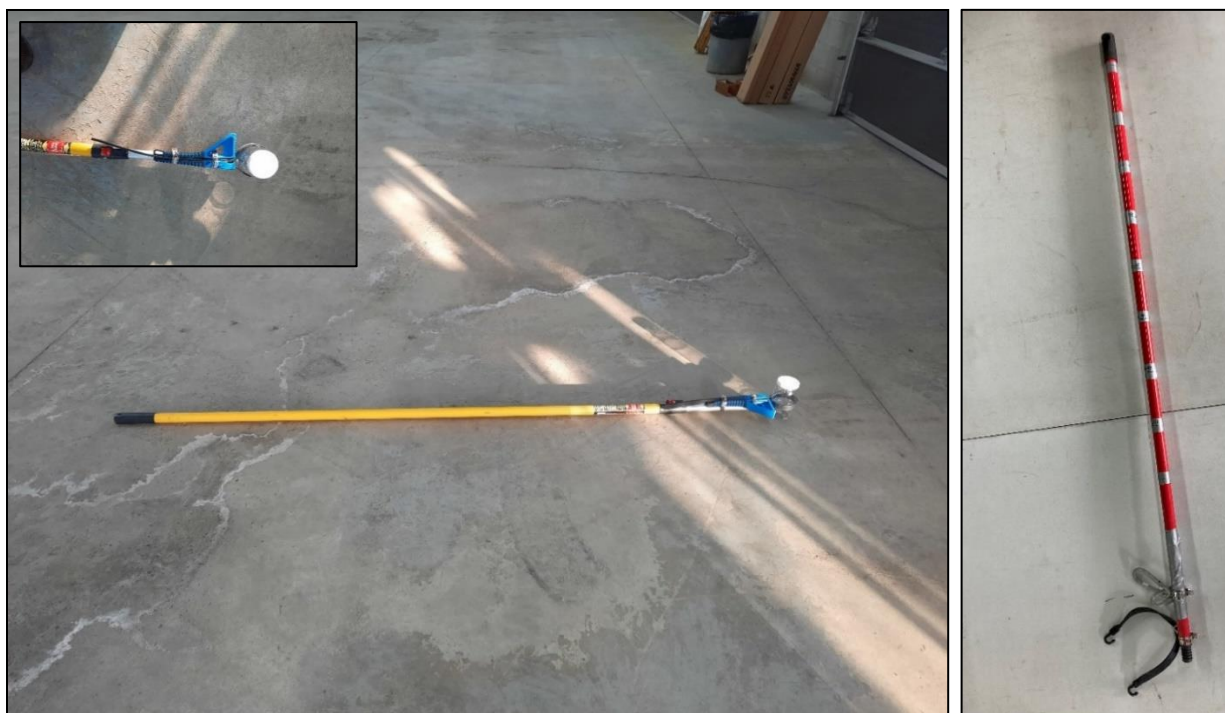


Figure 13. Exemples de perche avec porte-bouteille

Procédure de filtration

La procédure de filtration qui suit peut être exécutée sur le terrain ou au laboratoire. Pour une filtration au laboratoire, il faut que les échantillons soient transportés dans des glacières permettant de les garder au froid, et ce, même si la filtration se fait dans la même journée. Dans ce cas, des blancs de procédure (blancs de transport ou blancs de glacière) doivent être inclus dans la procédure d'échantillonnage (voir MFFP, 2021c).

1. L'échantillonneur doit ouvrir un paquet Smith-Root, ou réutilisable, ou un paquet avec filtre autodessicant, pour sortir le porte-filtre et les deux tubulures. La tubulure 1/2" × 3/8" doit être fixée sur le bout du porte-filtre qui se connecte à la pompe (figures 14A et 14B).
2. La plus grande tubulure est insérée dans la bouteille d'eau collectée. Ensuite, la tubulure de sortie de la pompe doit être mise dans un cylindre gradué (ou contenant gradué). Ce dernier doit se trouver plus bas que la pompe (figure 14C). La pompe peut maintenant être démarrée par l'aide-échantillonneur.
3. L'échantillonneur doit filtrer un maximum de 2 L d'eau. Lorsque la pompe présente une résistance au pompage, souvent dans les eaux troubles où les filtres peuvent se saturer plus vite, il est important d'arrêter la filtration avant que le filtre ne se brise (de 1 L à 1,5 L). Il est important de noter le volume exact d'eau filtrée dans le cylindre gradué (figure 14C).
4. Si vous utilisez un porte-filtre avec filtre autodessicant, retirez les tubulures du porte-filtre et remettez le porte-filtre dans son sac de plastique, passez au point 8.

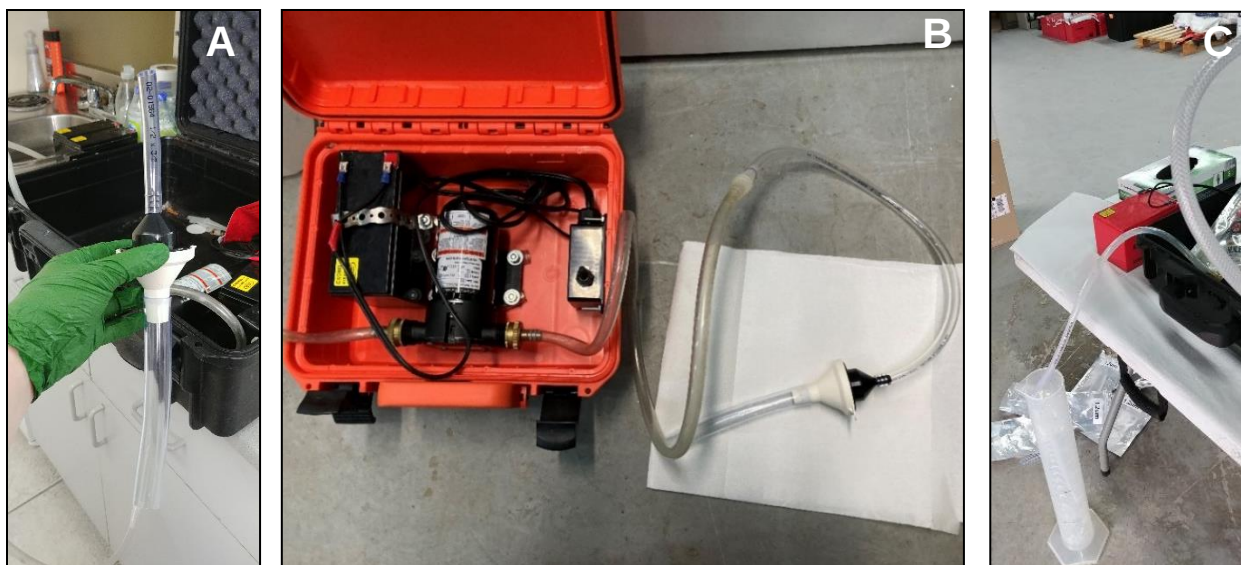


Figure 14. A) Installation du porte-filtre. B) Installation pour la filtration d'un échantillon d'eau. C) Cylindre gradué positionné en contrebas de la pompe

