

Différenciation entre populations de *Coenonympha oedippus* (Fabricius, 1767) en Aquitaine

Avec des précisions sur la différenciation à l'échelle nationale et européenne

**Synthèse et analyse de l'étude génétique réalisée dans le cadre du
programme « Papillons menacés des zones humides en Aquitaine »**



Synthèse : Gourvil Pierre-Yves, Soulet David (CEN Aquitaine)

Introduction

En 2011 le Conservatoire d'Espaces Naturels d'Aquitaine lance un programme ciblé sur 5 espèces protégées dont l'habitat de reproduction est lié aux zones humides :

- Fadet des Laïches (*Coenonympha oedippus*) ;
- Azuré de la Pulmonaire (*Maculinea alcon*) ;
- Azuré de la Sanguisorbe (*Maculinea teleius*) ;
- Cuivré des marais (*Lycaena dispar*) ;
- Damier de la Succise (*Euphydryas aurinia*).

Ce programme intitulé « Amélioration des connaissances et conservation de 5 espèces de papillons diurnes menacés des zones humides en aquitaine », s'est déroulé en 2 premières phases, entre 2011 et 2013 puis 2014-2015.

L'Aquitaine est considérée comme le bastion national et même ouest européen du Fadet des Laïches, abritant dans les départements des Landes et de la Gironde, la grande majorité des effectifs de l'espèce (Bensettiti, 2004 ; Lhonoré, 1998). Le Fadet des Laïches est donc une espèce prioritaire dans la mise en place d'actions pour améliorer les connaissances sur sa répartition, son écologie et le fonctionnement des populations en Aquitaine. Une de ces actions prioritaires du programme a consisté à préciser la taxonomie du Fadet des Laïches en Aquitaine.

C'est dans le cadre de cette action que le CEN Aquitaine a sollicité Gabriel Nève, généticien à l'université d'Aix Marseille, pour réaliser une étude génétique sur les populations de Fadet des Laïches en Aquitaine (cf. Annexe : Nève et al., 2014). Le CEN a participé à cette étude dans la définition du plan d'échantillonnage, et dans la prise en charge des campagnes de prélèvements (avec les autorisations réglementaires). Les résultats de cette étude sont résumés et synthétisés dans ce document. Ces résultats ont permis au CEN d'engager une démarche de hiérarchisation des sites à conserver en priorité, et de mieux comprendre le fonctionnement des populations afin d'éclairer les décisions en tant que gestionnaires de sites accueillant cette espèce.

En parallèle, le Laboratoire d'Ecologie Alpine (LECA) a démarré une étude génétique des populations de Fadet des Laïches à l'échelle européenne (Després et al., en prép.) à laquelle le CEN a aussi contribué en réalisant des prélèvements ciblés d'échantillons de Fadets des laïches (avec les autorisations réglementaires). Les résultats préliminaires de cette étude européenne sont également présentés dans ce document.

L'analyse génétique doit permettre de comprendre comment les populations sont structurées en Aquitaine (identifier les noyaux de population) et de cibler les populations isolées de ces noyaux (définir le degré d'isolement des populations). Les résultats des analyses génétiques permettent aux gestionnaires de cibler les populations les plus importantes à préserver et les populations isolées qui devront faire l'objet de mesures de préservation et de reconnexion pour éviter leur disparition à plus ou moins long terme.

Trois niveaux d'analyses ont été effectués :

- *Analyse par électrophorèse des protéines* : cette analyse permet de visualiser la diversité génétique des populations et d'identifier des différences entre elles (degrés de divergence) ;
- *Séquençage de l'ADN mitochondrial pour deux gènes contigus : COI et ND1* : la comparaison des deux gènes entre les individus collectés permet de comprendre l'histoire de colonisation de l'espèce et de mettre en évidence si des diminutions importantes d'une partie de la population ont eu lieu au cours de son histoire ;

- *Photographie et analyse morphologique des individus collectés* : Des variations morphologiques sont avérées dans la littérature concernant le Fadet des Laïches et plusieurs phénotypes sont décrits. Il s'agit ici de mettre en évidence des différences morphologiques, constantes au sein d'une population, mais différentes des autres populations connues.
- *Comparaison avec d'autres populations françaises* : D'autres échantillons ont été récoltés dans les Alpes françaises. Une comparaison des résultats des analyses a donc pu être réalisée afin de mettre en évidence une différenciation à l'échelle nationale.

