

Diversité génétique et structure des populations de Triton crêté (*Triturus cristatus*) en Wallonie (Belgique) : Enjeux pour sa conservation

Genetic diversity and population structure of the Great crested newt (*Triturus cristatus*) in Wallonia (Belgium): Conservation issues

Anaïs BEAUMARIAGE^{(1)*}, Alix ATTAQUE⁽¹⁾, Lise-Marie PIGNEUR⁽¹⁾, Éric GRAITSON⁽²⁾
& Johan MICHAUX⁽¹⁾

⁽¹⁾ Laboratoire de génétique de la conservation (GeCoLab), Université de Liège, Chemin de la Vallée 4, 4000 Liège, Belgique

⁽²⁾ Natagora, Rue des Muses 1, 5002 Namur, Belgique

*Auteure correspondante : anaïs.beaumariage@gmail.com

Résumé – Le Triton crêté (*Triturus cristatus*) est un amphibien à dispersion limitée affecté par la fragmentation de ses habitats et l'érosion génétique associée. Cette étude vise à dresser un état des lieux de la structuration génétique des populations wallonnes (Belgique), évaluer les flux de gènes entre populations et estimer la consanguinité pour proposer des mesures de conservation. Dans le cadre du projet Life BNIP, des échantillonnages ont été réalisés en 2019 et 2023. Des écouillons buccaux de 540 individus issus de 40 stations réparties en Wallonie ont été collectés. Huit marqueurs microsatellites ont servi au génotypage.

Nos analyses révèlent une structure génétique hétérogène, marquée par une division majeure entre les populations de l'ouest de la Wallonie et les autres. Au moins huit sous-groupes génétiques distincts sont identifiés, avec une diversité génétique et des échanges de gènes plus élevés dans l'ouest. Bien que les indices de consanguinité élevés ne soient trouvés que dans quelques stations, les flux de gènes entre populations distantes restent faibles, sauf pour les stations connectées par un réseau de mares. Ces résultats mettent en évidence l'importance d'intégrer la structure génétique et les flux de gènes dans les stratégies de conservation du Triton crêté.

Mots-clés – Conservation, Génétique des populations, Microsatellite, Urodèle.

Abstract – The Great Crested Newt (*Triturus cristatus*) is an amphibian with limited dispersal capacities affected by habitat fragmentation and associated genetic erosion. This study aims to assess genetic structuring of populations in Wallonia (Belgium), evaluate gene flow between populations, and estimate inbreeding to propose effective conservation measures. As part of the Life BNIP project, sampling was conducted in 2019 and 2023. Buccal swabs were collected from 540 individuals across 40 sites distributed throughout Wallonia. Eight microsatellite markers were used for genotyping.

Our analyses reveal a heterogeneous genetic structure, characterized by a major division between populations in western Wallonia and the rest. At least eight distinct genetic subgroups were identified, with higher genetic diversity and gene flow observed in the western group. Although high inbreeding indices were found in only a few sites, gene flow between distant populations remains generally low, except for sites connected by a network of ponds. These findings highlight the importance of integrating genetic structure and gene flow into conservation strategies for the Great Crested Newt.

Key-words – Conservation, Microsatellite, Population genetics, Urodele.

INTRODUCTION

Les amphibiens dépendent à la fois de milieux aquatiques et terrestres, ce qui en font des victimes de la destruction de leurs habitats et plus particulièrement de leurs habitats de reproduction (Sodhi *et al.* 2008). Reconnue comme une des principales menaces pour ce groupe de vertébrés (Stevens & Baguette 2008), la fragmentation des

habitats peut entraîner un isolement génétique et une perte de diversité pouvant réduire le potentiel adaptatif. Cette vulnérabilité est exacerbée par la faible capacité de dispersion des amphibiens qui limite d'autant plus la viabilité des populations fragmentées. Face à ces constatations, il est essentiel de mettre en œuvre des stratégies de conservation visant à connecter ces populations et à préserver leur diversité génétique (Beebee & Griffiths 2005).

Le Triton crêté *Triturus cristatus* (Laurenti, 1768) illustre parfaitement ces défis. Cet urodèle répandu à travers l'Eurasie à basse altitude est fortement affecté par la fragmentation de ses habitats, qui pourrait conduire à une érosion génétique qui compromettrait ses capacités d'adaptation dans des environnements changeants et, de fait menacerait sa survie à long terme (Angelone 2010, Orizaola *et al.* 2010). Les différentes espèces du genre *Triturus* auraient divergé entre 10,4 et 7,2 Ma (Arntzen *et al.* 2007, Wielstra *et al.* 2019). Bien que leur diversification précède les cycles climatiques du Pléistocène (0,01 à 1,8 Ma), ces périodes glaciaires ont profondément influencé la diversité génétique de nombreuses espèces de tritons par des phases de fragmentation géographique dans des refuges glaciaires, suivies de recolonisations postglaciaires (Hewitt 2000, Babik *et al.* 2005, Wielstra *et al.* 2013). Ces refuges, situés dans des régions telles que les péninsules méditerranéennes (par exemple, les Balkans), ont façonné la diversité génétique des populations modernes, notamment au sein du genre *Triturus* (Wielstra *et al.* 2013, Wielstra & Arntzen 2020).

En dehors de ces refuges, comme en Wallonie, les effets de dérive génétique assortis éventuellement d'effets fondateurs dus aux recolonisations post-glaciaires auraient conduit à une diversité génétique réduite par rapport aux régions situées plus près des refuges glaciaires (Dufresnes & Perrin 2015). Ces dynamiques historiques influencent encore aujourd'hui la résilience et les capacités adaptatives des populations face aux pressions environnementales actuelles, soulignant l'importance cruciale d'une gestion éclairée de la conservation génétique. En Wallonie, une région du sud de la Belgique, le Triton crêté reste une espèce inféodée aux milieux ruraux à travers sa présence dans les zones d'agriculture extensive (Schön *et al.* 2011). Il occupe des habitats caractérisés par des sols argilo-limoneux, marneux ou crayeux, avec des populations bien établies dans des zones comme le Hainaut, le Condroz, la Fagne-Famenne et la Lorraine belge, mais aussi des populations plus isolées et fragmentées dans le Pays de Herve et l'Ardenne (Jacob *et al.* 2007, Denoël & Ficetola 2008). Le Triton crêté est considéré comme une espèce quasi-menacée selon la dernière liste rouge de l'herpétofaune en Wallonie (Graitson *et al.* 2023), malgré une classification en préoccupation mineure à l'échelle mondiale en raison de sa large distribution (IUCN SSC Amphibian Specialist Group 2023). Parmi les quatre espèces de tritons

belges, celle-ci est non seulement la plus rare mais aussi celle dont le déclin est le plus prononcé sur l'ensemble de la Wallonie (de Wavrin 2003, Jacob *et al.* 2007, Denoël 2012). Le Triton crêté bénéficie donc d'une protection intégrale de par ses mentions dans les annexes 2 et 4 de la directive faune-flore-habitats de l'Union Européenne (Directive 92/43/CEE), du Conseil de l'Europe (1979) et dans l'annexe 2 de la convention de Berne (1992). En outre, il contribue à la désignation des zones spéciales de conservation selon le décret Natura2000 (2001).

Dans ce contexte, les outils génétiques constituent une approche essentielle pour évaluer l'état des populations et orienter efficacement les stratégies de conservation. Comprendre la structuration génétique des populations de Tritons crétés représente un enjeu central car cela permet d'identifier les processus à l'origine des variations génétiques et de cerner les principales menaces pesant sur l'espèce. La collecte de données génétiques récentes, comme illustré par de nombreuses études (Haugen *et al.* 2024, Kazilas *et al.* 2024, Schleimer *et al.* 2024), offre l'opportunité d'examiner les trajectoires évolutives des populations et d'éclairer la mise en place de mesures de gestion adaptées. Dans cette optique, la présente étude se concentre sur les populations wallonnes de Triton crêté, une espèce emblématique des écosystèmes aquatiques et un indicateur précieux de leur état de santé.

Les objectifs ont été de dresser un état des lieux des populations wallonnes de Tritons crétés en se basant sur l'analyse de huit marqueurs microsatellites. Plus spécifiquement, notre étude a eu pour objectif : (1) d'investiguer la structuration génétique du Triton crêté à différentes échelles spatiales ; (2) d'estimer la diversité génétique et l'indice de consanguinité ; (3) d'évaluer les flux de gènes et l'isolement entre les populations. In fine, l'étude vise à formuler des recommandations de conservation spécifiques pour le Triton crêté en Wallonie. Ces améliorations aspirent à préserver la diversité génétique et à maintenir les connexions entre les populations pour assurer la survie à long terme de l'espèce.

Cette étude s'intègre dans la continuité du projet Life BNIP (Belgian Nature Integrated Project) qui contribue à atteindre les objectifs Natura2000 et les objectifs européens de conservation de la nature. Il s'agit plus précisément du suivi biologique nécessaire à la mise en œuvre concrète de plans d'actions en Wallonie (Denaeghel 2023).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Stations de collecte et acquisition des données

Notre zone d'étude a couvert une grande partie de la Wallonie (la région sud de la Belgique) afin de produire une évaluation globale de la structuration génétique régionale du Triton crêté. La région wallonne est une terre de contraste avec des zones industrialisées et agricoles dominées par de grandes cultures au nord du sillon Sambre et Meuse et une contrée à tendance forestière, herbagère et moins densément peuplée au sud. Les mares wallonnes ont des origines variées et, outre les traditionnelles mares abreuvoirs, elles comprennent notamment des formations originales tels que des sites fossoyés dans le Hainaut occidental, des fosses d'extraction d'argile dans le Condroz et en Fagne-Famenne et des points d'eaux d'origine naturelles, les mardelles, en Lorraine belge (Graitson *et al.* 2009). Les mares échantillonnées étaient présentes dans diverses localisations, autant dans des réserves naturelles que chez des particuliers, dans des jardins, des sites militaires, des bois, des prairies, des carrières, d'anciennes argilières, d'anciens bras de rivière, etc (Fig. 1). La liste détaillée des stations prospectées est disponible dans la section matériel supplémentaire (S1). Sauf rares exceptions, chaque station

d'échantillonnage comptait entre une et six mares, séparées au maximum d'un kilomètre entre elles. Au-delà de cette distance, nous considérons deux stations distinctes. Cette valeur concorde avec les capacités de dispersion des Tritons crêtés (Miaud 1990, Jehle & Arntzen 2000).

Un total de 540 individus répartis sur 40 stations a été échantillonné, provenant d'un peu moins d'une centaine de plans d'eau. La sélection des stations d'échantillonnage s'est faite selon plusieurs critères comme la représentativité géographique de la Wallonie, la répartition de l'espèce et la connaissance d'une population existante. L'objectif était d'obtenir une vision globale tout en garantissant un échantillonnage adéquat en termes de nombre d'individus. C'est pourquoi les populations connues pour être les plus abondantes ont été priorisées dans cette première démarche.

Les captures de tritons ont été réalisées à l'aide de nasses à vairons (25 x 25 x 48 cm), type de piège fabriqué en filet, adapté pour la capture non létale des animaux aquatiques. La pose des nasses avait lieu en fin d'après-midi ou en début de soirée. Une nasse était posée environ tous les cinq mètres de berge favorable afin de maximiser la probabilité de capture des tritons et assurer un effort de capture constant (Ferrais 2018). La levée des nasses avait



Figure 1 - Vue sur une mare agricole, station située dans le Hainaut, Belgique (Photo : Noa Foucoux).

Figure 1 - View of an agricultural pond, station located in Hainaut, Belgium (Picture: Noa Foucoux).

lieu le lendemain matin, de manière à minimiser le temps passé par les tritons dans la nasse et réduire le stress causé par la capture. Entre chaque mare, l'intégralité du matériel utilisé était désinfectée avec une solution de Virkon®. Des gants en latex étaient employés pour la manipulation et changés entre chaque individu. Les prélèvements respectaient les recommandations de réduction des risques de dissémination d'agents infectieux et parasitaires chez les amphibiens lors d'interventions sur le terrain (Dejean *et al.* 2007) et les précautions pour les inventaires faunistiques du DEMNA (Département de l'Etude du Milieu Naturel et Agricole du Service Public de Wallonie) concernant les risques de propagation de la chytridiomycose.