5. Ensuite, l'échantillonneur doit :

- Sortir un sac Whirl-PAK^{MD} contenant des billes de silice et inscrire le numéro de la station au crayon permanent;
- Prendre la pince dans le sachet stérile (en s'assurant de ne pas toucher les bouts de la pince) (figure 15A);
- Ouvrir le porte-filtre;
- Enlever délicatement le filtre du porte-filtre avec la pince;
- Plier le filtre avec la pince, idéalement deux fois (en s'assurant que les particules filtrées sont à l'intérieur) (figure 15B);
- Mettre le filtre plié dans la pochette de Nylon Dulytek^{MD} (préalablement mis dans un sac Whirl-PAK^{MD}) avec un fond de billes de silice (figure 15C);
- Toujours avec la pince, pousser la pochette de nylon (contenant le filtre) au fond du sac de silice;
- Enlever le plus d'air possible du sac, replier le rebord sur lui-même et fermer le sac à l'aide des languettes jaunes.

NE PAS TOUCHER LE FILTRE NI L'INTÉRIEUR DE LA POCHETTE DE NYLON!

6. Mettre le sac Whirl-PAK^{MD} dans un contenant hermétique et déposer ce dernier dans la glacière.
7. Répéter les étapes 1 à 6 pour toutes les stations à échantillonner.
8. Pour chaque étang échantillonné, un blanc d'échantillonnage doit être fait :
 - a. Pour le blanc d'échantillonnage, de l'eau distillée est versée dans une bouteille de 2 L neuve (comme celle ayant servi à la collecte des autres échantillons) et cette eau doit être filtrée selon la même méthode et la même séquence qui a été appliquée à la collecte des échantillons au site.

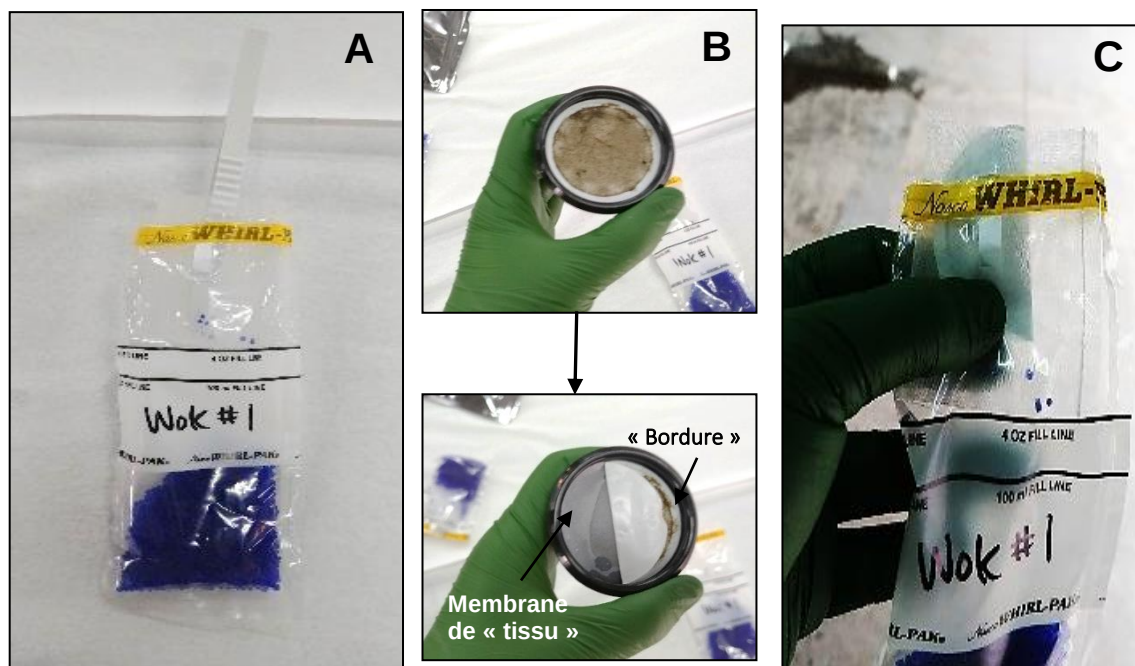


Figure 15. A) Sac Whirl-PAKMC avec des billes de silice. B) Retrait et pliage du filtre avec une pince. C) Insertion du filtre dans une pochette de nylon, dans le sac Whirl-PAKMC

LES SACS WHIRL-PAK^{MD} CONTENANT LES FILTRES DOIVENT TOUJOURS ÊTRE CONSERVÉS AU FROID (4 °C) SUR LE TERRAIN.

LES SACS CONTENANT LES PORTE-FILTRES AVEC FILTRE AUTODESSICCANT PEUVENT ÊTRE CONSERVÉS À TEMPÉRATURE AMBIANTE EN ATTENDANT L'ENVOI AU LABORATOIRE D'ANALYSE.

9. L'aide-échantillonneur effectue les tâches suivantes :
 - a. Prendre les notes de terrain;
 - b. Prendre la température de l'eau avec le thermomètre;
 - c. Prendre le pH de l'eau avec le pH-mètre;
 - d. Décrire la végétation (couvert forestier dominant sur les rives, présence d'algues et de plantes aquatiques).

Conservation des échantillons filtrés au laboratoire (filtres)

Au laboratoire, les filtres doivent être conservés au congélateur à -20 °C pour au plus 12 mois. Dans le cas des paquets à usage unique avec filtres autodessiccants, c'est au laboratoire que les filtres sont séparés des porte-filtres.

Dans le cas d'utilisation des ensembles de filtration stérile avec filtre autodessiccant intégré, il est primordial qu'il ne reste plus d'eau dans le porte-filtre.

Désinfection du matériel post-échantillonnage

La désinfection du matériel doit se faire entre chaque milieu humide échantillonné.

Notes importantes

Note importante n° 4

Si vous utilisez le Virkon^{MD} Aquatic, la solution de 2 % peut être conservée pendant une semaine (la coloration diminue avec le temps; si la solution n'est plus rose, vous devez en refaire). L'eau de Javel³ est une option valable pour remplacer le Virkon^{MD} Aquatic.

Note importante n° 5

Si aucun de ces produits de rinçage n'est disponible, rincer abondamment le matériel avec de l'eau du robinet à la plus forte pression possible. Désinfecter le matériel dès que possible.

Note importante n° 6

En vue d'éviter la propagation des maladies et des espèces exotiques envahissantes, les précautions particulières décrites dans le *Protocole standardisé des procédures de stérilisation et d'échantillonnage d'eau afin de déterminer la présence d'espèces fauniques dans les milieux hydriques par analyses d'ADNe au Québec* (MFFP, 2021c) doivent être prises avant d'appliquer la procédure de désinfection pour l'ADNe.