Résultats

Au total, 207 individus de Fadet des Laïches ont été récoltés sur 9 sites entre 2010 et 2013 (cf. tableau 1). Ce sont ces échantillons qui ont servis de bases aux différentes analyses présentées ci-après.

TABLEAU 1 : ECHANTILLONS ETUDIÉS DE *COENONYMPHA OEDIPPUS*, EN AQUITAINE
(NEVE ET AL., 2014)

N°	Localité	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Nombres d'individus	Nombres d'individus analysés
1	La Jemaye	45,157145	0,260510	18	15
2	Echourgnac	45,154590	0,203752	27	23
3a	Saint André	45,111720	0,281417	1	14
3b	St-Michel-de-Double	45,097902	0,294305	14	
4	La Lande	44,545780	-0,769157	15	15
5	Louchats 1 : 2013	44,490578	-0,559013	15	14
6	Parentis	44,392145	-1,005232	7	7
7	Louchats 2 : 2012	44,490625	-0,5587916	9	9
8	Les Mées Nord	43,719417	-1,109056	41	31
9	Les Mées Sud	43,705143	-1,124189	23	22
10	Angoumé	43,695306	-1,153056	7	7
11	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	30	25

Analyse par électrophorèse des protéines

Deux groupes de gènes codant pour une même protéine, appelés cluster I et cluster II, ont été identifiés lors de l'analyse :

- Le cluster I est fortement fixé aux populations 1, 2 et 3 (sites de Dordogne : La Jemaye, Echourgnac, Saint-André et Saint-Michel-de-Double) et inclus dans les populations 4, 5 et 7 (sites de Gironde : La Lande et Louchats).
- Le cluster II est quant à lui majoritaire dans les populations 6, 8, 9 et 10 (Sites des Landes : Parentis, Les Mées et Angoumé).

Des particularités ont été mises en évidence :

- Sur le site de Mées (populations 8 et 9), les clusters sont plus hétérogènes avec la présence des deux clusters. Cela indique la présence d'une population puit recevant des individus du cluster I et du cluster II, et dont la présence d'individus intermédiaires indique des croisements fréquents entre ces deux groupes.
- Sur le site de Louchats, une différence de cluster a été notée entre les individus récoltés en 2012 et ceux récoltés en 2013. Ainsi, les individus de 2012 sont marqués par le cluster II et donc liés aux populations 6, 8, 9 et 10 alors que les individus de 2013 sont plutôt liés au cluster I et donc aux populations 1, 2 et 3 plus éloignées géographiquement.

Une analyse plus précise, basée sur les loci (emplacements des gènes ou d'un de ses allèles dans un chromosome) a été réalisée afin d'estimer des différenciations génétiques entre les populations. Il en ressort plusieurs éléments :

- La différenciation des populations est considérée comme faible.
- L'effet de l'isolement des populations par la distance géographique entre les sites n'est pas significatif.
- Mis à part un locus dont les analyses démontrent une pression de sélection directionnelle, tous les autres loci identifiés (14 au total) ne présentent pas de structures particulières, et un seul groupe de gènes peut expliquer la variation de l'ensemble des individus échantillonnés.

Résumé

L'analyse par électrophorèse des protéines a permis de faire ressortir 2 groupes de gènes différents (cluster I et II) qui représenteraient 2 groupes aux développements distincts au sein des populations d'Aquitaine.