La période d'échantillonnage s'est étendue de mars à mai 2019 et 2023, ce qui coïncide avec les maximas d'observations du Triton crêté en Wallonie (Jacob *et al.* 2007). Les prélèvements buccaux ont été réalisés à l'aide d'écouvillons stériles annotés (Deltalab® Collection swab standard, 13 x 165 mm) et conservés à sec. Cette méthode de prélèvement est considérée comme non invasive et ne présente aucun risque léthal pour les tritons, respectant ainsi les principes éthiques relatifs à la collecte d'échantillons chez les espèces menacées (Broquet *et al.* 2007).

Analyses des données génétiques

Cette étude a été basée sur le polymorphisme de marqueurs ADN, les microsatellites. Ces marqueurs permettent d'évaluer précisément le nombre de populations génétiques, la diversité génétique et les flux génétiques entre populations. Les huit marqueurs microsatellites sélectionnés sont ceux identifiés par Krupa *et al.* (2002). Ils sont spécifiques au Triton crêté et ont déjà fait leurs preuves dans des études similaires (Jehle *et al.* 2005, Maletzky *et al.* 2009, Schön *et al.* 2011, Mikulíček *et al.* 2012, Vacher et Ursenbacher 2014).

L'ADN de chaque échantillon de salive a été extrait à l'aide du kit QiaAmp® DNA Mini suivant les recommandations du fabricant (QIAGEN 2023). Il a par la suite été amplifié via une réaction en chaîne par polymérase (PCR). Le protocole de PCR a été le suivant : une période de chauffage initiale de 15 minutes à 95 degrés à d'abord eu lieu. Par la suite, les 40 cycles ont suivi cette séquence : une phase de séparation de 30 secondes à 94°C, une phase d'hybridation de 1 minute et 30 secondes à 60°C et une phase d'élongation de 1 minute à 72°C. Les produits PCR ont été conservés au congélateur à -20°C jusqu'à leur envoi au génotypage. Une dilution

avait alors lieu suivie par l'ajout de formamide (Formamide Hi-Di™, Applied Biosystems™) et d'un standard de taille (GeneScan™ 500 LIZ®). Des contrôles négatifs et positifs (avec des échantillons collectés en 2019) ont été réalisés afin d'assurer la qualité des données. Le génotypage permet de détecter le polymorphisme des fragments amplifiés via une électrophorèse capillaire des produits PCR dans un séquenceur automatique. Les fluorochromes correspondants aux microsatellites spécifiques au Triton crêté peuvent être détectés selon leur longueur d'onde lors de l'excitation avec un faisceau laser. Cette dernière varie selon la charge et la taille des fragments. Cette étape a été réalisée grâce à l'utilisation d'un séquenceur 3730 Genetic Analyser (Applied Biosystems™) mis à notre disposition à l'Université Libre de Bruxelles. La visualisation des génotypes s'est effectuée par la lecture d'électrophorégrammes produits à l'aide du logiciel GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems™). Ces électrophorégrammes permettent de visualiser les allèles présents pour chaque microsatellite chez chaque individu. Une vérification à l'aide du script ConGenR sur Rstudio (Version 2021.09.0) (Lonsinger & Waits 2015) a permis de mettre en évidence d'éventuels génotypes identiques, indiquant qu'un même individu a été capturé à plusieurs reprises ou qu'il s'agissait de vrais jumeaux. Micro-checker 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.* 2004) a été utilisé pour détecter d'éventuels artefacts et estimer la proportion d'allèles nuls pour chaque locus. Les résultats non significatifs de cette analyse n'ont pas justifié l'exclusion de marqueurs.

Pour l'analyse de structuration, le CIPRES Science Gateway (V.3.3) offre l'outil ParallelStructure qui assigne statistiquement des individus à des groupes en fonction de leur génotype pour détecter une structure populationnelle. Il utilise un algorithme de clustering bayésien basé sur les chaînes de Markov Monte-Carlo et un modèle d'admixture pour minimiser le déséquilibre de Hardy-Weinberg. Le programme effectue des simulations avec différentes valeurs de K (nombre de populations) et une valeur de vraisemblance correspondante. Plusieurs méthodes, comme celles de Pritchard *et al.* (2000) ou d'Evanno *et al.* (2005) permettent d'évaluer la structuration la plus probable. Chaque simulation est composée d'une période de burn-in (50 000 runs) permettant l'indépendance aux conditions initiales et d'une période d'itérations composée de 500 000 runs, pour un nombre de K variant entre 1 et 10 (Pritchard *et al.* 2000, Pritchard & Wen 2003, Miller *et al.* 2010, Besnier & Glover 2013,

Gilbert 2016, Janes *et al.* 2017). Le post-traitement des résultats a été réalisé avec le logiciel CLUMPP (Cluster Matching and Permutation Program) de la plateforme Clumpak (Cluster Markov Packager Across K), Structure harvester (v0.6.94) et pophelper (v1.0.10) pour la visualisation et la comparaison des regroupements à différentes valeurs de K (Earl *et al.* 2012, Kopelman *et al.* 2015, Francis 2017). Ces outils complémentaires facilitent la détection du nombre optimal de groupes génétiques. Les analyses de clustering ont permis d'examiner la structuration à différentes échelles, débutant avec l'ensemble des données, puis se focalisant sur des niveaux plus localisés afin d'identifier une éventuelle micro-structuration.

Les indices génétiques de cette étude ont été analysés à l'aide du package diveRsimy (Keenan *et al.* 2013), compatible avec le logiciel Rstudio (Version 2021.09.0). En ce qui concerne les flux de gènes, les indices évalués sont le $G'st$, un indice de fixation standardisé et le D_{jost} , un indice de différenciation allélique. Les mesures de diversité génétique englobent le F_{is} , un indice de structuration interne d'une population, qui peut être considéré comme un proxy indirect de la consanguinité, le nombre d'allèles (A), le pourcentage total d'allèles présents dans la population (%), la richesse allélique (A_r), l'hétérozygotie observée (H_o) et attendue (H_e), ainsi que l'adéquation au modèle d'Hardy-Weinberg (HWE).

Enfin, un test d'isolation par la distance (Mantel 1967) a été effectué à l'aide du package R vegan sur Rstudio (Version 2021.09.0) afin de tester la présence d'une corrélation significative entre le logarithme de la distance géographique (en mètres) et la distance génétique ($F_{st}/(1-F_{st})$) au seuil de significativité de 0,05 (Rousset 1997).

RÉSULTATS

Nos objectifs étaient d'analyser la structuration génétique, la diversité et les flux de gènes au sein des populations de Tritons crêtés en Wallonie. Nous avons appliqué un filtre de qualité à nos données génétiques, conservant 82,2% des 540 échantillons recueillis pour analyses ($N=444$). Ce processus a exclu les 96 échantillons présentant des génotypes incomplets, nous permettant de concentrer nos analyses sur des données fiables.

Structuration génétique

Chaque niveau de séparation apporte des précisions à différentes échelles. Le schéma global observé pour la plus faible valeur de K ($K=2$) correspond à la solution de regroupement suggérée par la méthode d'Evanno *et al.* (2005) révèle une structuration en deux groupes (Fig. 2). Cette première division en deux groupes génétiques offre des informations sur la superstructure des populations. Le pourcentage

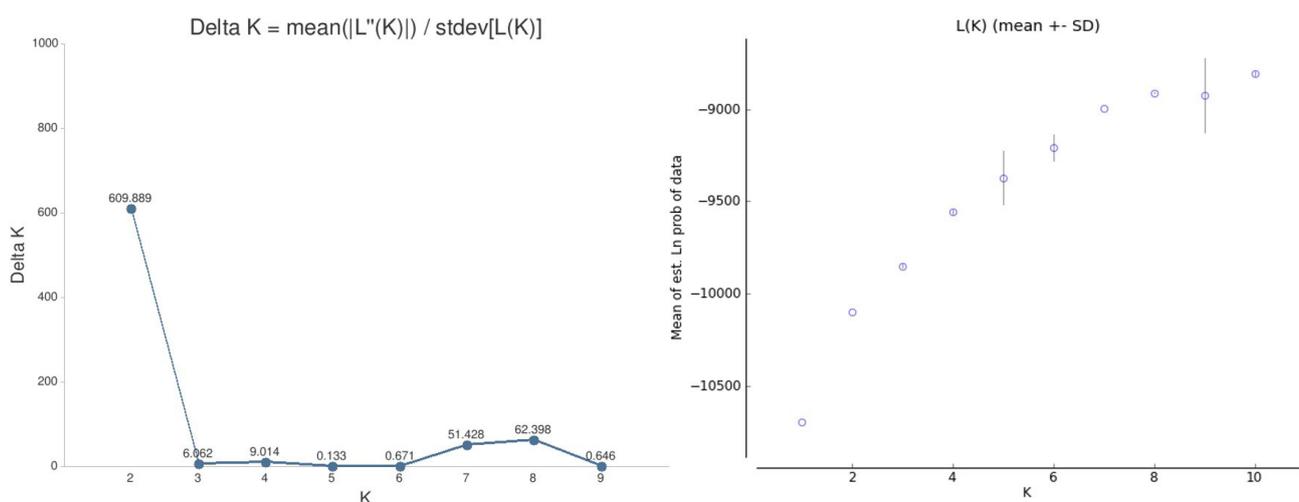


Figure 2 - Graphiques représentant la valeur de delta K en fonction de K selon la méthode d'Evanno à gauche ; et la valeur de $\ln P(K)$ en fonction de K selon la méthode de Pritchard à droite, d'après l'analyse STRUCTURE sur l'ensemble des données.

Figure 2 - Graphs depicting the delta K value as a function of K using the Evanno method on the left; and the $\ln P(K)$ value as a function of K using the Pritchard method on the right, based on STRUCTURE analysis of the entire dataset.

d'appartenance moyen aux différents groupes a été calculé pour chaque station (Fig. 3). Cette superstructure tend à séparer la région de l'ouest (représentée par le groupe en bleu sur la Fig. 3, N=194) au reste de la Wallonie (représenté par le groupe en rouge sur la Fig. 3, N=250). Il s'agit donc des deux grands groupes distincts et majeurs présents en Wallonie à une échelle globale. Cependant, ces deux grands groupes pourraient masquer une structure sous-jacente et la méthode d'Evanno *et al.* (2005) tend souvent à choisir la valeur de deux comme nombre idéal de populations et à potentiellement masquer la structuration génétique à des niveaux inférieurs (Janes *et al.* 2017). C'est pourquoi elle est à coupler avec d'autres indices comme le pourcentage d'affiliation des individus aux groupes, la vraisemblance ou encore la méthode de Pritchard *et al.* (2003) afin de choisir le nombre de groupes qui décrit le mieux les données. Sur la base de ces paramètres, huit ensembles tendent à se démarquer pour expliquer la répartition des individus au sein de

ces deux grands groupes génétiques, ce qui représente le nombre de groupes correspondant le mieux aux données tout en restant plausible biologiquement.

Ces sous-groupes représentent la structuration à une échelle plus fine. Afin de mieux visualiser la répartition des différents groupes à travers la Wallonie, le pourcentage d'appartenance moyen aux différents groupes a été calculé pour chaque station (Fig. 4). Au cours de nos analyses, les groupes génétiques se sont distingués de la manière suivante : les individus de la station de Petit-Roex-les-Braine (en bleu foncé), suivi de ceux des stations de la Famenne (en rouge), de la Lorraine belge (en bleu clair), du camp militaire de Marche-en-Famenne (en orange) et de la Fagne (en jaune). La zone du Condroz et sa périphérie présentent une composition génétique mixte. La subtilité réside dans la structuration des individus du Hainaut (en vert foncé et vert clair), où des sous-populations émergent selon l'échelle étudiée.