Matériel

Les éléments requis pour désinfecter le matériel d'échantillonnage après les travaux sur le terrain sont les suivants :

- Virkon^{MD} Aquatic (en poudre; solution de 2 % : 20 g/L) ou une solution d'eau de Javel à 20 % (une partie d'eau de Javel dans quatre parties d'eau; p. ex., 200 ml d'eau de Javel dans 800 ml d'eau);
- Masque anti-poussière;
- Eau du robinet;
- Eau distillée;
- Pulvérisateur;
- Bacs avec couvercles (pour conserver les vêtements stériles).

Procédure de désinfection

Entre chaque milieu humide, il faut procéder à la désinfection de tout le matériel. Le rinçage du matériel n'a pas besoin d'être fait à l'eau distillée, il peut être fait à l'eau du robinet. Cependant, si vous rincez de l'équipement qui entre directement en contact avec l'ADNe, celui-ci doit être rincé à l'eau distillée. Voici la procédure :

1. Préparer une solution de 2 % de Virkon^{MD} Aquatic ou une solution d'eau de Javel de 20 % et la verser dans un pulvérisateur. Pour peser et préparer la solution de Virkon^{MD} Aquatic, un masque anti-poussière doit être porté.
 - a. Les imperméables et les bottes doivent être vaporisés :
 - i. Le temps d'attente est de 20 minutes pour le Virkon^{MD} Aquatic,
 - ii. Le temps d'attente est de 10 minutes pour la solution d'eau de Javel,
 - iii. Par la suite, le tout est rincé à l'eau.

³ Concentration d'hypochlorite de sodium variant de 3 à 6 %, en vente libre dans les commerces.

Exigences et transfert des données, des échantillons et du matériel utilisé

Permis SEG

Se référer aux exigences formulées par la DGFA se trouvant sur le permis.

Les données doivent être saisies dans le format de fichier BORAQ tel qu'il est fourni avec le permis SEG. Les données seront transférées dans BORAQ par le Ministère et les données d'observation des espèces en situation précaire seront transmises au CDPNQ. Les autres données collectées, telles que l'effort d'inventaire avec le nombre de nids potentiels fouillés, le temps investi, etc., devront être fournies dans un rapport.

Norme à respecter pour les documents traitant de l'ADNe

Tous les documents produits doivent répondre à la norme nationale du Canada CSA W 214:21 (Groupe CSA, 2021).

Formulaire papier

Selon la méthode de détection choisie, toutes les données devront être inscrites sur les formulaires de prise de données suivants :

- 1- *Formulaire de prise de données — Inventaire de salamandres à quatre orteils — Recherche active de nids* (annexe B)
- 2- *Formulaire de prise de données — Échantillonnage de l'ADNe pour la détection de la salamandre à quatre orteils* (annexe D)

Il est important d'apporter ce formulaire sur le terrain et d'y inscrire directement les données de manière à s'assurer que toutes les informations sont notées.

Remplir toutes les sections du formulaire et, si possible, y joindre des photos. Inscrire « ND » ou faire un trait lorsque l'information n'est pas disponible.

Il est recommandé de faire une copie du formulaire papier ou de le prendre en photo par précaution après chaque journée passée sur le terrain.

Dans la mesure du possible, le Ministère demande la collaboration des consultants et de ses partenaires pour obtenir les résultats de détection par ADNe de la salamandre à quatre orteils (pour les coordonnées des différentes directions, consulter Gouvernement du Québec, 2022a).

Formulaire électronique

Des formulaires électroniques sont fournis, sur demande, par le Ministère aux personnes détenant un compte ArcGIS Online. Cette option est encouragée, puisqu'elle accélère le traitement et la diffusion de l'information.

Échantillons pour l'analyse d'ADNe

Dans le cas des analyses effectuées par le MELCCFP et ses partenaires, les filtres contenus dans les sacs Whirl-Pak^{MD} et les sacs contenant les porte-filtres à usage unique avec filtres autodessiccants doivent être acheminés à l'adresse suivante :

Anne-Marie Béland, responsable des analyses d'ADNe pour l'herpétofaune
Service de la conservation de la biodiversité et des milieux humides
Division de la biodiversité
Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs
880, chemin Sainte-Foy, 2.00
Québec (Québec) G1S 4X4

Pour les consultants, les échantillons d'eau doivent être acheminés à un laboratoire privé ou universitaire spécialisé dans les analyses d'ADNe. Il est important de suivre les indications et les procédures des différents laboratoires pour s'assurer de la validité des résultats.

Élimination du matériel en plastique souillé

Pour les travaux du Ministère seulement, le matériel requis pour le prélèvement et la filtration des échantillons d'eau (p. ex., gants à usage unique, bouteilles, porte-filtres, filtres, etc.) est fourni par le Service de la conservation de la biodiversité et des milieux humides (SCBMH). Veuillez contacter la responsable des analyses d'ADNe pour l'herpétofaune pour obtenir de plus amples détails.

Dans une optique de développement durable, le bureau de Québec du Ministère offre également à ses collègues le service d'élimination du matériel plastique souillé. Cette gestion se fait par l'entremise d'un service de recyclage offert par une entreprise privée spécialisée dans le domaine. Pour en bénéficier, il suffit de retourner tout le matériel souillé, y compris les gants à usage unique, à la responsable des analyses d'ADNe pour l'herpétofaune.

Pour les consultants et les partenaires, il faut se renseigner auprès des fournisseurs d'équipement d'échantillonnage d'ADNe pour connaître les modalités d'élimination offertes.

Espèces exotiques envahissantes

Si des EEE sont détectées durant l'échantillonnage, il est fortement recommandé de rapporter ces observations au moyen de l'outil de détection du ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC, 2020) : Sentinelle.

Sentinelle est un outil de détection des EEE composé d'une application mobile et d'un système cartographique accessible sur le Web. Cet outil de détection permet de faire des rapports sur les plantes et des animaux exotiques envahissants les plus préoccupants et de les consulter. Le rapport se fait directement en ligne ou au moyen de l'application mobile (MELCC, 2020).