Les populations de Dordogne (1, 2 et 3) ont donc des groupes de gènes différents avec les populations des Landes (6, 8, 9 et 10) ce qui semble donc indiquer une séparation entre ces deux groupes de population.

Le site de Mées semble jouer un rôle important pour la diversification génétique des populations de Fadet des Laïches en Aquitaine, car il constitue une population-puit, abritant les deux clusters identifiés.

Analyse de l'ADN mitochondrial

L'analyse de l'ADN mitochondrial n'a pas pu être réalisée, suite à la découverte d'une différence peu fréquente qui complique et rend inutilisable les méthodes d'analyses utilisées. Une étude de cette différence doit être effectuée pour mieux la comprendre et permettre la mise en place de ce type d'analyse.

Analyse morphométrique

Tous les individus mâles récoltés (soit 147 individus) ont été photographiés et analysés via le logiciel ImageJ (Rasband, 2012) afin de mesurer la largeur de la bande noire des ocelles, la surface et leur barycentre pour évaluer la distance entre eux (cf. Figure 1).

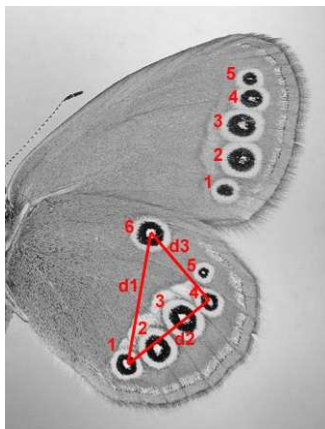


Figure 1 : Mesures prises sur les ailes. Les 5 ocelles de l'aile antérieure et les 6 ocelles de l'aile postérieure sont mesurés lorsqu'ils sont présents. Comme les ocelles 1, 4 et 6 de l'aile postérieure sont présent chez tous les individus, les distances entre ces ocelles (notées d1, d2 et d3) sont évaluées au départ des coordonnées des barycentres des ocelles concernées (Nève et al., 2014).

L'analyse de ces différents paramètres morphométriques montre une faible différence entre les 11 populations échantillonnées.

L'analyse par électrophorèse a mis en évidence une différence dans les populations récoltées sur le site de Louchats entre 2012 et 2013. L'analyse morphométrique corrobore cette analyse en mettant en évidence une différence significative entre les individus de ces deux années. Les individus récoltés en 2012 sont à relier d'un point de vue des critères morphométriques aux populations de Parentis.

La même analyse a été réalisée sur le site de Mées en comparant les 2 échantillons récoltés géographiquement très proches, mais la différenciation morphologique de ces populations est faible.

Résumé

Il apparaît donc que les variations génétiques, mises en évidence par l'analyse par électrophorèse sont similaires aux modifications morphologiques mesurées et que sur certains sites les résultats peuvent être variables selon les années, comme ce fut le cas sur le site de Louchats.

Analyse de tous les échantillons français

Deux sites ont été échantillonnés dans les Alpes (Le Bachais et Brignoud) avec un total de 23 individus récoltés.

En comparant tous les échantillons (Alpes + Aquitaine), un effet lié au sexe et à la localité a bien été mis en évidence. D'un point de vue morphologique, des différences ont été notées sur la surface et la distance de certains ocelles.

Ainsi les populations échantillonnées dans les Alpes et en Aquitaine présentent bien des différences génétiques et morphologiques.

Ces premiers éléments sont corrélés avec l'étude menée par le bureau LECA sur les populations de Fadet des Laïches à l'échelle européenne, étude à laquelle le CEN a contribué en réalisant les échantillonnages de Fadets des laïches nécessaires et en échangeant des données et informations écologiques sur l'habitat et la répartition de l'espèce. Les premiers résultats de cette étude ont ainsi permis de mettre en évidence que les populations du sud-ouest de la France sont séparées génétiquement des autres populations connues en Europe, et notamment celles des Alpes (cf. Figure 2).