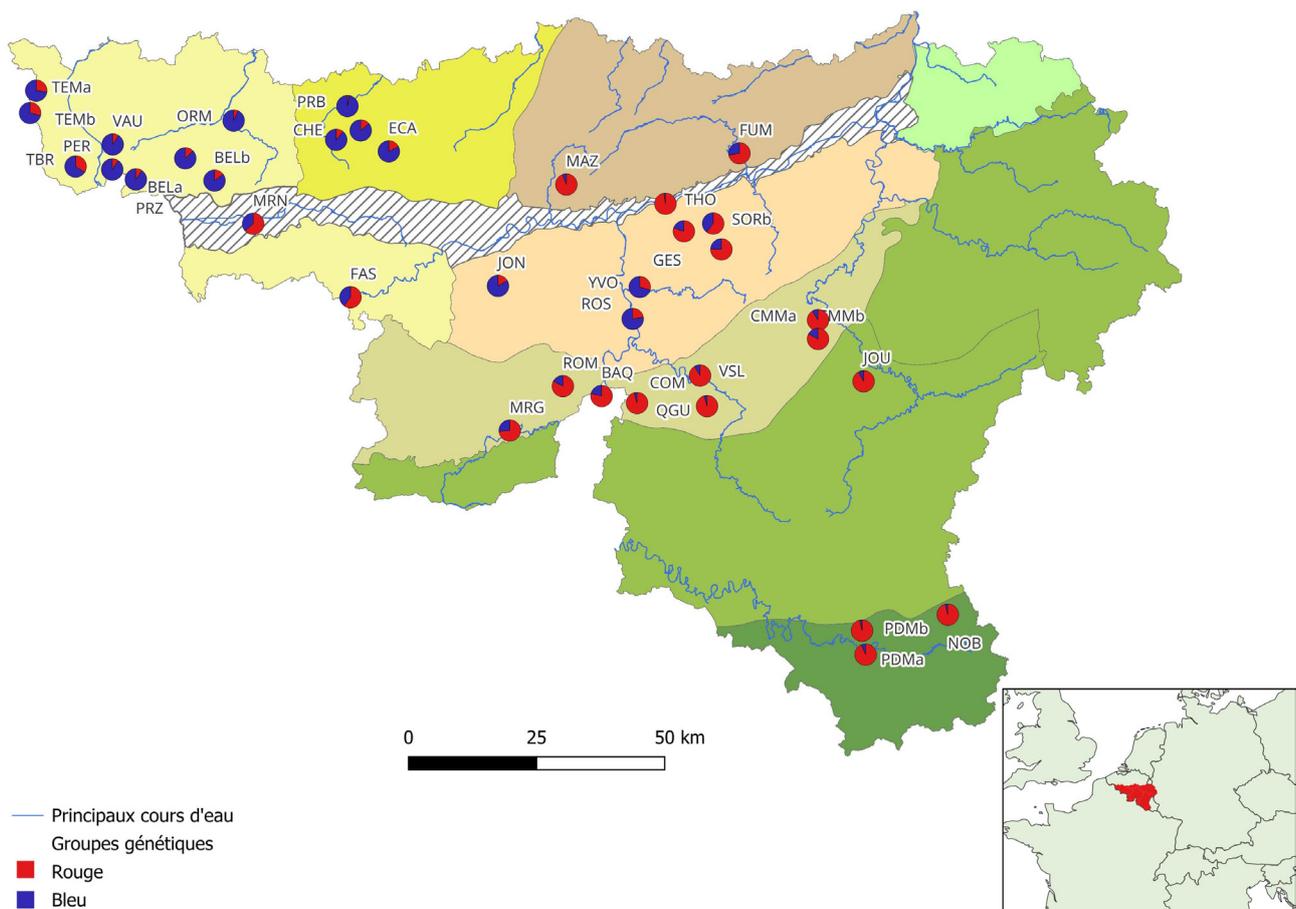


Figure 3 - Représentation de l'affiliation moyenne de chaque station à chacun des deux groupes. Chaque diagramme circulaire montre le pourcentage moyen d'appartenance aux différents groupes de tous les individus d'un site. Les étiquettes indiquent les stations étudiées.

Figure 3 - Representation of the average affiliation of each site to each of the two groups. Each pie chart shows the mean percentage of membership to different groups for all individuals at a site. The labels indicate the studied stations.

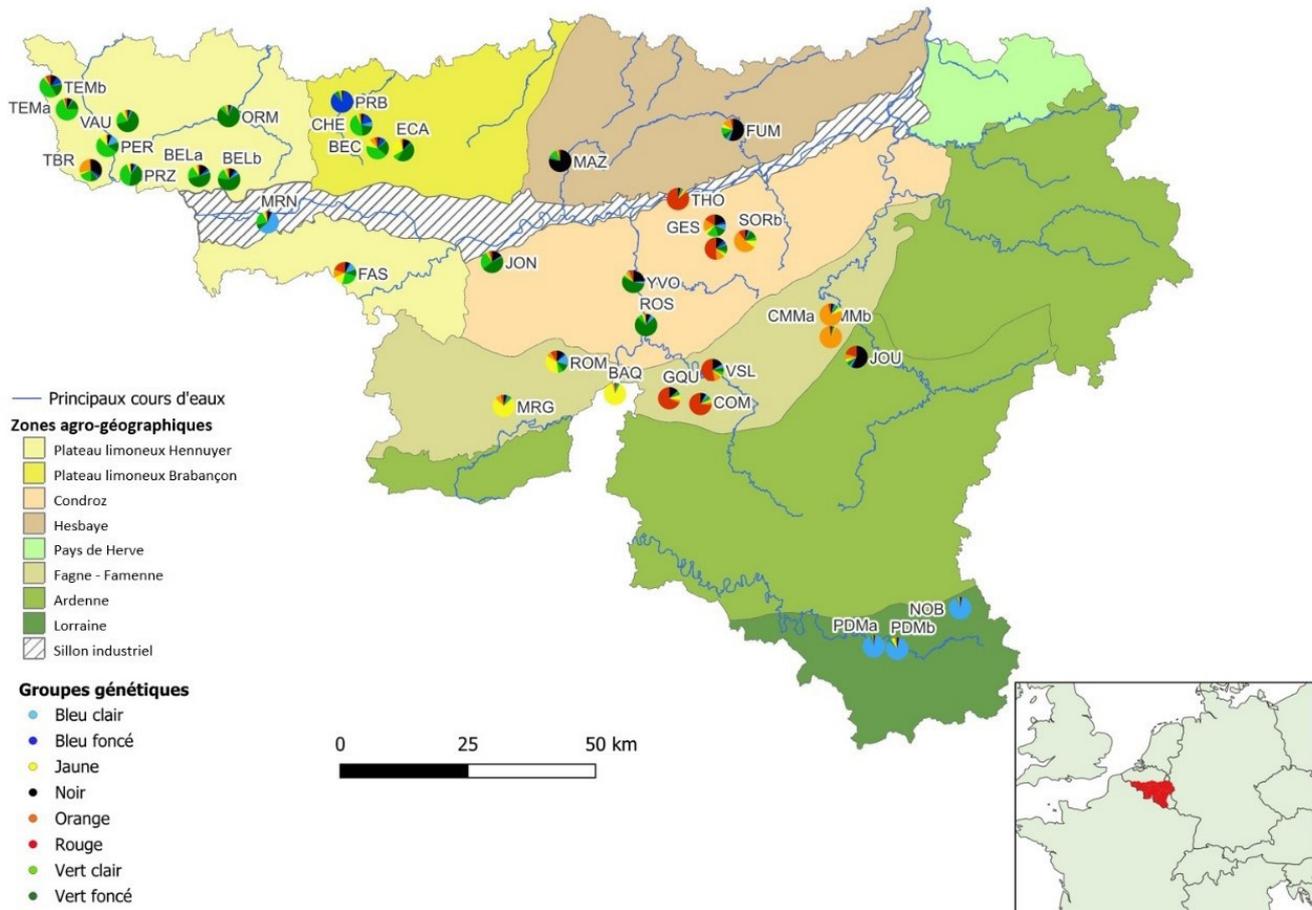


Figure 4 - Représentation de l'affiliation moyenne de chaque site aux huit groupes en Wallonie (Belgique). Chaque diagramme circulaire montre le pourcentage moyen d'appartenance aux différents groupes de tous les individus d'un site. Les étiquettes indiquent les stations étudiées.

Figure 4 - Representation of the average affiliation of each site to the eight groups in Wallonia (Belgium). Each pie chart shows the mean percentage of membership to different groups for all individuals at a site. The labels indicate the studied stations.

Diversité génétique

Afin d'estimer au mieux les fréquences alléliques, seules les stations contenant au minimum 10 individus ont été incluses dans cette partie de l'analyse, ce qui représente un total de 385 Tritons crêtés provenant de 21 stations. Cette approche a été adoptée afin d'éviter les biais potentiels liés aux inégalités d'échantillonnage entre les stations.

La richesse allélique la plus élevée se trouve dans les génotypes des stations de Romedenne (ROM, 4,6), Beloeil (BELa et BELb : 4,33 et 4,12 respectivement) et Barrière d'Ecaussinnes (BEC : 4,16) (Tab. 1). Les individus ayant la richesse allélique la plus faible sont retrouvés dans les stations de Petit-Roeulx-Lez-Braine (PRB, 2,26), Taintignies-Brunehault (TBR, 2,29), et Ormegnies (ORM, 2,52). Les individus de Petit-Roeulx-Lez-Braine (PRB),

Beloeil A (BELa), Fumal (FUM) et Villers-Sur-Lesse (VSL) ont une hétérozygotie observée nettement inférieure à l'hétérozygotie attendue, signifiant un excès d'homozygotes au sein de ces stations. Cet excès d'homozygotes pourrait être assimilé à une valeur forte de l'indice Fis, donnant indirectement une information sur la consanguinité. Une autre hypothèse serait celle d'une sous-structuration au sein des différentes mares qui composent ces stations. En ce qui concerne les Fis, la situation la plus critique est observée dans les stations de Templeuve b (TEMb : 0,5811, IC : 0,3558 ; 0,8097), Petit-Roeulx-Lez-Braine (PRB : 0,3512, IC : 0,2726 ; 0,4301), Comogne (COM : 0,5233, IC : 0,3165 ; 0,7119). La plupart des autres stations possède un intervalle de confiance pour le Fis compris entre 0 et 0,15 (Tab. 1).

Tableau 1 – Paramètres de diversité génétique au sein des sites. N = nombre d'individus ; A = nombre d'allèles ; % = pourcentage d'allèles total observé ; Ar = richesse allélique ; Ho = hétérozygotie observée ; He = hétérozygotie attendue ; HWE = adéquation à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ; Fis = coefficient de consanguinité ; IC Fis bas = valeur inférieure de l'intervalle de confiance du Fis ; IC Fis haut = valeur supérieure de l'intervalle de confiance du Fis. Les étiquettes sur la deuxième colonne indiquent les stations étudiées.

Table 1 – Genetic diversity parameters within sites. N = number of individuals; A = number of alleles; % = percentage of total observed alleles; Ar = allelic richness; Ho = observed heterozygosity; He = expected heterozygosity; HWE = Hardy-Weinberg equilibrium adequacy; Fis = inbreeding coefficient; Fis low CI = lower confidence interval value of Fis; Fis high CI = upper confidence interval value of Fis. The labels on the second column indicate the studied stations.