Références

- AKRE, T. S., L. D. PARKER, E. RUTHER, J. E. MALDONADO, L. LEMMON et N. R. McINERNEY (2019). "Concurrent visual encounter sampling validates eDNA selectivity and sensitivity for the endangered wood turtle (*Glyptemys insculpta*)", *PLoS ONE*, 14 (4): e0215586.
- ANDRUSZKIEWICZ, E. A., L. M. SASSOUBRE et A. B. BOEHM (2017). "Persistence of marine fish environmental DNA and the influence of sunlight", *PLoS One*, 12 (9): 1-19.
- BAILEY, L. L. (2002). *Estimating detection probabilities for terrestrial salamanders in Great Smoky Mountains National Park*, thèse de doctorat, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, 148 p.
- BAILEY, L. L., T. R. SIMONS et K. H. POLLOCK (2004a). "Estimating site occupancy and species detection probability parameters for terrestrial salamanders", *Ecological Applications*, 14 (3): 692-702.
- BAILEY, L. L., T. R. SIMONS et K. H. POLLOCK (2004b). "Estimating detection probability parameters for *Plethodon* salamanders using the robust capture-recapture design", *Journal of Wildlife Management*, 68 (1): 1-13.
- BAILEY, L. L., W. L. KENDALL, D. R. CHURCH et H. M. WILBUR (2004c). "Estimating survival and breeding probability for pond-breeding amphibians: a modified robust design", *Ecology*, 85: 2456-2466.
- BARATA, I. M., R. A. GRIFFITHS et M. S. RIDOUT (2017). "The power of monitoring: optimizing survey designs to detect occupancy changes in a rare amphibian population", *Scientific Reports*, 7: 16491.
- BARNES, M. A., C. R. TURNER, C. L. JERDE, M. A. RENSHAW, W. L. CHADDERTON et D. M. LODGE (2014). "Environmental conditions influence eDNA persistence in aquatic systems", *Environmental Science and Technology*, 48 (3): 1819-1827.
- BARR, G. E. et K. J. BABBITT (2001). "A comparison of 2 techniques to sample larval stream salamanders", *Wildlife Society Bulletin*, 29: 1238-1242.
- BOULINIER, T., J. D. NICHOLS, J. R. SAUER, J. E. HINES et K. H. POLLOCK (1998). "Estimating species richness: the importance of heterogeneity in species detectability", *Ecology*, 79: 1018-1028.
- BUXTON, A. S., J. J. GROOMBRIDGE et R. A. GRIFFITHS (2018). "Seasonal variation in environmental DNA detection in sediment and water samples", *PLoS ONE*, 13 (1): e0191737.
- CCPA (2004). *Recommandations du CCPA spécifiques aux espèces : les amphibiens et les reptiles*, Conseil canadien de protection des animaux, 31 p.
- CHALMERS, R. J. (2004). "Wetland and nest scale habitat use by the four-toed salamander (*Hemidactylium scutatum*) in Maine, and a comparison of survey methods", *Electronic Theses and Dissertations*, 379.
- CORSER, J. D. et C. K. DODD, Jr. (2004). "Fluctuations in a metapopulation of nesting four-toed salamanders in the Great Smoky Mountains National Park, USA, 1999-2003", *Natural Areas Journal*, 24 (2): 135-140.

- DEJEAN, T., C. MIAUD et M. OUELLET (2007). « Proposition d'un protocole d'hygiène pour réduire les risques de dissémination d'agents infectieux et parasitaires chez les amphibiens lors d'intervention sur le terrain », *Bulletin de la Société Herpétologique de France*, 122: 40-48.
- DEJEAN, T., A. VALENTINI, A., DUPARC, S. PELLIER-CUIT, F. POMPANON, P. TABERLET et C. MIAUD (2011). "Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems", *PLoS One*, 6 (8): 4-8.
- DiRENZO, G. V., A. V. LONGO, C. R. MULETZ-WOLZ, A. P. PESSIER, J. A. GOODHEART et K. R. LIPS (2021). "Plethodontid salamanders show variable disease dynamics in response to *Batrachochytrium salamandrivorans* chytridiomycosis", *Biological Invasions*, 23: 2797-2815.
- DODD JR, C. K. et R. M. DORAZIO (2004). "Using counts to simultaneously estimate abundance and detection probabilities in a salamander community", *Herpetologica*, 60 (4): 468-478.
- DUNKER, K. J., A. J. SEPULVEDA, R. L. MASSENGILL, J. B. OLSEN, O. L. RUSS, J. K. WENBURG et A. ANTONOVICH (2016). "Potential of environmental DNA to evaluate northern pike (*Esox lucius*) eradication efforts: An experimental test and case study", *PLoS One*, 11 (9): 1-21.
- GALLAGHER-DUVAL, X., M. VARIN et J. FINK (2022). *Développement d'un modèle de qualité d'habitat (MQH) pour la salamandre à quatre orteils (Hemidactylium scutatum) sur le territoire québécois*, Centre d'enseignement et de recherche en foresterie de Sainte-Foy inc. (CERFO), Rapport 2022-19, 22 p.
- GOUVERNEMENT DU QUÉBEC (2022a). *Réseau régional* [En ligne] [<https://www.quebec.ca/gouv/ministere/forets-faune-parcs/coordonnees-du-ministere/reseau-regional/#c13507>] (Consulté le 1^{er} novembre 2022).
- GOUVERNEMENT DU QUÉBEC (2022b). *Demande de permis SEG pour la capture d'animaux sauvages à des fins scientifiques, éducatives ou de gestion de la faune* [En ligne] [<https://mffp.gouv.qc.ca/le-ministere/permis-autorisations/permis-segf/>] (Consulté le 1^{er} novembre 2022).
- GROUPE CSA (2021). *CSA W 214 :21 – Exigences en matière de terminologie et de production de rapports sur l'ADN environnemental (ADNe)*, Norme nationale du Canada, Conseil canadien des normes, Association canadienne de normalisation, 27 p.
- GRAY, M. J., J. P. LEWIS, P. NANJAPPA, B. KLOCKE, F. PASMANS, A. MARTEL, C. STEPHEN, G. P. OLEA, S. A. SMITH, A. SACERDOTE-VELAT et M. R. CHRISTMAN (2015). "*Batrachochytrium salamandrivorans*: the North American response and a call for action", *PLoS Pathogens*, 11 (12): p.e1005251.
- GTCSH (2017). *Protocole de décontamination pour le travail sur le terrain avec les amphibiens et les reptiles au Canada*, 8 p. + annexe.
- HAMMERSON, G. A., D. SCHWEITZER, L. MASTER, J. CORDEIRO, A. TOMAINO, L. OLIVER et J. NICHOLS (2020). *Ranking species occurrences: A generic approach and decision key*, NatureServe, 16 p.
- HERNÁNDEZ-PACHECO, R., C. SUTHERLAND, L. M. THOMPSON et K. L. GRAYSON (2019). "Unexpected spatial population ecology of a widespread terrestrial salamander near its southern range edge", *Royal Society Open Science*, 6: 182192.
- HYDE, E. J. et T. R. SIMONS (2001). "Sampling plethodontid salamanders: Sources of variability", *Journal of Wildlife Management*, 65: 624-632.