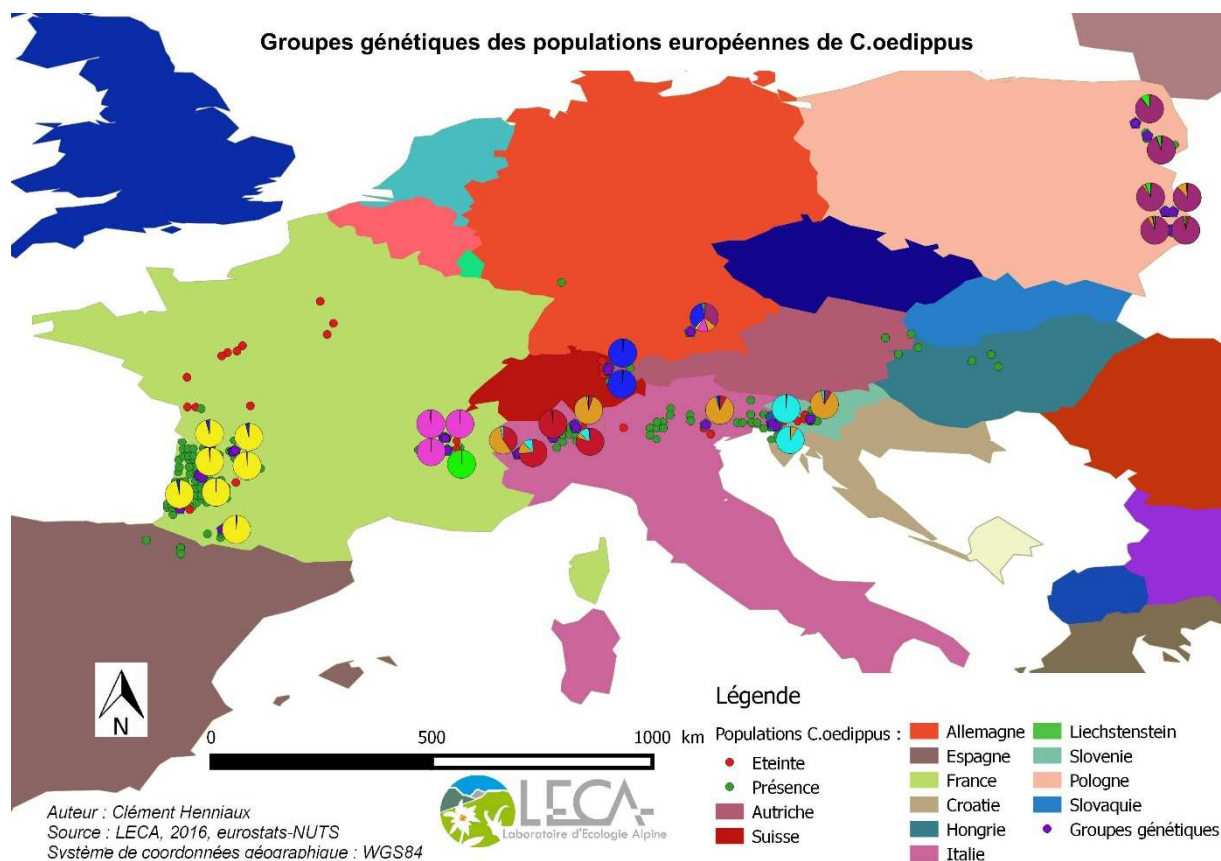


Figure 2 : Résultats d'analyse génétique des populations de Fadet des Laïches en Europe.

Des échantillons récoltés sur la localité de Lourdes en 1962 ont également été comparés avec ceux récoltés sur le plateau de Ger (population 11). Même si des différences ont été mises en évidence, il n'est pas possible de préciser si ces différences sont liées à un effet temporel ou spatial.