Région naturelle	Station	N	A	%	Ar	Ho	He	HWE	Fis	IC Fis bas	IC Fis haut
Région limoneuse hennuyère	TBR	10	20	21,51	2,29	0,44	0,39	0,4213	-0,1069	-0,3215	0,1012
Région limoneuse hennuyère	TEMa	13	37	39,97	3,99	0,57	0,64	0,1399	0,1076	-0,0495	0,251
Région limoneuse hennuyère	TEMb	10	33	35,02	3,56	0,26	0,63	1,00E-04	0,5811	0,3558	0,8097
Région limoneuse hennuyère	VAU	22	40	43,49	3,81	0,5	0,61	4,00E-04	0,1863	0,0507	0,3202
Région limoneuse hennuyère	ORM	11	21	22,87	2,52	0,43	0,44	0,1041	0,0286	-0,2047	0,1906
Région limoneuse hennuyère	BELa	19	45	47,69	4,33	0,49	0,66	0,0071	0,2549	0,1082	0,403
Région limoneuse hennuyère	BELb	15	41	42,51	4,12	0,6	0,61	0,1308	0,0231	-0,1138	0,1401
Région limoneuse hennuyère	PRB	43	24	24,53	2,26	0,38	0,45	0	0,3512	0,2726	0,4301
Région limoneuse hennuyère	BEC	19	43	44,95	4,16	0,57	0,63	0,6309	0,0909	-0,0248	0,1942
Région limoneuse hennuyère	FAS	19	40	41,85	4,07	0,63	0,63	0,9821	-0,008	-0,1376	0,1144
Hesbaye	FUM	10	29	30,73	3,34	0,41	0,64	0,0168	0,3573	0,1664	0,5301
Hesbaye	MAZ	11	21	22,18	2,53	0,58	0,51	0,8482	-0,1362	-0,3657	0,0969
Fagne- Famenne	ROM	17	47	48,97	4,6	0,6	0,67	0,711	0,1056	-0,0253	0,2206
Fagne- Famenne	BAQ	19	29	30,66	3,16	0,52	0,54	0,8154	0,0366	-0,0634	0,1463
Fagne- Famenne	GQU	44	38	40,75	3,63	0,51	0,58	0	0,1241	0,0198	0,227
Fagne- Famenne	VSL	10	27	28,52	2,9	0,35	0,57	0,0191	0,3863	0,1096	0,6462
Fagne- Famenne	COM	16	33	35,09	3,22	0,27	0,58	0	0,5233	0,3165	0,7119
Calestienne	CMMa	18	33	35,97	3,53	0,56	0,58	0,7125	0,027	-0,1343	0,1851
Calestienne	CMMb	16	35	36,06	3,74	0,49	0,63	0,001	0,219	0,0577	0,3868
Ardenne	JOU	19	32	33,25	3,66	0,72	0,68	0,016	0,1171	0,0454	0,1782
Lorraine	PDMb	20	37	38,27	3,8	0,5	0,62	7,00E-04	0,188	0,028	0,3379

Différenciation génétique

L'indice D_{jost} , indiquant la différenciation génétique entre deux stations, varie entre 0,0006 (entre Beloeil a et b, IC : -0,0298 ; 0,0528) et 0,4947 (entre Taintignies-Brunehault et Plate-dessous-les-Monts b, IC : 0,34 ; 0,6362) (Fig. 5). Les stations ayant le D_{jost} le plus faible sont les stations qui ont une grande proximité géographique (distance inférieure à deux kilomètres) comme Beloeil a et b (0,0006, IC : -0,0298 ; 0,0528), Templeuve a et b (0,0016, IC : -0,061 ; 0,1283), Camp militaire de

Marche-en-Famenne a et b (0,0228, IC : -0,0175 ; 0,0861). En général, les individus provenant des stations situées dans le Hainaut présentent une faible différenciation génétique entre eux, avec des valeurs inférieures à 0,15. En comparaison, cette différenciation génétique est plus élevée entre les individus des stations situées hors du Hainaut. Les D_{jost} significativement supérieurs à 0,25 se retrouvent majoritairement dans les comparaisons incluant la station de Comogne et des stations du Hainaut (Fig. 5). Les D_{jost} les plus faibles se retrouvent dans les comparaisons incluant des

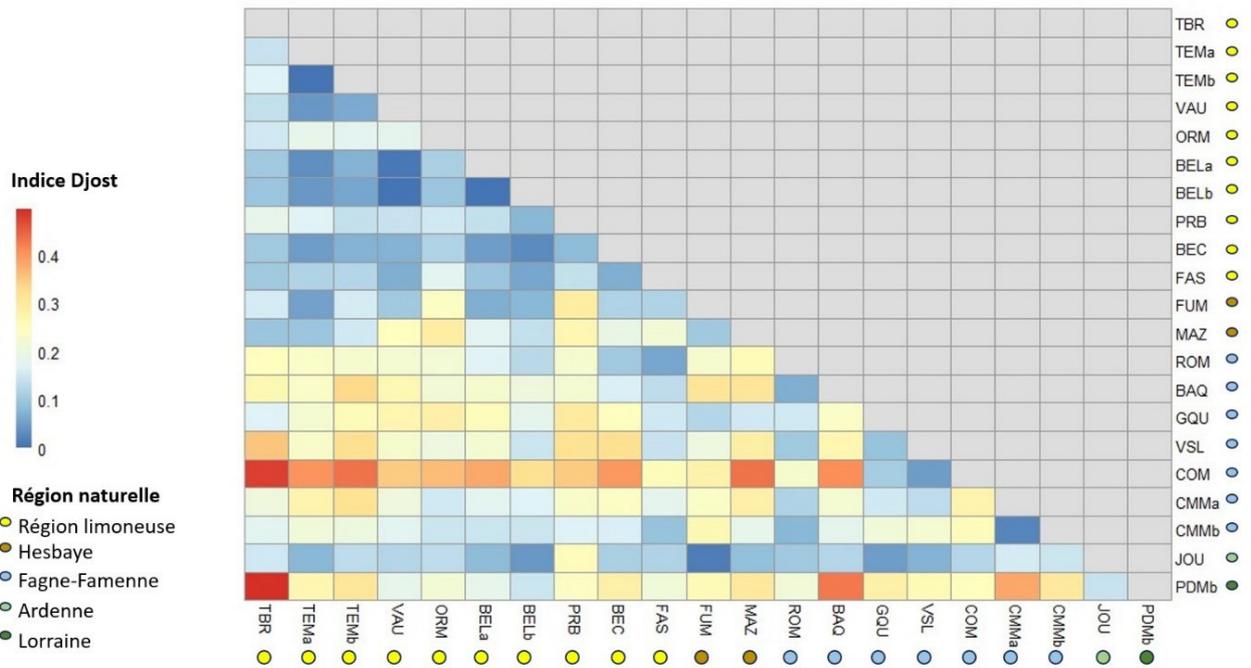


Figure 5 - Différenciation génétique (Djost) entre les différents sites étudiés. La différenciation génétique (Djost) est représentée par une palette de couleurs allant du bleu (faible différenciation génétique) au rouge (forte différenciation génétique), avec des nuances intermédiaires pour indiquer les niveaux de différenciations. Les étiquettes sur les axes des lignes et des colonnes indiquent les stations étudiées.

Figure 5 - Genetic Differentiation (Djost) Between the Different Study Sites. Genetic differentiation (Djost) is represented by a color palette ranging from blue (low genetic differentiation) to red (high genetic differentiation), with intermediate shades indicating levels of differentiation. The labels on the row and column axes indicate the study stations.

sites proches, comme entre les stations Beloeil a et b (0, IC : -0,0298 ; 0,0528). Les tendances observées pour le G'st sont similaires. Les indices de différenciations génétiques et leurs intervalles de confiance pour chaque station sont disponibles dans la section matériel supplémentaire (S2).

Test d'isolation par la distance

À la suite de l'analyse du test de Mantel (1967), une corrélation positive significative a été observée entre la distance génétique (mesurée par $F_{st}/(1-F_{st})$) et la distance géographique (mesurée par son logarithme, en mètres), avec un coefficient de corrélation de 0,248 et une p-valeur de 0,01 (S3).

DISCUSSION

Considérations générales

Les résultats obtenus contribuent à notre compréhension de l'organisation génétique de l'espèce tant à l'échelle des grandes régions naturelles qu'à des niveaux plus locaux. Les Tritons crêtés de l'ouest de la région wallonne sont génétiquement différents des autres présents en

Wallonie. De plus, il existe des groupes distincts à un niveau local, ce qui montre des variations au sein d'une même région. Les résultats de Cox *et al.* (2021) principalement obtenus en Flandre (Belgique) confirment des observations similaires.

Notre analyse de la diversité génétique des Tritons crêtés en Wallonie révèle des variations cohérentes avec celles observées dans d'autres régions européennes, comme en Saxe, en Flandre ou en Alsace (Meyer & Grosse 2007, Schön *et al.* 2011, Vacher & Ursenbacher 2014). Par ailleurs, les résultats obtenus en Wallonie, tels que la richesse allélique et les valeurs d'hétérozygotie, sont globalement cohérents avec ceux rapportés pour *Triturus marmoratus* (Jehle *et al.* 2005), *Triturus carnifex* (Maletzky *et al.* 2009) et *Triturus dobrogicus* (Mikulíček *et al.* 2012). Cependant, les études peuvent utiliser des marqueurs différents, comme des microsatellites spécifiques à *Triturus cristatus*, qui ne s'amplifient pas systématiquement chez les autres espèces du genre *Triturus*. Malgré ces différences méthodologiques, les tendances observées restent intéressantes pour comparer certains niveaux de diversité génétique, bien que certaines variations puissent s'expliquer par des

histoires biogéographiques distinctes, caractérisées par des périodes de fragmentation des habitats et des effets de bordure géographique. Plus spécifiquement, il a été suggéré que les populations d'amphibiens situées loin des refuges glaciaires historiques sont généralement plus vulnérables en raison d'une diversité génétique globalement plus faible. Ce facteur souligne l'importance de prendre en compte la génétique des populations dans une approche intégrée de la conservation (Dufresnes & Perrin 2015).

En Wallonie, l'indice de différenciation génétique révèle des variations significatives entre populations, témoignant de flux géniques limités entre certaines stations. Cette structuration génétique est corroborée par la corrélation observée entre distances génétiques et géographiques, comme le confirment les études de Mikulíček *et al.* (2012) et Jehle *et al.* (2005). De manière similaire, Cox *et al.* (2021) ont mis en évidence l'influence des caractéristiques géographiques, telles que les barrières naturelles et l'isolement des populations, sur la structuration génétique des Tritons crêtés.

En parallèle, nous avons identifié plusieurs schémas génétiques distincts. Ces constats sont illustrés dans les sections suivantes à travers des exemples spécifiques observés.

Les signaux d'une faible diversité génétique

L'ensemble des Tritons crêtés analysés pour les stations de Famenne présentent globalement des indices de diversité génétiques faibles et une grande différenciation génétique avec l'ensemble des autres stations, même les plus proches géographiquement, suggérant un isolement important. Toutefois, il faut considérer que l'excès d'homozygotes, tout comme les valeurs de diversité génétique, pourraient être influencés par un échantillonnage inégal qui aurait pu sélectionner un nombre disproportionné d'individus présentant des similarités génétiques (Wielstra *et al.* 2013, Wang 2018). Cependant, l'exploration de l'historique de la zone pourrait apporter des éclaircissements sur l'état actuel des populations de Famenne et permettre de formuler d'autres hypothèses explicatives à ce résultat. Dans les années 2000, ces populations ont connu un déclin important (com. pers. T. Kinet 2023). Malgré la mise en place de projets de restauration de l'habitat, comme le Projet Life Prairies Bocagères (Goret 2020), il est probable que les effets de ces actions n'aient pas été suffisamment rapides pour stopper la

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

Une population isolée, en bonne santé génétique

Les Tritons crêtés des stations de Lorraine belge s'associent pour former un groupe génétique unique qui se différencie nettement des autres groupes wallons. Cependant, cet isolement géographique en Wallonie ne semble pas nécessairement entraver la santé génétique de la population. Un échantillonnage complémentaire serait intéressant afin d'estimer de manière plus précise l'évolution de cette population et ses potentielles connexions avec celles des pays voisins.

Tout comme en Famenne, des actions de conservation ont récemment été entreprises dans cette région de Wallonie, notamment via des creusements de mares. Dans ce cas, les mesures semblent avoir été prises à temps et ont permis aux populations de se maintenir. Cependant, il convient de noter que les mares nouvellement (re)creusées, sont rarement colonisées par les Tritons crêtés au cours des premières années. Ces amphibiens ont notamment une préférence pour les étendues d'eau plus anciennes présentant un réseau trophique bien établi (Braconnier 2015, com. pers. T. Kinet 2023). Ainsi, il serait judicieux de suivre l'évolution de ces mares plusieurs années après leur creusement. Cette démarche permettrait d'orienter les actions de gestion et de conservation vers une approche plus réfléchie et prudente, visant à minimiser les effets négatifs potentiels lors du recreusement des mares partiellement atterries destinées à accueillir les Tritons crêtés.