- JENKINS, C. L., K. MCGARIGAL et L. R. GAMBLE (2002). "A comparison of aquatic surveying techniques used to sample *Ambystoma opacum* larvae", *Herpetological Review*, 33: 33-35.
- KAGANER, A. W., G. S. STAPLETON, E. M. BUNTING et M. P. HARE (2022). "Aquatic eDNA can advance monitoring of a small-bodied terrestrial salamander and amphibian pathogen", *Environmental DNA*, 00: 1-12.
- KROLL, A. J., K. RISENHOOVER, T. MCBRIDE, E. BEACH, B. J. KERNOHAN, J. LIGHT et J. BACH (2008). "Factors influencing stream occupancy and detection probability parameters of stream-associated amphibians in commercial forests of Oregon and Washington, USA", *Forest Ecology and Management*, 255 (11): 3726-3735.
- MACKENZIE, D. I., J. D. NICHOLS, G. B. LACHMAN, S. DROEGE, J. A. ROYLE et C. A. LANGTIMM (2002). "Estimating site occupancy rates when detection probabilities are less than one", *Ecology*, 83: 2248-2255.
- MAZEROLLE, M. J., L. L. BAILEY, W. L. KENDALL, J. A. ROYLE, S. J. CONVERSE et J. D. NICHOLS (2007). "Making great leaps forward: accounting for detectability in herpetological field studies", *Journal of Herpetology*, 41: 672-689.
- McGHEE, J. D. (2016). "Occupancy rates and detection probabilities of red-backed salamanders on the Virginia Fall Line", *Virginia Journal of Science*, 67 (1): 9-18.
- MELCC (2020). *Sentinelles*, ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques [En ligne] [<https://www.pub.enviroweb.gouv.qc.ca/scc/#no-back-button>] (Consulté le 1^{er} novembre 2022).
- MFFP (2018a). *Protocole d'inventaire des salamandres à quatre orteils au Québec*, ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Direction de la gestion de la faune de l'Estrie, de Montréal, de la Montérégie et de Laval, Secteur des opérations régionales, 12 p.
- MFFP (2018b). *Guide des bonnes pratiques en milieu aquatique dans le but de prévenir l'introduction et la propagation d'espèces aquatiques envahissantes*, gouvernement du Québec, ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, 32 p.
- MFFP (2021a). *Classification standardisée des menaces affectant la biodiversité — Définitions pour le Centre de données sur la conservation (CDC) du Québec v1.0*, ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, gouvernement du Québec, Québec, 26 p.
- MFFP (2021b). *Protocole standardisé d'inventaire des salamandres de ruisseaux au Québec*, gouvernement du Québec, ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Québec, 35 p. + annexes.
- MFFP (2021c). *Protocole standardisé des procédures de stérilisation et d'échantillonnage d'eau afin de déterminer la présence d'espèces fauniques dans les milieux hydriques par analyses d'ADNe au Québec*, gouvernement du Québec, Québec, 13 p.
- NEVERS, M. B., M. N. BYAPPANAHALLI, C. C. MORRIS, D. SHIVELY, K. PRZYBYLA-KELLY, A. M. SPOLJARIC, J. DICKEY et E. F. ROSEMAN (2018). "Environmental DNA (eDNA): A tool for quantifying the abundant but elusive round goby (*Neogobius melanostomus*)", *PLoS One*, 13 (1): e0191720.
- OTIS, D. L., K. P. BURNHAM, G. C. WHITE et D. R. ANDERSON (1978). "Statistical inference from capture data on closed animal populations", *Wildlife Monographs*, 62: 3-135.

- OUELLET, M. (2005). *Méthodes d'inventaire de la Salamandre à quatre orteils*, rapport présenté au Service canadien de la faune, 4 p.
- PETRANKA, J. W. (2010). *Salamanders of the United States and Canada*, Smithsonian Institution Press, Washington, 587 p.
- PIERSON, T. W., A. M. MCKEE, S. F. SPEAR, J. C. MAERZ, C. D. CAMP et T. C. GLENN (2016). Detection of an enigmatic Plethodontid salamander using environmental DNA, *Copeia*, 104 (1): 78-82.
- PLANTE, F., P. BOURGAULT, Y. DUBOIS et L. BERNATCHEZ (2021). "Environmental DNA as a detection and quantitative tool for stream-dwelling salamanders: A comparison with the traditional active search method", *Environmental DNA*, 00: 1-14.
- RICHGELS, K. L. D., R. E. RUSSELL, M. J. ADAMS, C. L. WHITE et E. H. C. GRANT (2016). "Spatial variation in risk and consequence of *Batrachochytrium salamandrivorans* introduction in the USA", *Royal Society Open Science*, 3: 150616.
- RODRIGUE, D. et J.-F. DESROCHES (2018). *Amphibiens et reptiles du Québec et des Maritimes*, Éditions Michel Quintin, Montréal, Québec, 376 p.
- SASSOUBRE, L. M., K. M. YAMAHARA, L. D. GARDNER, B. A. BLOCK et A. B. BOEHM (2016). "Quantification of environmental DNA (eDNA) shedding and decay rates for three marine fish", *Environmental Science and Technology*, 50 (19): 10456-10464.
- SCHMIDT, B. R. et J. PELLET (2009). "Quantifying abundance: counts, detection probabilities, and estimates" (p. 465-479), dans Dodd Jr, C. K. (éditeur). *Amphibian ecology and conservation*, Oxford University Press.
- STRICKLER, K. M., A. K. FREMIER et C. S. GOLDBERG (2015). "Quantifying effects of UV-B, temperature, and pH on eDNA degradation in aquatic microcosms", *Biological Conservation*, 183: 85-92.
- THOMAS, A. C., P. L. NGUYEN, J. HOWARD et C. S. GOLDBERG (2019). "A self-preserving, partially biodegradable eDNA filter", *Methods in Ecology and Evolution*, 10: 1136-1141.
- THOMSEN, P. F., J. KIELGAST, L. L. IVERSEN, C. WIUF, M. RASMUSSEN, M. T. P. GILBERT, L. ORLANDO et E. WILLERSLEV (2012). "Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA", *Molecular Ecology*, 21 (11): 2565-2573.
- WAHL, III, G. W., R. N. HARRIS et T. NELMS (2008). "Nest site selection and embryonic survival in four-toed salamanders, *Hemidactylium scutatum* (Caudata: Plethodontidae)", *Herpetologica*, 64 (1): 12-19.
- YAP, T. A., N. T. NGUYEN, M. SERR, A. SHEPACK et V. T. VREDENBURG (2017). "*Batrachochytrium salamandrivorans* and the risk of a second amphibian pandemic", *EcoHealth*, 14 (4): 851-64.

Annexe A Procédure abrégée — Recherche active de nids

Protocole standardisé Inventaire de salamandres à quatre orteils au Québec

Procédure abrégée – Recherche active de nids –

Objectifs

- Confirmer la présence de la salamandre à quatre orteils afin d'en tenir compte dans le cadre d'évaluations environnementales de projets pouvant avoir des répercussions sur celles-ci ou leurs habitats.
- Améliorer les connaissances sur la répartition de la salamandre à quatre orteils.