Résumé

Les individus récoltés dans les Alpes et en Aquitaine présentent des différences génétiques et morphologiques marquées indiquant une dissociation des deux populations. A l'échelle européenne, les populations de Fadet des Laïches d'Aquitaine sont uniques et possèdent leurs propres caractéristiques génétiques.

Conclusion

Les analyses effectuées par l'équipe de Gabriel Nève de l'Université d'Aix Marseille ont permis de mettre en évidence une grande diversité aussi bien d'un point de vue génétique que morphologique entre les populations échantillonnées en Aquitaine.

En Aquitaine, un gradient génétique nord-sud est présent entre les populations échantillonnées. La préservation de ces spécificités génétiques est donc primordiale pour la sauvegarde de la diversité des populations aquitaines.

De même, à l'échelle nationale (comparaison Aquitaine / Alpes) et européenne, des différences génétiques et morphologiques ont bien été mises en évidence, laissant penser qu'il s'agit de deux sous-espèces distinctes. Par conséquent l'Aquitaine, de par l'importance des populations à l'échelle ouest-européenne et de la spécificité génétique des populations, a un rôle majeur à jouer dans la préservation du Fadet des Laïches.

Bibliographie

- Bensettiti F., et Gaudillat V. (Coord.), 2004. *Fiche 1071 – Coenonympha oedippus, Fabricius 1787, le Fadet des laïches*. Cahier D'habitat NATURA 2000, Connaissance et Gestion Des Habitats et Des Espèces D'intérêt Communautaire Tome 7 : espèces animales. Muséum National d'Histoire Naturelle, 257–259 pp.
- Lhonoré Jacques, 1998. *Biologie, écologie, et répartition de quatre espèces de Lépidoptères rhopalocères protégés (Lycaenidae, Satyridae) dans l'ouest de la France*. Rapport d'études de l'OPIE - volume 2 OPIE. 110 p.
- Nève G., Dubut V., Schmitt Th. & Gilles A., 2014. *Variation de C. oedippus en Aquitaine*. Rapport au Conservatoire d'Espaces Naturels d'Aquitaine. Université d'Aix Marseille. 18 Avril 2014, 49 p. **Cf. en annexe ci-dessous.**

Récapitulatif des dépenses

Postes de dépenses	Désignation	Nombre de jours	Coût unitaire (€)	Coût total (net)
Honoraires et prestations du CEN	Prélèvements Terrain	13	485 €	6 305 €
	Demandes autorisations de capture Espèces protégées	2	485 €	970 €
	Synthèse et exploitation étude génétique	4	485 €	1 940 €
	Suivi et coordination	5	485 €	2 425 €
Prestation Université Aix-Marseille	-	-	-	5 000 €
Total				16 640 €

Photographie de couverture

Virginie Leenknecht : accouplement de *Coenonympha oedippus*, le 12 juillet 2013 à Orthez (64)

Université d'Aix Marseille

**Différenciation entre populations de
Coenonympha oedippus (Lepidoptera, Nymphalidae)
en France**

Rapport au
Conservatoire Régional d'Espaces Naturels d'Aquitaine

Gabriel Nève
Vincent Dubut
Thomas Schmitt
André Gilles

18 avril 2014

Correspondance : gabriel.neve@imbe.fr

IMBE UMR CNRS 7263, IRD 237

'Evolution Genome Environment'

Case 36

Aix-Marseille Université

3 Place Victor Hugo

13331 Marseille Cedex 3

France.

Introduction

A la demande du Conservatoire d'Espace Naturels d'Aquitaine, une analyse génétique de populations de Fadets des Laïches (*Coenonympha oedippus*) a été tentée sur des échantillons récoltés à cet effet en Aquitaine durant la période 2010-2013.