Des réseaux de mares favorables à l'espèce

Nous avons également pu analyser la situation à une échelle plus restreinte, notamment au sein du Camp militaire de Marche-en-Famenne. Ce site est

particulièrement intéressant puisqu'il comprend un grand nombre de mares qui forment un réseau particulièrement dense. Cette organisation permet de considérer les tritons qui les fréquentent comme une métapopulation puisque l'absence de structuration génétique indique clairement que la proximité des mares encourage leur dispersion, favorisant des échanges génétiques essentiels à la diversité de l'espèce. En parallèle, une étude réalisée au sein de cette population, la plus grande de Wallonie, a mis en évidence une forte infidélité aux sites de reproduction et la coexistence de deux phénotypes de dispersion chez les Tritons crêtés : un phénotype fidèle aux mares et un phénotype dispersant (Denoël *et al.* 2018).

Ces échanges génétiques sont soutenus par la dynamique induite par le régime militaire, générant des ornières et des mares temporaires, favorisant ainsi la dispersion des tritons. Plus largement, nos résultats confirment l'importance des flux génétiques lorsque les mares sont proches et forment un réseau, comme c'est également observé au sein des mares des deux stations de Beloeil. Ces constatations soulignent l'importance de la proximité géographique dans les échanges génétiques au sein des populations de Tritons crêtés. C'est d'ailleurs ce qui a été observé dans l'étude de Cox *et al.* (2021), où la distance à la mare la plus proche explique significativement la richesse allélique observée, une observation également confirmée dans notre propre étude.

Une situation globalement contrastée

Globalement, les populations de Tritons crêtés de l'ouest de la Wallonie (province du Hainaut) montrent une connectivité génétique supérieure comparée à celles d'autres régions wallonnes. Elles possèdent les indices de diversité génétique les plus encourageants (à l'exception des stations de Taintignies-Brunehault et Petit-Roeulx-Lez-Braine), malgré le fait que cette région soit parmi les plus urbanisées en Wallonie. Cela rend la distinction entre ces populations peu marquée, indiquant des échanges génétiques et une connectivité plus élevée. Une hypothèse plausible est que ces populations seraient issues de groupes séparés depuis relativement peu de temps. Elles pourraient ainsi conserver certaines similarités génétiques.

Certaines populations de cette zone, comme les Tritons crêtés de la station de Fosse-aux-sables se démarquent particulièrement en termes d'indices de diversité et de différenciation génétique.

Inversement, les tritons de Petit-Roeulx-Lez-Braine, situés à la limite du Brabant wallon, forment un groupe distinct se séparant du reste des échantillons à tous les niveaux d'analyses. L'isolement, reflété par le taux élevé de consanguinité ainsi que la faible diversité génétique de l'ensemble des individus de cette station renforce l'hypothèse qu'elle proviendrait d'un nombre restreint d'individus fondateurs. Les individus de Petit-Roeulx-Lez-Braine pourraient éventuellement provenir d'une réintroduction à partir de populations extérieures à la Wallonie. Les translocations officieuses de cet urodèle semblent en effet plus répandues qu'on ne le pense (com. pers. É. Graitson 2023).

Des implications de gestion

La préservation du Triton crêté requiert une approche stratégique, capitalisant sur les connaissances génétiques et adoptant des mesures de gestion durables. En effet, les avancées dans la structuration et la santé génétique de l'espèce offrent des outils précieux pour guider les efforts de conservation. Parallèlement, il est impératif que les mesures de gestion adoptées soient conçues pour produire des résultats durables sur le long terme étant donné la longévité de cette espèce et le temps nécessaire à l'établissement des réseaux trophiques propices à ce triton dans les mares (Langton *et al.* 2001).

La conservation des habitats

L'entretien des mares, notamment par le curage et l'élimination contrôlée de la végétation, est essentiel pour maintenir des conditions environnementales favorables et éviter l'accumulation de matières organiques qui pourrait réduire l'oxygénation de l'eau (Denoël & Ficetola 2008). De plus, la création de zones tampons et l'adoption de pratiques agricoles extensives aux alentours des habitats aquatiques favorise la conservation du cœur de ces habitats, renforçant ainsi les efforts de conservation génétique (Murcia 1995, Langton *et al.* 2001). En favorisant la préservation de ces habitats et réduisant les pressions environnementales, non seulement nous contribuons à assurer la survie des Tritons crêtés, mais nous favorisons également des conditions propices à une bonne santé génétique au sein de leurs populations (Denoël *et al.* 2013). Les résultats génétiques obtenus dans certaines stations (TEMa, TEMb, VAU, PDMa, ETA, NOB), pourraient être interprétés en partie comme le reflet des conditions environnementales observées, notamment dans des mares presque atterries. Bien

que cette observation ne puisse être affirmée avec certitude sans analyses complémentaires, elle souligne l'importance de l'entretien des habitats aquatiques dans une perspective plus large de conservation.

Il serait pertinent pour des études futures d'examiner plus en détail la résilience de l'espèce face aux changements environnementaux, notamment en étudiant les adaptations des Tritons crêtés à différentes conditions biotiques et abiotiques. Les données antérieures suggèrent que les tritons peuvent avoir un succès reproducteur plus élevé dans des mares connectées par des réseaux de petits plans d'eau, comparativement aux mares isolées (Langton *et al.* 2001). D'autres facteurs écologiques tels que les caractéristiques du paysage (présentes et passées) et de la mare influencent la variation spatiale de l'abondance du Triton crêté (Denoël *et al.* 2013). Cette adaptabilité pourrait jouer un rôle clé dans leur capacité à faire face à des habitats en déclin ou en transformation.

Les réseaux écologiques

Notre étude contribue à mettre en évidence les bénéfices du maintien des réseaux écologiques via le maillage de mares pour la conservation des Tritons crêtés (Jacob *et al.* 2007, Baker *et al.* 2011). Ces espèces vivent généralement en métapopulations, ce qui souligne la nécessité de maintenir un flux de gènes à travers la dispersion et la connexion entre les sites de reproduction (Miaud 1990, Jehle 2000). L'établissement de réseaux de mares est donc recommandé pour faciliter les déplacements des tritons. En effet, une proximité accrue avec les points d'eau voisins favorise un flux génique plus important, ce qui se traduit par une plus grande diversité allélique (Cox *et al.* 2021). Des illustrations du succès de cette méthode sont trouvées dans les stations de Beloeil, Grand-Quarti et dans le Camp Militaire de Marche-en-Famenne, où de nombreux échanges existent entre les tritons des différentes mares qu'ils abritent. Le renouvellement des populations est d'ailleurs directement corrélé avec la proximité entre les habitats aquatiques (Werner *et al.* 2007), notamment puisque la dispersion représente un coût énergétique. Sans cette connexion, chaque plan d'eau fonctionne comme une unité populationnelle distincte.

Diversifier les habitats de reproduction en multipliant les points d'eau offre également une solution face à la menace croissante d'assèchement des points d'eau en Belgique et ailleurs en Europe. Par

conséquent, le recreusement des mares existantes et la mise en place de nouvelles mares, particulièrement à proximité de celles en cours de comblement, sont des stratégies essentielles pour minimiser les risques d'extinction locale (com. pers. T. Kinet 2023). La création du réseau (Jacob *et al.* 2007, Baker *et al.* 2011) peut être envisagée sur toutes les stations, avec une attention pour les sites isolés autant géographiquement (Joncret, Mazy, Fumal, Journal dans notre étude) qu'à la suite de facteurs abiotiques (Ormegnies et Taintignies-Brunehault dans notre étude). L'approche pour la création de ces nouvelles mares doit être analytique, en sélectionnant stratégiquement les emplacements qui optimisent les chances de recolonisation naturelle et la connectivité à long terme. Cette diversification des habitats de reproduction contribue ainsi à renforcer la résilience des populations face aux fluctuations environnementales.

Les translocations d'individus

Les translocations d'individus représentent une stratégie de gestion pertinente pour les populations de Tritons crêtés, particulièrement pour celles confrontées à des problèmes de santé génétique. Des exemples de succès de translocations ont été documentés tels que des programmes de réintroduction de Triton crêtés en Angleterre (Edgar *et al.* 2005) ainsi que des opérations menées dans le cadre du projet Life in Quarries, visant à réintroduire des Tritons crêtés dans des carrières wallonnes (Taymans 2021). Toutefois, les individus transloqués pourraient ne pas être bien adaptés à leur nouvel environnement et la transmission de leurs allèles potentiellement mal adaptés aux populations autochtones, pourrait entraîner leur déclin. De plus, ces translocations présentent un risque de transfert de plantes envahissantes ou de maladies, comme la chytridiomycose. Il est donc essentiel de privilégier l'amélioration du statut des populations existantes avant de recourir à ces mesures, notamment via la reconnexion des stations possédant des indices de diversité génétique peu élevés (Langton *et al.* 2001, Edgar *et al.* 2005).

Les populations sources doivent être sélectionnées avec soin pour éviter l'introduction d'individus consanguins, rester géographiquement cohérentes et maximiser la diversité génétique. Les stations caractérisées par une forte connectivité et une grande diversité génétique (comme Beloeil et Fosseaux-sables) sont recommandées comme populations sources pour les translocations. La mise en place d'un protocole rigoureux est cruciale, y compris

une analyse pathogène préalable pour assurer la santé des individus transloqués. Les interventions doivent être réalisées de manière séquentielle sur plusieurs années pour garantir l'établissement d'une population viable et structurée. Les stades de développement précoces, tels que les œufs et les têtards, sont préférés pour les translocations car ils présentent des risques plus faibles pour les populations adultes (Langton *et al.* 2001).

L'accent devrait être placé sur le renforcement des populations isolées (Joncret, Ormegnies, Taintignies-Brunehault et Petit-Roelx-Lez-Braine), aux populations dont les indices de diversité génétiques sont bas (Comogne, Fumal, Templeuve) et aux plus petits effectifs (Yvoir, Rostenne, Gesves, Thon), qui sont plus sujettes aux phénomènes stochastiques et ont un risque d'extinction plus importants (Llams 2000). Dans tous les cas, la documentation rigoureuse de ces actions ainsi que la participation des experts, des gestionnaires des espaces naturels et des parties prenantes locales sont essentielles pour assurer la réussite de ces actions de conservation sur le long terme.

Bien qu'une partie des populations présente un degré élevé de flux génique et une diversité génétique accrue, il est crucial de poursuivre les efforts de conservation pour assurer un avenir durable aux populations de Tritons crêtés et d'autres espèces d'amphibiens. La préservation des habitats, la facilitation des échanges génétiques entre les populations et le suivi régulier des populations sont des éléments essentiels pour assurer la conservation à long terme de cette espèce.

Pour conclure, notre étude souligne l'importance d'une approche intégrée, combinant compréhension de la structuration génétique et des préférences écologiques du Triton crêté pour développer des stratégies de conservation efficaces et assurer la pérennité de cette espèce emblématique. Notre étude met en lumière la nécessité de poursuivre une approche multifactorielle qui prend en compte la génétique pour développer des stratégies de conservation efficaces.

Remerciements : Cette recherche a été rendue possible grâce au financement du Service Public de Wallonie (SPW, Belgique), sous l'égide d'Eric Joiris. Nos remerciements les plus sincères vont également à Natagora (Namur, Belgique), en particulier à Cécile Van Vyve, assistante de projets ; Hélène Ghyselinck, chargée de mission ainsi qu'à tous les bénévoles pour leur collaboration précieuse à cette recherche. Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance envers Thierry Kinet pour ses éclairages précieux en matière de gestion. Nous adressons nos remerciements spéciaux à Hellyne Reinertz pour son assistance dans les manipulations en laboratoire.

En outre, nous exprimons notre gratitude envers les relecteurs pour leurs remarques et critiques constructives, ainsi qu'à toutes les personnes qui ont contribué à ce projet par leurs conseils et leur bienveillance. Enfin, nous tenons à remercier chaleureusement tous les lecteurs pour l'intérêt qu'ils portent à notre travail.