Méthode

Recherche active des nids

Pour trouver les nids, écarter délicatement la mousse (sphaigne) des monticules avec le bout des doigts. Cette opération doit être réalisée avec précaution pour éviter, dans la mesure du possible, de détruire l'habitat. Les œufs et la femelle (généralement présente) sont près de la surface. Il est important d'effectuer les recherches dans les monticules de mousse qui surplombent l'eau. Il est important de bien refermer la mousse qui a été écartée afin d'éviter que les œufs et la femelle soient exposés au soleil et que la mousse perde son humidité.

Si le nombre de nids doit être compté durant l'inventaire, il est recommandé d'utiliser du ruban de couleur pour marquer l'emplacement des nids afin d'éviter leur recomptage. Retirer le ruban à la fin de l'inventaire.

Matériel

- Contenant avec de l'eau propre sans chlore;
- Petite épuisette à poisson d'aquarium;
- Sacs Ziploc^{MD};
- Contenants de verre ou de plastique transparent;
- Gants à usage unique sans talc (optionnel);
- Thermomètre;
- pH-mètre;
- GPS et piles de rechange;
- Appareil photo;
- Procédure abrégée du protocole;
- Formulaire de prise de données (papier ou électronique [cellulaire ou tablette]);
- Étiquette en papier à l'épreuve de l'eau et crayons de plomb;
- Guide d'identification;
- Loupe;
- Matériel de désinfection de l'équipement et de lavage des mains;
- Une copie du permis SEG délivré par le Ministère.

Protocole standardisé Inventaire de salamandres à quatre orteils au Québec

Procédure abrégée (suite) – Recherche active de nids –

Périodes d'inventaire

Les inventaires devront être réalisés pendant la période de nidification de la salamandre à quatre orteils au mois de mai, de préférence du 15 au 31 mai. Cet intervalle de deux semaines peut varier en fonction du type de printemps, hâtif ou tardif.

Effort

L'effort de recherche active par hectare doit être adapté à l'abondance des abris dans l'habitat et à la superficie du terrain à inventorier, soit :

- de 1 à 2 h/ha pour les terrains de moins de 8 ha;
- de 0,5 h/ha pour les terrains de plus de 8 ha.

Afin d'éviter de stresser inutilement les salamandres et de perturber leur habitat, une seule visite est nécessaire si des salamandres à quatre orteils sont observées. Toutefois, si aucune salamandre ou aucun nid ne sont vus, une ou deux autres visites sur les sites sont nécessaires au cours du mois de mai, pour un maximum de trois visites.

Capture et manipulation des individus

- Avoir les mains propres et humides, sans insectifuge, parfum, lotion ou autre substance potentiellement toxique ou enfiler des gants à usage unique sans talc et les humecter.
- Avoir un contenant d'eau propre sans chlore (eau du milieu humide) pour nettoyer les salamandres capturées.
- Privilégier une méthode rapide et efficace de capture en saisissant l'animal par le corps en évitant de le soulever par la queue.
- Les captures non identifiables rapidement peuvent être maintenues temporairement dans un sac de plastique de type Ziploc^{MD}, contenant de l'eau et de l'air.
- Si nécessaire, conserver les salamandres capturées dans un environnement humide et frais, de préférence à l'ombre pour une période maximale de 10 minutes.
- Relâcher tous les spécimens à l'endroit même de leur capture en ayant pris soin de remettre l'abri dans son état initial.
- Décontaminer les sacs de plastique adéquatement entre chaque usage ou en utiliser des neufs.

Identification

L'identification des salamandres doit être faite par une personne ayant la formation ou l'expérience du terrain suffisante à leur bonne identification.

Guide *Amphibiens et reptiles du Québec et des Maritimes* (Rodrigue et Desroches, 2018).

Protocole standardisé Inventaire de salamandres à quatre orteils au Québec

Procédure abrégée (suite) – Recherche active de nids –

Prise de données

Les données suivantes doivent être notées sur le formulaire de terrain :

- Nom du site;
- Date;
- Nom des observateurs et leur affiliation;
- Temps de recherche (heure de début et de fin);
- Température de l'eau;
- pH de l'eau;
- Type de couvert forestier (feuillus, mixte, résineux);
- Type de milieux humides (étang, marécage, tourbière);
- Abondance de sphaigne;
- Couvert nuageux (0-25 %, 25-50 %, 50-75 %, 75-100 %);
- Précipitations;
- Menaces;
- Code de l'espèce capturée ou vue;
- Nombre de nids potentiels fouillés;
- Conditions hydrologiques (pluies moins de 48 heures, sécheresse);
- Coordonnées géographiques (degrés décimaux NAD 83); si une espèce menacée, vulnérable ou susceptible d'être désignée (EMVS) a été repérée;
- Signes de maladie;
- Numéro des photographies.

Si aucune salamandre n'est trouvée, cette information doit apparaître sur le formulaire de terrain (donnée zéro) et une photo du site est requise. L'absence de salamandres dans le milieu inventorié doit être mentionnée sur la feuille de terrain. Les salamandres ayant échappé à la capture doivent également être notées. Si une identification fiable a été faite, il faut indiquer l'espèce. Cependant, dans les cas douteux, il faut toujours indiquer la mention « sp. » pour « indéterminée ».

Photographie des spécimens

- Inscrire la date, la station et le numéro de spécimen au crayon de plomb sur l'étiquette.
- Apposer l'étiquette près de l'animal pour la prise de photos.
- Prendre la photographie et noter son numéro sur le formulaire de terrain.

Désinfection du matériel

Entre chaque milieu humide, désinfecter l'équipement et les bottes pendant 15 minutes dans une solution de Virkon^{MD} Aquatic ou une solution d'eau de Javel (à faire loin du milieu humide).

**Annexe B Formulaire de prise de données — Inventaire de
salamandres à quatre orteils — Recherche active
de nids**

FORMULAIRE DE PRISE DE DONNÉES — INVENTAIRE DE SALAMANDRES À QUATRE ORTEILS

Recherche active de nids

Nom du site : _____ **Date (aaaa/mm/jj) :** _____
Observateur(s) : _____ **Affiliation :** _____
Temps de recherche : Heure début : _____ Heure fin : _____ Températures Air : _____ °C Eau : _____ °C
Temps de recherche total (minutes X nombre de participants) : _____ **pH de l'eau :** ____ **Sphaigne :** Oui Non
Nombre de nids potentiels fouillés : _____ **Superficie inventoriée :** _____ **Poissons :** Oui Non
Couvert forestier : ☐ feuillus ☐ mixte ☐ résineux **Couvert nuageux (encercler) :** 0-25 % 25-50 % 50-75 % 75-100 %
Type de milieu humide : ☐ étang ☐ marécage ☐ tourbière
Menaces : ☐ Sentier récréatif ☐ Récolte de la tourbe ☐ Sentier de VTT ☐ Ponceau ☐ Drainage agricole ou ☐ forestier
☐ Prélèvement d'eau de surface ☐ Pathogène fongique ☐ Érosion du sol, sédimentation ☐ Vague de chaleur ☐ Sécheresse

Espèce ¹ (code) (voir tableau au verso)	Signes de maladie oui/non	Coordonnées géographiques si EMVS ² (voir tableau au verso)	N° des photos
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	

2 : espèces menacées, vulnérables ou susceptibles d'être désignées.