Ce type d'analyse permet de comprendre s'il y a une structuration des populations, et de quantifier le degré d'isolement de certaines populations. En biologie des populations, la perspective à long terme est de conserver le potentiel évolutif des espèces, qui ne peut alors s'envisager que par la conservation de populations suffisamment grandes (Frankel & Soulé, 1981).

Dans le cadre de la présente étude, trois approches complémentaires ont été tentées. En premier lieu l'analyse par électrophorèse des protéines permet d'évaluer la diversité génétique des différentes populations, ainsi que le degré de divergence. Cette méthode a été largement utilisée sur les populations de papillons depuis les années 1970, et reste d'actualité (Nève, 2009), en particulier vu les difficultés à mettre au point des marqueurs microsatellites utilisables en nombre suffisant chez les Lépidoptères (Sinama *et al.* 2011). En second lieu, nous avons tenté le séquençage de l'ADN mitochondrial pour deux gènes contigus : COI et ND1, et avons été confronté à un problème inédit chez les Lépidoptères : les gènes en question sont également présents sur l'ADN nucléaire, de sorte qu'il est très difficile de séparer l'un de l'autre, et donc de séquencer uniquement l'un ou l'autre, ce qui empêche une comparaison pertinente des séquences des différents individus. Enfin, troisième approche, tous les individus récoltés ont été photographiés, ainsi que des spécimens de collection, afin de voir si les différentes populations varient dans leur phénotype.

La variation phénotypique de *Coenonympha oedippus* est reconnue depuis longtemps. Ses variations géographiques ont donné lieu à la description de nombreuses sous espèces. Leraut (1997) en reconnaît sept: *oedippe* Borkhausen, 1789, *burdigalensis* Pionneau 1937, *herbuloti* Varin, 1952, *sebrica* Varin, 1952, *aquitana* Varin, 1952, *rhodanica* Varin 1964 et *senonica* Varin 1966. Verity (1957) mentionne que les principaux critères séparant ces différentes sous-espèces (il en reconnaissait trois) sont les tailles des ocelles, la présence et la largeur de la bande blanche devant les ocelles de l'aile antérieure, et la couleur de fond des faces supérieures et inférieures. Dans le cadre du présent travail, nous nous sommes attaché à la description quantitative des différences entre population au sein de l'Aquitaine, et à voir si ces populations diffèrent de celles des Alpes dont nous avons accès à un échantillon.

Echantillonnage génétique

Un total de 207 individus de *Coenonympha oedippus*, principalement des mâles, ont été prélevés sur le terrain entre 2010 et 2013 (liste des échantillons en Annexe 1).

Les échantillons peuvent être groupés en onze échantillons différentes au sein de la région Aquitaine (Tableau 1 ; figure 1).

Tableau 1. Echantillons étudiés de *Coenonympha oedippus*, en Aquitaine.

N°	Localité	Latitude (°N)	Longitude (°E)	Nombres d'individus	Nombres d'individus analysés
1	La Jemaye	45,157145	0,260510	18	15
2	Echourgnac	45,154590	0,203752	27	23
3a	Saint André	45,111720	0,281417	1	14
3b	St-Michel-de-Double	45,097902	0,294305	14	
4	La Lande	44,545780	-0,769157	15	15
5	Louchats 1 : 2013	44,490578	-0,559013	15	14
6	Parentis	44,392145	-1,005232	7	7
7	Louchats 2 : 2012	44,490625	-0,5587916	9	9
8	Les Mées Nord	43,719417	-1,109056	41	31
9	Les Mées Sud	43,705143	-1,124189	23	22
10	Angoumé	43,695306	-1,153056	7	7
11	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	30	25