Contribution des auteurs : Anaïs Beaumariage et Alix Attaque ont collecté et analysé les données. Anaïs Beaumariage a procédé à la rédaction du manuscrit. Lise-Marie Pigneur a participé à concevoir la méthodologie d'analyse des données et à la collecte de ces dernières. Éric Graitson a conçu et validé le plan d'échantillonnage, participé à la révision profonde des analyses, à l'interprétation des données et à la rédaction du manuscrit. Johan Michaux a participé à la révision des analyses et à l'interprétation des données. Tous les auteurs ont contribué de manière critique aux ébauches et ont donné leur approbation finale pour la publication.

Ethique : Toute la campagne de terrain s'est réalisée dans le respect de la dérogation obtenue auprès du Service Public Environnement de Wallonie. Réf. : déro 2023-RS-10 - Triton crêté.

REFERENCES

- Angelone S. (2010). Are Differences in Fitness Traits Related to Genetic Clusters? An Empirical Test on the European Tree Frog. *Biological Conservation*, **143**: 471-478. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.11.014>.
- Arntzen J. W., Themudo G. E. & Wielstra B. (2007). The phylogeny of crested newts (*Triturus cristatus* superspecies): nuclear and mitochondrial genetic characters suggest a hard polytomy, in line with the paleogeography of the centre of origin. *Contributions to Zoology*, **76**(4): 261-278. <https://doi.org/10.1163/18759866-07604005>.
- Babik W., Branicki W., Crnobrnja-Isailović J., Cogălniceanu D., Sasl., Olgun K., Poyarkov N.A., Garcia-Paris M. & Arntzen J. W. (2005). Phylogeography of two European newt species—discordance between mtDNA and morphology. *Molecular Ecology*, **14**(8): 2475-2491. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02605.x>.
- Baker J., Beebee T., Buckley J., Gent T. & Orchard D. (2011). *Amphibian Habitat Management Handbook*. Amphibian and Reptile Conservation, Bournemouth. ISBN 978-0-9566717-0-7.
- Beebee T. & Griffiths R. (2005). The Amphibian Decline Crisis: A Watershed for Conservation Biology? *Biological Conservation*, **125**: 271-285. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.04.009>.
- Besnier F. & Glover A. (2013). ParallelStructure: A R Package to Distribute Parallel Runs of the Population Genetics Program STRUCTURE on Multi-Core Computers. *PLoS ONE*, **8**: e70651. Anisimova M (Eds). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070651>.
- Braconnier M. (2015). Établissement et proposition d'amélioration du réseau écologique lié au Triton crêté (*Triturus cristatus*) en Lorraine belge. Mémoire de fin d'études. Université de Liège Gembloux Agro-Bio Tech. 96pp.
- Broquet T., Berset-Braendli L., Emaresi G. & Fumagalli L. (2007). Buccal Swabs Allow Efficient and Reliable Microsatellite Genotyping in Amphibians. *Conservation*

- Genetics*, **8**: 509-511. <https://doi.org/10.1007/s10592-006-9180-3>.
- Conseil de l'Europe. 1979. *Convention relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe*. Vol. 038.
- Cox K., Denoël M., Van Calster H., Speybroeck J., Van de Poel S., Lewylle I., Verschaeve L, Van Breusegem A., Halfmaerten D., Adriaens D. & Louette G. (2021). Scale-Dependent Effects of Terrestrial Habitat on Genetic Variation in the Great Crested Newt (*Triturus cristatus*). *Landscape Ecology*, **36**: 3029-3048. <https://doi.org/10.1007/s10980-021-01297-5>.
- Dejean T., Miaud C. & Ouellet M. (2007). Proposition d'un protocole d'hygiène pour réduire les risques de dissémination d'agents infectieux et parasitaires chez les amphibiens lors d'intervention sur le terrain. *Bulletin de la Société Herpétologique de France*, **134**: 27-46.
- Denaeghel J. (2023). *Life Belgian Nature Integrated Project*. LIFE 14 IPE BE 002 BNIP. (Rapport Agence des Forêts et de la Nature, SPW Agriculture, Ressources naturelles et Environnement, Service public fédéral Santé publique, Sécurité de la Chaîne alimentaire et Environnement, Natuurinvest, Natuurpunt Beheer, Natagora et Natagriwal).
- Denoël M. & Ficetola G. F. (2008). Conservation of Newt Guilds in an Agricultural Landscape of Belgium: The Importance of Aquatic and Terrestrial Habitats. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **18**: 714-728. <https://doi.org/10.1002/aqc.853>.
- Denoël M. (2012). Newt decline in Western Europe: highlights from relative distribution changes within guilds. *Biodivers Conserv*, **21**(11): 2887-2898. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0343-x>.
- Denoël M., Perez A., Cornet Y. & Ficetola G. F. (2013) Similar local landscape processes affect both a common and a rare next species. *Plos One*, **8**(5): e62727. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062727>.
- Denoël M., Dalleur S., Langrand E., Besnard A. & Cayuela H. (2018) Dispersal and alternative pond fidelity strategies in an amphibian. *Ecography*, **41**: 1-13. <https://doi.org/10.1111/ecog.03296>.
- Dufresnes C., & Perrin N. (2015). Effect of biogeographic history on population vulnerability in European amphibians. *Conservation biology*, **29**(4): 1235-1241. <https://doi.org/10.1111/cobi.12490>.
- Earl D. & vonHoldt B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, **4**: 359-361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>.
- Edgar P. W., Griffiths R. A. & Foster J. P. (2005). Evaluation of Translocation as a Tool for Mitigating Development Threats to Great Crested Newts (*Triturus cristatus*) in England, 1990-2001. *Biological Conservation*, **122**: 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2004.05.022>.
- Evanno G., Regnaut S. & Goudet J. (2005). Detecting the Number of Clusters of Individuals Using the Software STRUCTURE: A Simulation Study. *Molecular Ecology*, **14**: 2611-2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>.
- Ferrais L. (2018). Monitoring de la qualité de l'habitat de reproduction du Triton crêté et de l'abondance de cette espèce dans des sites nouvellement créés ou restaurés en Fagne-Famenne dans le cadre du projet LIFE Prairies bocagères. (Rapport de stage. École de Biologie Université catholique de Louvain).
- Francis R.M. (2017). Pophelper: An R Package and Web App to Analyse and Visualize Population Structure. *Molecular Ecology Resources*, **17**: 27-32. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12509>.
- Gilbert K.J. (2016). Identifying the Number of Population Clusters with Structure: Problems and Solutions. *Molecular Ecology Resources*, **16**: 601-603. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12521>.
- Goret T. (2020). Le projet Life Prairies Bocagères : Bilan de 8 années d'actions en faveur de la biodiversité des prairies de Fagne Famenne. <https://www.lifeprairiesbocageres.eu/>. Consulté 27 février 2023.
- Graitson E., Morelle K & Feremans N. (2009). *La Vie des mares de nos campagnes*. AgriNature, 4. SPW / EDIWALL. ISBN:978-2-8056-0006-7.
- Graitson E., Goffart P. & Weiserbs A. (2023). La nouvelle liste rouge des amphibiens et reptiles de Wallonie. *L'écho des Rainettes*, **24**: 2-7.
- Haugen H., Dervo B. K., Ostbye K., Heggenes J., Devineau O. & Linlokken A. (2024). Genetic diversity, gene flow and landscape resistance in a pond-breeding amphibian in agricultural landscapes in Norway. *Evolutionary Applications*, **17**(1): e13633. <https://doi.org/10.1111/eva.13633>.
- Hewitt G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. (2000). *Nature* **405**, 907-913 <https://doi.org/10.1038/35016000>.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. (2023). IUCN Red List of Threatened Species: *Triturus cristatus*. IUCN Red List of Threatened Species 2023. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2023-1.RLTS.T22212A89706893.en>. Consulté le 26 juillet 2024.
- Jacob J.P., Percsy C., de Wavrin H., Graitson E., Kinet T., Denoël M., Paquay M., Percsy N. & Remacle A. (2007). *Amphibiens et Reptiles de Wallonie*. Aves - Rainne et Centre de Recherche de la Nature, des Forêts et du Bois (MRW - DGRNE): 1-384. ISBN: 2-87401-205-X.
- Janes J. K., Miller J. M., Dupuis J.R., Malenfant R. M., Gorrell J. C, Cullingham C. I. & Andrew R. L. (2017). The K = 2 Conundrum. *Molecular Ecology*, **26**: 3594-3602. <https://doi.org/10.1111/mec.14187>.
- Jehle R. (2000). The Terrestrial Summer Habitat of Ratio-Tracked Great Crested Newts (*Triturus cristatus*) and Marble Newts (*T. marmoratus*). *Herpetological Journal*, **10**:137-42.
- Jehle R. & Arntzen J. (2000). Post-breeding migrations of newts (*Triturus cristatus* and *T. marmoratus*)

- with contrasting ecological requirements. *Journal of Zoology*, **251**: 297-306. <https://doi.org/10.1017/S0952836900007032>.
- Jehle R., Wilson G. A., Arntzen J. W. & Burke T. (2005). Contemporary Gene Flow and the Spatio-Temporal Genetic Structure of Subdivided Newt Populations (*Triturus cristatus*, *T. marmoratus*). *Journal of Evolutionary Biology*, **18**: 619-28. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2004.00864.x>.
- Kazilas C., Dufresnes C., France J., Kalaentzis K., Martinez-Solano I., de Visser M. C., Arntzen J. W. & Wielstra B. (2024). Spatial genetic structure in European marble newts revealed with target enrichment by sequence capture. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **194**: 108043. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2024.108043>.
- Keenan K., McGinnity P., Cross T.F., Crozier W. W. & Prodöhl P. A. (2013). diveRsity: An R Package for the Estimation and Exploration of Population Genetics Parameters and Their Associated Errors. *Methods in Ecology and Evolution*, **4**: 782-88. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12067>.
- Kopelman N. M., Mayzel J., Jakobsson M., Rosenberg N. A. & Mayrose I. (2015). Clumpak: A Program for Identifying Clustering Modes and Packaging Population Structure Inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, **15**: 1179-91. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>.
- Krupa A. P., Jehle R., Dawson D. A., Gentle L. K, Gibbs M., Arntzen J. W. & Burke T. (2002). Microsatellite Loci in the Crested Newt (*Triturus cristatus*) and Their Utility in Other Newt Taxa. *Conservation Genetics*, **3**: 87-89. <https://doi.org/10.1023/A:1014239225553>.
- Langton T., Beckett C. & Foster J. (2001). Great Crested Newt Conservation Handbook. Froglife, Suffolk: 1-60.
- Liams C. W. (2000). Modelling population dynamics of great crested newts (*Triturus cristatus*): a population viability analysis. *Herpetological Journal*, **10**: 157-163.
- Lonsinger R.C. & Waits L.P. (2015). ConGenR: Rapid Determination of Consensus Genotypes and Estimates of Genotyping Errors from Replicated Genetic Samples. *Conservation Genetics Resources*, **7**: 841-43. <https://doi.org/10.1007/s12686-015-0506-7>.
- Maletzky A., Kaiser R. & Mikulíček P. (2009). Conservation Genetics of Crested Newt Species *Triturus cristatus* and *T. carnifex* within a Contact Zone in Central Europe: Impact of Interspecific Introgression and Gene Flow. *Diversity*, **2**:28-46. <https://doi.org/10.3390/d2010028>.
- Mantel N. (1967). The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach. *Cancer Research*, **27**: 209-220.
- Meyer S. & Grosse, W.-R. (2007). Populationsgröße, Altersstruktur und genetische Diversität einer Metapopulation des Kammmolches (*Triturus cristatus*) in der Kulturlandschaft Sachsen-Anhalts.
- Miaud C. (1990). La dynamique des populations subdivisées : étude comparative chez trois amphibiens urodèles (*Triturus alpestris*, *T. helveticus* et *T. cristatus*). *Bulletin De La Société Zoologique De France*, **116**: 75-78.
- Mikulíček P., Horák A., Zavadil V., Kautman J. & Piálek J. (2012). Hybridization between three crested newt species (*Triturus cristatus* superspecies) in the Czech Republic and Slovakia: comparison of nuclear markers and mitochondrial DNA. *Folia Zoologica*, **61**:202-18. <https://doi.org/10.25225/fozo.v61.i3.a4.2012>.
- Miller M. -A., Pfeiffer W. & Schwartz T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, **14**: 1-8. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>.
- Murcia C. (1995). Edge Effects in Fragmented Forests: Implications for Conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, **10**:58-62. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)88977-6](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)88977-6).
- Orizaola G., Quintela M. & Laurila A. (2010). Climatic Adaptation in an Isolated and Genetically Impoverished Amphibian Population. *Ecography*, **33**: 730-37. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2009.06033.x>.
- Pritchard J. K., Stephens M. & Donnelly P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, **155**: 945-59. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>.
- Pritchard J. K. & Wen W. (2003). Documentation for STRUCTURE software: Version 2. University of Chicago Press.
- QIAGEN. (2023). *QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook*. QIAGEN. 1-95.
- Rousset F. (1997). Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, **145**(4): 1219-1228. <https://doi.org/10.1093/genetics/145.4.1219>.
- Schleimer A., Cantù-Salazar L., Luttringer A. & Frantz A.C. (2024). Spatial distribution for crested newt conservation in Luxembourg : Insights from population genetics and species distribution modelling. *Ecological Solutions and Evidence*, **5**(1): e12310. <https://doi.org/10.1002/2688-8319.12310>.
- Schön I., Raepsaet A., Goddeeris B., Bauwens D., Mergeay J., Vanoverbeke J. & Martens K. (2011). High Genetic Diversity but Limited Gene Flow in Flemish Populations of the Crested Newt, *Triturus cristatus*. *Belgian Journal Of Zoology*, **141**: 3-13. <https://doi.org/10.26496/bjz.2011.160>.
- Sodhi N. S., Bickford D., Diesmos A. C., Ming Lee T., Pin Koh L., Brook B. W., Sekercioglu C. H. & Bradshaw C. J. A. (2008). Measuring the Meltdown: Drivers of Global Amphibian Extinction and Decline edited par R. Freckleton. *PLoS ONE*, **3**: e1636. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001636>.
- Stevens V. M. & Baguette M. (2008). Importance of Habitat Quality and Landscape Connectivity for the Persistence of Endangered Natterjack Toads. *Conservation Biology*, **22**: 1194-1204. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.00990.x>.
- Taymans J. (2021). Bilan des réintroductions du Triton crêté dans plusieurs carrières du projet LIFE in Quarries (LIFE14 NAT/BE/000364) à partir de populations sources préalablement étudiées. (Rapport de Natagora).