Description de l'habitat et remarques (si autre menace, la décrire ici) :

FORMULAIRE DE PRISE DE DONNÉES — INVENTAIRE DE SALAMANDRES À QUATRE ORTEILS Recherche active des nids (SUITE)

Nom du site : _____

Date (aaaa/mm/jj) : _____

Espèce (code) (voir tableau plus bas)	Signes de maladie oui/non	Coordonnées géographiques si EMVS¹ (voir tableau plus bas)	N° des photos
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	
		Lat. : Long. :	

1 : espèces menacées, vulnérables ou susceptibles d'être désignées.

Code	Espèce	EMVS	Code¹	Espèce	EMVS
GYPO	Salamandre pourpre	OUI	PLCI	Salamandre cendrée	NON
DEFU	Salamandre sombre du Nord	OUI	NOVI	Triton vert	NON
DEOC	Salamandre sombre des montagnes	OUI	EUBI	Salamandre à deux lignes	NON
AMLA	Salamandre à points bleus	NON	AMMA	Salamandre maculée	NON
NEMA	Necture tacheté	NON	HESC	Salamandre à quatre orteils	OUI

Annexe C Procédure abrégée — ADNe

Protocole standardisé Inventaire de salamandres à quatre orteils au Québec

Procédure abrégée – ADNe –

Objectifs

- Confirmer la présence de la salamandre à quatre orteils afin d'en tenir compte dans le cadre d'évaluations environnementales de projets pouvant avoir des répercussions sur celles-ci ou leurs habitats.
- Améliorer les connaissances sur la répartition de la salamandre à quatre orteils.

Méthode

Le matériel requis pour faire l'échantillonnage d'eau est le suivant :

- Boîtier antichoc pour protéger et transporter la pompe pour la filtration;
- Pompe utilitaire portative (p. ex., ECOFLO, 350 gal/h, 12 V CC [Modèle n° PUP61DC]);
- Batterie 12 V rechargeable;
- Cylindre gradué de 2 L ou contenant gradué;
- Paquets de filtration ADNe stériles. Les sachets contiennent un porte-filtre avec filtre de 1 µm, un bout de tubulure pour échantillonner avec un préfiltre de 200 µm installé au bout avec un élastique (préalablement décontaminé) :
 - paquets à usage unique avec filtres autodessiccants,
 - paquets à usage unique (p. ex., de marque Smith-Root),
 - paquets réutilisables (c'est-à-dire porte-filtre désinfecté avec filtre, préfiltre installé au bout de la tubulure avec élastique et paire de pinces stériles);
- Tubulure d'échantillonnage de diamètre extérieur de 1/2" et de diamètre intérieur de 3/8" (1,23 cm × 1,9 cm) (p. ex., Waterra – LDPE – HDPE);
- Glacière pour conserver les échantillons (glacière électrique ou une glacière avec blocs réfrigérants de type Ice Packs^{MD});
- Gants en nitrile à usage unique;
- Bouteilles de 2 L;
- Eau distillée;
- Virkon^{MD} Aquatic (solution de 2 %);
- Sacs Whirl-Pak^{MD} (4 oz);
- Billes de silice;
- Filtre de nylon (160 µm; Dulytek^{MD}; 200 po × 2 po) (environ 5 cm de long) préalablement coupé;
- Contenant hermétique (p. ex., Tupperware^{MD}) pour y déposer les sacs Whirl-Pak^{MD};
- Sacs de poubelle;
- Thermomètre (°C);
- pH-mètre;
- Procédure abrégée;
- Formulaire de terrain et le nécessaire pour prendre des notes;
- GPS avec stations d'échantillonnage préalablement téléchargées;
- Perche avec porte-bouteille.

Protocole standardisé Inventaire de salamandres à quatre orteils au Québec

Procédure abrégée (suite) – ADNe –

Période d'échantillonnage

Il est recommandé de réaliser l'échantillonnage au printemps, du 15 mai au 15 juin.

Effort d'échantillonnage et nombre d'échantillons

Il est proposé de prélever les échantillons d'eau selon une grille d'échantillonnage, en fonction des spécifications suivantes :

- 1 échantillon d'eau par 400 m² (parcelle de 20 × 20 m). Choisir la cuvette qui semble offrir le meilleur potentiel quant au nombre de larves (cuvette avec de l'eau et des boutons de sphaigne entourant la cuvette);
- 10 échantillons au minimum par habitat de reproduction. Si l'habitat de reproduction est petit, il se peut que la densité d'échantillons soit plus élevée que 1 échantillon/400 m².

Localisation fine des sites d'échantillonnage

La localisation des sites où sont prélevés les échantillons d'eau doit tenir compte des préférences d'habitats de l'espèce. Il est ainsi préférable de prélever l'eau près des berges abruptes surplombées d'un amoncellement de mousse de sphaigne où la probabilité de trouver un nid est plus grande.

Volume d'eau à échantillonner

Le volume minimal d'eau à échantillonner à chacune des stations est de **2 L**.

Procédure d'échantillonnage et de filtration sur le terrain

Pour s'assurer d'un échantillonnage réussi, les étapes suivantes doivent être respectées :

1. L'équipe sur le terrain devra être composée d'au moins deux personnes;
2. Une fois sur le site, l'échantillonneur doit ouvrir le boîtier de la pompe et s'assurer qu'elle est bien préparée;
3. Avant de commencer l'échantillonnage, il faut faire tourner le moteur de la pompe avec de l'eau distillée ou l'eau du milieu humide. Il s'agit de prendre l'eau sans aucun porte-filtre avec la tubulure qui se trouve normalement en amont du porte-filtre;
4. L'échantillonneur doit mettre des gants à usage unique et peut ensuite fixer la bouteille stérile (neuve ou stérilisée) de 2 L au porte-bouteille (perche d'au moins 2 m de longueur), sans toucher au manche (manche manipulé par l'aide-échantillonneur);

LES GANTS À USAGE UNIQUE DOIVENT ÊTRE CHANGÉS ENTRE CHAQUE STATION D'ÉCHANTILLONNAGE S'ILS ONT ÉTÉ EN CONTACT AVEC LA POMPE OU TOUT AUTRE MATÉRIEL QUI EST UTILISÉ D'UN SITE À UN AUTRE SANS POUVOIR ÊTRE DÉSINFECTÉ « TOTALEMENT ».