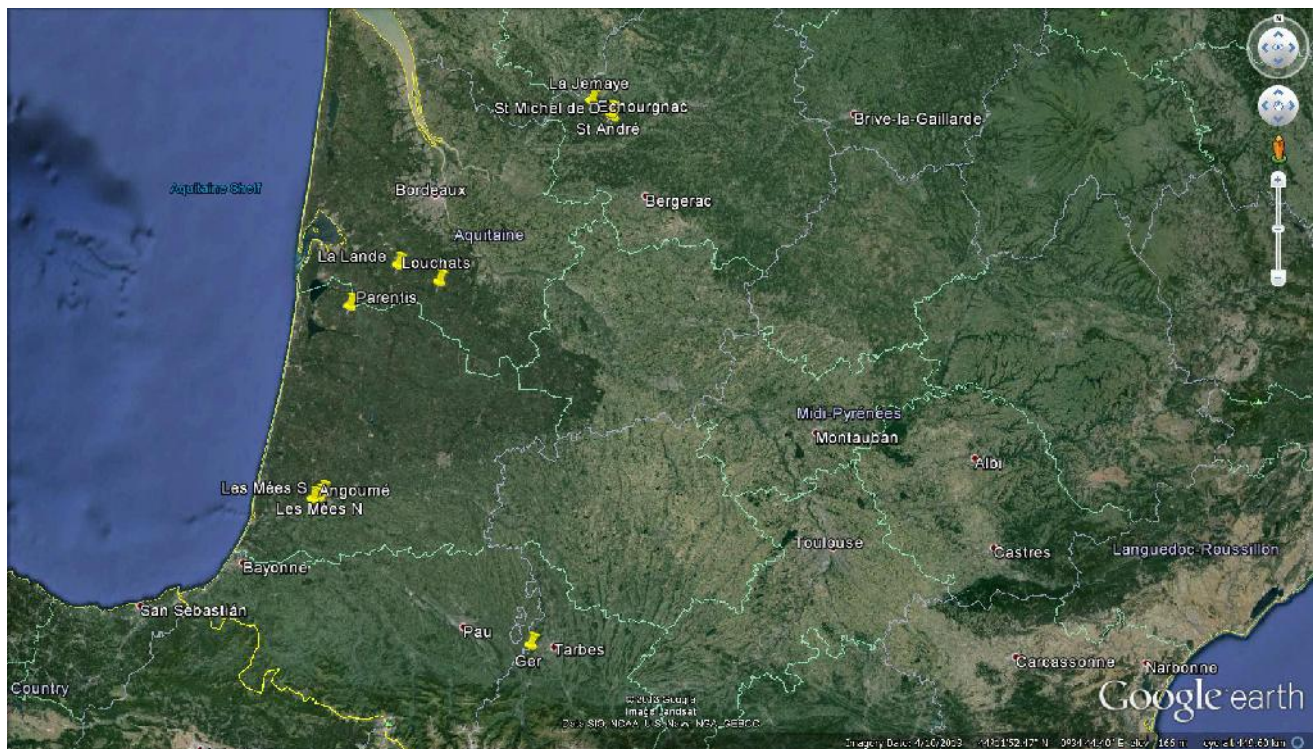


Figure 1. Localisation des stations échantillonnées.

Analyse électrophorétique

Les individus congelés ont été disséqués : les pattes et la têtes ont été prélevés pour analyse de l'ADN mitochondrial, et les ailes ont été préservées séparément pour une analyse morphométrique. Les thorax et les abdomens ont été broyés dans un tampon d'extraction (15 g de sucrose, dissous dans de l'eau distillée par 100 ml de solution, 50 mM Tris (soit 6.055 g/l), ajusté à pH 7.1 avec de l'Acide chlorhydrique 4 M, 0.5 % (v/v) Triton X-100, et une goutte de bleu de Bromophénol, comme marqueur du front de migration). L'homogénat est ensuite centrifugé à 2200 g pendant trois minutes. L'extrait est alors congelé sous forme de billes en déposant à la surface d'un bain d'azote liquide des gouttes de 10 microlitres.