Vacher J. -P. & Ursenbacher S. (2014). Structuration et diversité génétiques du Triton crêté, *Triturus cristatus*, en Alsace. (Rapport de BUFO, DREAL Alsace et Uni Basel). 27pp.

Van Oosterhout C., Hutchinson W. F., Wills D. P. & Shipley P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular ecology notes*, **4**(3): 535-538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>

Wang J. (2018). Effects of Sampling Close Relatives on Some Elementary Population Genetics Analyses. *Molecular Ecology Resources*, **18**: 41-54. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12708>.

de Wavrin H. (2003). Habitats préférentiels des Tritons en Moyenne-Belgique. *Les Naturalistes Belges*, **84**: 1-14.

Wielstra B., Crnobrajica-Isailović J., Litvinchuk S. N., Reijnen B. T., Skidmore A. K., Sotiropoulos K., Toxopeus A.G, Tzankov N., Vukov T. & Arntzen J. W. (2013). Tracing glacial refugia of *Triturus* newts based on mitochondrial DNA phylogeography and species distribution modeling. *Frontiers in zoology*, **10**: 1-14. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-10-13>

Wielstra B., McCartney-Melstad E., Arntzen J. W., Butlin R. K., Shaffer H. B. (2019). Phylogenomics of the adaptive radiation of *Triturus* newts supports gradual ecological niche expansion towards an incrementally aquatic lifestyle. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **133**: 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.12.032>.

Wielstra B. & Arntzen J. W. (2020) Extensive cytonuclear discordance in a crested newt from the Balkan Peninsula glacial refugium. *Biological Journal of the Linnean Society*. **130**(3):578-585. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blaa062>.

Date de soumission : vendredi 9 août 2024

Date d'acceptation : mardi 5 août 2025

Date de publication : mercredi 17 septembre 2025

Editeur-en-Chef : Jérémie SOUCHET

Editeurs associés : Eric BONNAIRE et Jérémie SOUCHET

Relecteur : Philippe GENIEZ

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE S1

S1 – Détails des différents sites prospectés. Nbr mares = nombre de mares échantillonnées ; N éch 2019 = nombre d'échantillon récolté en 2019 ; N éch 2023 = nombre d'échantillons récoltés en 2023 ; N éch Tot = nombre d'échantillon total récolté ; N génotypes >5 marqueurs = Nombre d'échantillons dont le génotype contient plus de 5 marqueurs détecté (contenant donc moins de 6 valeurs manquantes).

S1 - Details of the different surveyed sites. Nbr mares = number of sampled ponds; N ech 2019 = number of samples collected in 2019; N ech 2023 = number of samples collected in 2023; N ech Tot = total number of samples collected; N genotypes >5 markers = Number of samples with genotypes containing more than 5 detected markers (thus containing less than 6 missing values).

Province	Région naturelle	Station	Code site	Nbr mares	N éch. 2019	N éch. 2023	N éch. Tot.	N génotypes
HAINAUT								
Hainaut	Région limoneuse	Peronnes	PER	1	7	0	7	6
Hainaut	Région limoneuse	Taintignies-Brunehaut	TBR	1	8	9	17	10
Hainaut	Région limoneuse	Templeuve a	TEMA	1	8	7	15	13
Hainaut	Région limoneuse	Templeuve b	TEMB	1	0	23	23	10
Hainaut	Région limoneuse	Vaulx	VAU	3	12	17	29	22
Hainaut	Région limoneuse	Peruwelz	PRZ	2	2	0	2	2
Hainaut	Région limoneuse	Marionville	MRN	3	0	7	7	7
Hainaut	Région limoneuse	Ormegnies	ORM	1	0	11	11	11
Hainaut	Région limoneuse	Beloeil a	BELA	6	22	0	22	19
Hainaut	Région limoneuse	Beloeil b	BELB	4	15	0	15	15
Hainaut	Région limoneuse	Petit-Roeulx-Lez-Braine	PRB	2	45	0	45	43
Hainaut	Région limoneuse	Chemin d'Horrues	CHE	2	0	20	20	9
Hainaut	Région limoneuse	Barrière d'Ecaussinnes	BEC	1	19	0	19	19
Hainaut	Région limoneuse	Ecaussinnes	ECA	1	4	0	4	3
Hainaut	Condroz	Joncret	JON	1	5	0	5	5
Hainaut	Région limoneuse	Fosse aux Sables	FAS	4	0	20	20	19
LIEGE								
Liège	Hesbaye	Fumal	FUM	2	0	12	12	10
Liège	Hesbaye	Hermalle	HER	2	0	3	3	0
NAMUR								
Namur	Hesbaye	Mazy (Gembloux)	MAZ	4	13	0	13	11
Namur	Condroz	Rostenne	ROS	1	1	0	1	1
Namur	Condroz	Yvoir	YVO	1	1	0	1	1
Namur	Condroz	Thon	THO	1	0	2	2	2
Namur	Condroz	Gesves	GES	1	4	0	4	3
Namur	Condroz	Sorée ouest	SORA	3	0	10	10	7
Namur	Condroz	Sorée est	SORB	2	0	10	10	5
Namur	Fagne-Famenne	Romedenne	ROM	2	18	0	18	17
Namur	Fagne-Famenne	Baquet	BAQ	3	12	7	19	19
Namur	Fagne-Famenne	Grand Quarti	GQU	5	9	37	46	44
Namur	Fagne-Famenne	Comogne	COM	3	0	20	20	16
Namur	Fagne-Famenne	Villers sur Lesse	VSL	1	0	20	20	10
Namur	Fagne-Famenne	Winenne	WIN	1	0	0	0	0
Namur	Fagne-Famenne	Mariembourg	MRG	2	0	8	8	6
Namur	Fagne-Famenne	Camp militaire de Marche	CMM	>6	0	41	41	34
LUXEMBOURG								
Luxembourg	Ardenne	Journal (la Roche)	JOU	1	19	0	19	19
Luxembourg	Lorraine	Hachy	HAC	2	0	2	2	0
Luxembourg	Lorraine	Etalle	ETA	2	0	0	0	0
Luxembourg	Lorraine	Plate Dessous les Monts 1	PDMA	2	3	1	4	4
Luxembourg	Lorraine	Plate Dessous les Monts 2	PDMB	4	0	20	20	20
Luxembourg	Lorraine	Nobressart	NOB	3	0	6	6	2

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE S2

S2 - Valeurs de différenciation génétique entre les sites.

BC_mean = Moyenne ; BC_Lower_95%CI = intervalle de confiance inférieur ; BC_Upper_95%CI = intervalle de confiance supérieur.

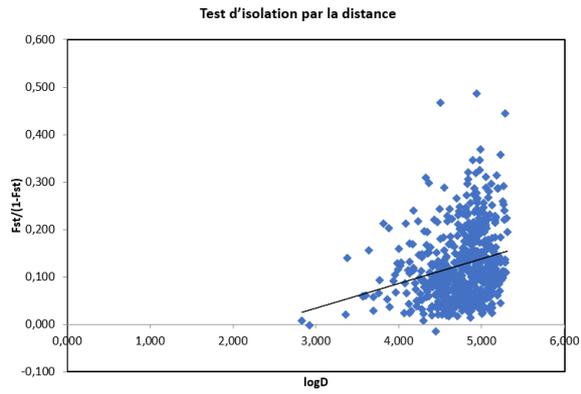
S2 - Genetic differentiation values between sites.

BC_mean = Mean; BC_Lower_95%CI = Lower 95% confidence interval; BC_Upper_95%CI = Upper 95% confidence interval.