Protocole standardisé Inventaire de salamandres à quatre orteils au Québec

Procédure abrégée (suite) – ADNe –

5. La bouteille peut maintenant être plongée dans l'eau à l'aide de la perche manipulée par l'aide-échantillonneur. L'eau doit être collectée à une profondeur maximale de 1 m. Si le fond se retrouve à moins de 1 m, il faut faire attention de ne pas toucher le fond avec le système d'échantillonnage (perche et bouteille). Cela remet en suspension les sédiments et pourrait fausser le résultat.
6. L'échantillonneur doit ouvrir un paquet Smith-Root, ou réutilisable, ou à usage unique avec filtre autodessiccant, pour sortir le porte-filtre et les deux tubulures. La tubulure 1/2" × 3/8" doit être fixée sur le bout du porte-filtre qui se connecte à la pompe.
7. La plus grande tubulure est insérée dans la bouteille d'eau collectée. Ensuite, la tubulure de sortie de la pompe doit être mise dans un cylindre gradué (ou contenant gradué). La pompe peut maintenant être démarrée.
8. L'échantillonneur doit filtrer un maximum de 2 L d'eau. Lorsque la pompe présente une résistance au pompage, souvent dans les eaux troubles où les filtres se saturent plus vite, il est important d'arrêter la filtration avant que le filtre ne se brise (de 1 L à 1,5 L). Il est aussi important de noter le volume exact d'eau filtrée.
9. Si vous utilisez un porte-filtre avec filtre autodessiccant, retirez les tubulures du porte-filtre et remettez le porte-filtre dans son sac de plastique, passer au point 13.
10. Pour les autres porte-filtres (Smith-Root ou réutilisable), l'échantillonneur doit :
 - Sortir un sac Whirl-PAK^{MD} contenant des billes de silice et inscrire le numéro de la station avec un crayon permanent;
 - Prendre la pince dans le sachet stérile (en s'assurant de ne pas toucher les bouts de la pince);
 - Ouvrir le porte-filtre;
 - Enlever délicatement le filtre du porte-filtre avec la pince;
 - Plier le filtre avec la pince, idéalement à deux reprises (en s'assurant que les particules filtrées sont à l'intérieur);
 - Mettre le filtre plié dans la pochette de nylon Dulytek^{MD} (préalablement mis dans un sac Whirl-PAK^{MD}) avec un fond de billes de silice;
 - Toujours avec la pince, pousser la pochette de nylon (contenant le filtre) au fond du sac de silice;
 - Enlever le plus d'air possible du sac, replier le rebord sur lui-même et fermer le sac à l'aide des languettes jaunes.

NE PAS TOUCHER LE FILTRE NI L'INTÉRIEUR DE LA POCHETTE DE NYLON!

11. Mettre le sac Whirl-PAK^{MD} dans un contenant hermétique et déposer ce dernier dans la glacière.
12. Répéter les étapes 4 à 11 pour toutes les stations à échantillonner.

Protocole standardisé Inventaire de salamandres à quatre orteils au Québec

Procédure abrégée (suite) – ADNe –

13. Pour chaque milieu humide échantillonné, un blanc de procédure (blanc d'échantillonnage) devra être fait :
- Pour le blanc d'échantillonnage, de l'eau distillée est versée dans une bouteille de 2 L neuve (comme celle ayant servi à la collecte des autres échantillons) et cette eau doit être filtrée selon la même méthode et la même séquence qui a été appliquée pour la collecte des échantillons au site.

LES SACS WHIRL-PAK^{MD} CONTENANT LES FILTRES DOIVENT TOUJOURS ÊTRE CONSERVÉS AU FROID (4 °C) SUR LE TERRAIN.

LES SACS CONTENANT LES PORTE-FILTRES AVEC FILTRE AUTODESSICCANT PEUVENT ÊTRE CONSERVÉS À TEMPÉRATURE AMBIANTE EN ATTENDANT L'ENVOI AU LABORATOIRE D'ANALYSE.

14. L'assistant de l'échantillonneur effectue les tâches suivantes :
- Prendre les notes de terrain;
 - Prendre la température de l'eau avec le thermomètre;
 - Prendre le pH de l'eau avec le pH-mètre;
 - Décrire la végétation (couvert forestier dominant sur les rives, algues et plantes aquatiques).

UNE FOIS DE RETOUR AU LABORATOIRE, LES SACS WHIRL-PAK^{MD} AVEC LES FILTRES DOIVENT ÊTRE CONSERVÉS AU CONGÉLATEUR À -20 °C POUR UNE DURÉE MAXIMALE DE 12 MOIS.

POUR LES PORTE-FILTRES AVEC FILTRES AUTODESSICCANTS, LES MANIPULATIONS RELATIVES AU RETRAIT DU FILTRE SONT FAITES AU LABORATOIRE.

Désinfection du matériel post-échantillonnage

La désinfection du matériel doit se faire entre chaque milieu humide échantillonné.

Annexe D

Formulaires de prise de données — Échantillonnage de l'ADNe pour la détection de la salamandre à quatre orteils

FORMULAIRE DE PRISE DE DONNÉES — ÉCHANTILLONNAGE DE L'ADNe POUR LA DÉTECTION DE LA SALAMANDRE À QUATRE ORTEILS

Nom du site : _____ Date de l'échantillonnage (aaaa/mm/jj) : _____

Nom de l'échantillonneur : _____ Espèce(s) visée(s) : _____

Nom de l'aide-échantillonneur : _____ Couvert forestier : ☐ feuillus ☐ mixte ☐ résineux

Menaces : ☐ Sentier récréatif ☐ Récolte de la tourbe ☐ Sentier de VTT ☐ Ponceau ☐ Drainage agricole ou forestier ☐ Prélèvement d'eau de surface

☐ Pathogène fongique ☐ Érosion du sol, sédimentation ☐ Vague de chaleur ☐ Sécheresse

Présence de sphaigne : ☐ Oui ☐ Non

Présence de poissons : ☐ Oui ☐ Non

N° de l'échantillon	Coordonnées GPS (degrés décimaux)	Heure de collecte de l'échantillon (hh:mm, système 24 h)	Prof. (m)	Temp. de surface (°C)	Volume d'eau filtré par filtre (L)	Filtre déchiré (oui/non)	Type de porte-filtre (usage unique [U] ou réutilisable [R])
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						

Description de l'habitat et remarques (si autre menace, la décrire ici) :

**FORMULAIRE DE PRISE DE DONNÉES — ÉCHANTILLONNAGE DE L'ADNe POUR LA DÉTECTION
DE LA SALAMANDRE À QUATRE ORTEILS (SUITE)**

Nom du site : _____

Date de l'échantillonnage (aaaa/mm/jj) : _____

N° de l'échantillon	Coordonnées GPS (degrés décimaux)	Heure de collecte de l'échantillon (hh:mm, système 24 h)	Prof. (m)	Temp. de surface (°C)	Volume d'eau filtré par filtre (L)	Filtre déchiré (oui/non)	Type de porte-filtre (usage unique [U] ou réutilisable [R])
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						
	Lat. : Long. :						

Description de l'habitat et remarques (si autre menace, la décrire ici) :



**Environnement,
Lutte contre
les changements
climatiques,
Faune et Parcs**

Québec 