Djost	BC_mean	BC_Lower_95%CI	BC_Upper_95%CI	Djost	BC_mean	BC_Lower_95%CI	BC_Upper_95%CI
TBR vs. TEMa	0.1393	0.0555	0.2667	TEMb vs. ROM	0.2272	0.1061	0.3542
TBR vs. TEMb	0.1665	0.0874	0.3017	TEMb vs. BAQ	0.3317	0.2316	0.4675
TBR vs. VAU	0.1347	0.0565	0.2353	TEMb vs. GQU	0.2589	0.1446	0.4208
TBR vs. ORM	0.15	0.0978	0.2097	TEMb vs. VSL	0.3226	0.1403	0.4998
TBR vs. BELa	0.0996	0.0363	0.1944	TEMb vs. COM	0.4314	0.295	0.5811
TBR vs. BELb	0.0984	0.0407	0.1771	TEMb vs. CMMa	0.3169	0.2099	0.4413
TBR vs. PRB	0.1843	0.1392	0.2386	TEMb vs. CMMb	0.2024	0.1115	0.335
TBR vs. BEC	0.1011	0.0416	0.184	TEMb vs. JOU	0.1293	0.0355	0.2593
TBR vs. FAS	0.1022	0.0439	0.1761	TEMb vs. PDMb	0.31	0.1874	0.4593
TBR vs. FUM	0.1564	0.0279	0.3206	VAU vs. ORM	0.1789	0.0715	0.2951
TBR vs. MAZ	0.0949	0.0477	0.1547	VAU vs. BELa	0.0073	-0.0342	0.0718
TBR vs. ROM	0.2486	0.1705	0.3236	VAU vs. BELb	0.004	-0.0306	0.0655
TBR vs. BAQ	0.2645	0.1975	0.3276	VAU vs. PRB	0.1396	0.0878	0.2015
TBR vs. GQU	0.1642	0.1042	0.2398	VAU vs. BEC	0.0729	0.0072	0.1597
TBR vs. VSL	0.3514	0.2221	0.4978	VAU vs. FAS	0.0646	0.0108	0.1364
TBR vs. COM	0.4777	0.3534	0.6166	VAU vs. FUM	0.1037	0.0108	0.2307
TBR vs. CMMa	0.2048	0.1298	0.2993	VAU vs. MAZ	0.2519	0.1625	0.3578
TBR vs. CMMb	0.1748	0.0884	0.2779	VAU vs. ROM	0.2183	0.1264	0.3331
TBR vs. JOU	0.1525	0.092	0.2285	VAU vs. BAQ	0.2665	0.1687	0.3619
TBR vs. PDMb	0.4947	0.34	0.6362	VAU vs. GQU	0.2712	0.1894	0.3607
TEMa vs. TEMb	0.0016	-0.061	0.1283	VAU vs. VSL	0.223	0.0981	0.3566
TEMa vs. VAU	0.0422	-0.0141	0.129	VAU vs. COM	0.3505	0.2152	0.4948
TEMa vs. ORM	0.1846	0.0767	0.3122	VAU vs. CMMa	0.2057	0.1293	0.2941
TEMa vs. BELa	0.0332	-0.0277	0.1247	VAU vs. CMMb	0.1776	0.0861	0.2808
TEMa vs. BELb	0.0439	-0.0155	0.1371	VAU vs. JOU	0.1191	0.0572	0.1964
TEMa vs. PRB	0.1701	0.1136	0.2362	VAU vs. PDMb	0.184	0.0948	0.2853
TEMa vs. BEC	0.0459	-0.0125	0.124	ORM vs. BELa	0.1137	0.0321	0.2279
TEMa vs. FAS	0.1155	0.0487	0.2	ORM vs. BELb	0.0984	0.0139	0.2122
TEMa vs. FUM	0.0509	-0.041	0.1885	ORM vs. PRB	0.1494	0.0972	0.2174
TEMa vs. MAZ	0.0965	0.0176	0.2162	ORM vs. BEC	0.1149	0.0565	0.1852
TEMa vs. ROM	0.2326	0.144	0.34	ORM vs. FAS	0.1734	0.0919	0.2796
TEMa vs. BAQ	0.2366	0.1523	0.3273	ORM vs. FUM	0.2379	0.0884	0.4023
TEMa vs. GQU	0.2182	0.1389	0.33	ORM vs. MAZ	0.293	0.1616	0.4529
TEMa vs. VSL	0.2323	0.0753	0.3927	ORM vs. ROM	0.2144	0.1166	0.3344
TEMa vs. COM	0.4044	0.2683	0.5493	ORM vs. BAQ	0.2135	0.1617	0.2887
TEMa vs. CMMa	0.2731	0.1826	0.383	ORM vs. GQU	0.2852	0.2108	0.3822
TEMa vs. CMMb	0.2096	0.1188	0.3181	ORM vs. VSL	0.1998	0.075	0.3974
TEMa vs. JOU	0.0745	0.0148	0.1602	ORM vs. COM	0.3653	0.2307	0.5035
TEMa vs. PDMb	0.2714	0.1667	0.4021	ORM vs. CMMa	0.1532	0.0903	0.234
TEMb vs. VAU	0.0616	-0.0251	0.1926	ORM vs. CMMb	0.1451	0.0805	0.2193
TEMb vs. ORM	0.1741	0.0386	0.3607	ORM vs. JOU	0.13	0.0481	0.2283
TEMb vs. BELa	0.0715	-0.0253	0.1994	ORM vs. PDMb	0.2146	0.0998	0.343
TEMb vs. BELb	0.0553	-0.0412	0.2008	BELa vs. BELb	6.00E-04	-0.0298	0.0528
TEMb vs. PRB	0.1343	0.0269	0.3257	BELa vs. PRB	0.136	0.0849	0.1969
TEMb vs. BEC	0.0697	-0.0392	0.2404	BELa vs. BEC	0.0486	-0.002	0.126
TEMb vs. FAS	0.123	0.0422	0.2507	BELa vs. FAS	0.0958	0.0418	0.1758
TEMb vs. FUM	0.1571	-0.0088	0.3742	BELa vs. FUM	0.0672	-0.0263	0.2027
TEMb vs. MAZ	0.1498	0.0468	0.2736	BELa vs. MAZ	0.175	0.1081	0.2672

Djost	BC_mean	BC_Lower_ 95%CI	BC_Upper_ 95%CI	Djost	BC_mean	BC_Lower_ 95%CI	BC_Upper_ 95%CI
BELa vs. ROM	0.1729	0.0963	0.268	FAS vs. JOU	0.1161	0.0492	0.1871
BELa vs. BAQ	0.2242	0.1444	0.315	FAS vs. PDMb	0.2122	0.1025	0.3414
BELa vs. GQU	0.2531	0.1653	0.3585	FUM vs. MAZ	0.1017	0.0169	0.2369
BELa vs. VSL	0.218	0.0675	0.3951	FUM vs. ROM	0.2251	0.0987	0.3681
BELa vs. COM	0.3845	0.2528	0.525	FUM vs. BAQ	0.3121	0.2005	0.4657
BELa vs. CMMa	0.1774	0.1059	0.2769	FUM vs. GQU	0.1206	0.0549	0.2164
BELa vs. CMMb	0.1479	0.0731	0.2483	FUM vs. VSL	0.2015	0.046	0.3846
BELa vs. JOU	0.0805	0.0276	0.1577	FUM vs. COM	0.2797	0.153	0.4211
BELa vs. PDMb	0.1833	0.0941	0.2844	FUM vs. CMMa	0.2348	0.1345	0.3601
BELb vs. PRB	0.0785	0.0437	0.1194	FUM vs. CMMb	0.2657	0.1379	0.4117
BELb vs. BEC	0.029	-0.0174	0.0908	FUM vs. JOU	0.013	-0.0307	0.0862
BELb vs. FAS	0.0556	0.0138	0.1152	FUM vs. PDMb	0.2589	0.1619	0.3811
BELb vs. FUM	0.0744	-0.0148	0.1828	MAZ vs. ROM	0.261	0.161	0.3707
BELb vs. MAZ	0.1338	0.0654	0.2276	MAZ vs. BAQ	0.3144	0.1996	0.4304
BELb vs. ROM	0.1272	0.0499	0.2163	MAZ vs. GQU	0.1499	0.0892	0.2257
BELb vs. BAQ	0.2031	0.1356	0.2786	MAZ vs. VSL	0.2886	0.1678	0.4345
BELb vs. GQU	0.1815	0.1216	0.2541	MAZ vs. COM	0.432	0.2941	0.5658
BELb vs. VSL	0.1483	0.0373	0.2892	MAZ vs. CMMa	0.2846	0.155	0.4074
BELb vs. COM	0.3253	0.2038	0.4591	MAZ vs. CMMb	0.1866	0.1009	0.2862
BELb vs. CMMa	0.1658	0.1118	0.2305	MAZ vs. JOU	0.0881	0.0339	0.1587
BELb vs. CMMb	0.1452	0.0745	0.2354	MAZ vs. PDMb	0.302	0.1844	0.421
BELb vs. JOU	0.04	-1.00E-04	0.0912	ROM vs. BAQ	0.0674	0.0089	0.1489
BELb vs. PDMb	0.146	0.0658	0.239	ROM vs. GQU	0.1488	0.0831	0.2235
PRB vs. BEC	0.0795	0.0546	0.1094	ROM vs. VSL	0.1	-0.0166	0.2286
PRB vs. FAS	0.1354	0.1023	0.1754	ROM vs. COM	0.2272	0.1129	0.3682
PRB vs. FUM	0.2937	0.2097	0.369	ROM vs. CMMa	0.116	0.0487	0.2036
PRB vs. MAZ	0.2684	0.2038	0.3473	ROM vs. CMMb	0.0787	0.0092	0.1778
PRB vs. ROM	0.2264	0.1662	0.2916	ROM vs. JOU	0.0998	0.0384	0.1801
PRB vs. BAQ	0.2196	0.1633	0.2824	ROM vs. PDMb	0.2121	0.1056	0.3409
PRB vs. GQU	0.2989	0.2362	0.3626	BAQ vs. GQU	0.2352	0.155	0.3368
PRB vs. VSL	0.3205	0.1869	0.4267	BAQ vs. VSL	0.2691	0.1083	0.4079
PRB vs. COM	0.349	0.2635	0.4345	BAQ vs. COM	0.4096	0.31	0.5293
PRB vs. CMMa	0.2316	0.191	0.2816	BAQ vs. CMMa	0.2209	0.1567	0.2929
PRB vs. CMMb	0.1676	0.1261	0.2195	BAQ vs. CMMb	0.1807	0.0995	0.2881
PRB vs. JOU	0.2531	0.1802	0.3244	BAQ vs. JOU	0.1229	0.0779	0.1781
PRB vs. PDMb	0.2382	0.1729	0.3113	BAQ vs. PDMb	0.4275	0.2906	0.5582
BEC vs. FAS	0.0687	0.021	0.1294	GQU vs. VSL	0.0917	0.0208	0.19
BEC vs. FUM	0.1155	0.0158	0.2378	GQU vs. COM	0.1058	0.0449	0.1991
BEC vs. MAZ	0.189	0.111	0.2892	GQU vs. CMMa	0.1495	0.0832	0.2459
BEC vs. ROM	0.1009	0.0334	0.1841	GQU vs. CMMb	0.2081	0.1139	0.314
BEC vs. BAQ	0.1588	0.0911	0.2405	GQU vs. JOU	0.0478	0.0071	0.1067
BEC vs. GQU	0.2458	0.1644	0.3437	GQU vs. PDMb	0.2837	0.1921	0.3926
BEC vs. VSL	0.3251	0.1888	0.4526	VSL vs. COM	0.0451	-0.0268	0.1603
BEC vs. COM	0.3991	0.2696	0.5376	VSL vs. CMMa	0.1326	0.0424	0.2341
BEC vs. CMMa	0.2396	0.1719	0.3239	VSL vs. CMMb	0.2189	0.1082	0.3432
BEC vs. CMMb	0.1611	0.0815	0.2468	VSL vs. JOU	0.0725	-0.0099	0.1688
BEC vs. JOU	0.1105	0.0561	0.1785	VSL vs. PDMb	0.2584	0.1266	0.3856
BEC vs. PDMb	0.2849	0.1756	0.4065	COM vs. CMMa	0.2754	0.1697	0.4215
FAS vs. FUM	0.1149	0.0108	0.2505	COM vs. CMMb	0.2559	0.1534	0.4139
FAS vs. MAZ	0.2132	0.1352	0.3159	COM vs. JOU	0.122	0.0637	0.2005
FAS vs. ROM	0.0587	-0.0013	0.1373	COM vs. PDMb	0.2514	0.1306	0.3861
FAS vs. BAQ	0.1328	0.068	0.2111	CMMa vs. CMMb	0.0228	-0.0175	0.0861
FAS vs. GQU	0.1508	0.0791	0.2438	CMMa vs. JOU	0.1539	0.0869	0.2386
FAS vs. VSL	0.1388	0.0124	0.3082	CMMa vs. PDMb	0.3831	0.2814	0.488
FAS vs. COM	0.253	0.1461	0.3689	CMMb vs. JOU	0.1471	0.0802	0.232
FAS vs. CMMa	0.1808	0.1119	0.2577	CMMb vs. PDMb	0.303	0.1998	0.4267
FAS vs. CMMb	0.0919	0.0199	0.1878	JOU vs. PDMb	0.1402	0.0791	0.2261

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE S3



S3 - Graphique du test d'isolation par la distance. Le rapport $F_{st}/(1-F_{st})$, basé sur la distance génétique F_{st} est mis en relation avec $\log D$, le logarithme de la distance géographique entre les différentes stations. $P=0.01$

S3 - Isolation by distance test graph. The ratio $F_{st}/(1-F_{st})$, based on the genetic distance F_{st} , is plotted against $\log D$, the logarithm of the geographical distance between the different stations. $P=0.01$.