Pour l'analyse électrophorétique, une bille de chaque individu à analyser est alors prélevées et décongelée, et une partie est alors déposée sur une plaque d'acétate de cellulose (TITAN III, de la firme Helena Lab). Les conditions de migration et les méthodes de révélation sont les méthodes standards pour les électrophorèses (Hebert & Beaton 1993 ; Richardson *et al.* 1986).

Résultats

16 loci ont été scorés pour les 207 individus congelés frais et fournis au laboratoire. Par locus, on a obtenu de 1 à 5 allèles (Tableau 2). Dans la suite des analyses, les loci monomorphes, FUM et IDH1, ne seront pas pris en compte dans les analyses, car ils n'apportent aucune information.

Tableau 2. Loci testés, et nombres d'allèles identifiés dans les échantillons

Locus	N allèles		numéro
6PG	2	6-Phosphogluconate dehydrogenase	1.1.1.44
FUM	1	Fumarate hydratase	4.2.1.2
G6P	3	Glucose 6 phosphate dehydrogenase	1.1.1.49
GAP	2	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	1.2.1.12
GO1	4	Aspartate Aminotransferase locus 1	2.6.1.1
GO2	4	Aspartate Aminotransferase locus 2	2.6.1.1
GPD	3	Glycerol-3-Phosphate dehydrogenase	1.1.1.8
ID1	1	Isocitrate dehydrogenase locus 1	1.1.1.42
ID2	5	Isocitrate dehydrogenase locus 2	1.1.1.42
MD1	4	Malate dehydrogenase locus 1	1.1.1.37
MD2	3	Malate dehydrogenase locus 2	1.1.1.37
ME	2	Malic Enzyme	1.1.1.40
PEP	3	Peptidase	3.4.11/13
PGI	3	Phospho-glucose isomerase	5.3.1.9
PGM	5	Phosphoglucomutase	2.7.5.1.
PK	3	Pyruvate kinase	2.7.1.40

Dans un premier temps, les individus présentant des données manquantes ont été retirés du jeu de données (n=19). Le logiciel Genetix (Belkhir *et al.* 2004) a ensuite été utilisé afin d'inspecter les données génotypiques brutes. Une Analyse Factorielle des Correspondances Multiples (AFCM) a permis l'identification d'individus à génotypes aberrants (distincts et très éloignés de la distribution de la majorité des génotypes), issus vraisemblablement de spécimens mal conservés, et présentant

des bandes de dégradation (n=6). Ces individus ont également été retirés du jeu de données. Un jeu de données de 182 individus dont les scorings électrophorétiques sont cohérents et complets a ainsi été constitué pour la suite des analyses.

Structure génétique :

Une analyse Bayésienne d'assignation a été conduite à l'aide du logiciel STRUCTURE 2.3.3 (Falush *et al.* 2003). Cette analyse vise à inférer le nombre de groupes génétiquement distincts, ou clusters (K) représentés par les individus échantillonnés. Vingt itérations pour chacune des valeurs de K comprises entre 1 et 11 ont été menées. Nous avons utilisé les modèles (i) d'admixture (autorisant les mélanges entre clusters), (ii) de fréquences génotypiques corrélées et (iii) LOCPRIOR (qui en prend en considération le site d'échantillonnage). Pour le modèle LOCPRIOR, nous avons dans un premier temps retenu 10 localités distinctes : La Jemaye, Echourgnac, StMStA (qui regroupe les individus collectés à Saint-Michel-de Double et l'individu collecté à Saint-André), La Lande, Louchats, Parentis, Mées Nord, Mées Sud, Angoumé et Plateau de Ger. La valeur la plus probable de K *a posteriori* a été déterminée en considérant la valeur moyenne de vraisemblance ($\ln P(K)$) la plus élevée (Pritchard *et al.* 2000) ainsi que par la méthode du ΔK (Evanno *et al.* 2005), la valeur de ce paramètre étant maximisé pour la valeur la plus probable de K. Les Figures 2A et 2B synthétisent les résultats de cette analyse.

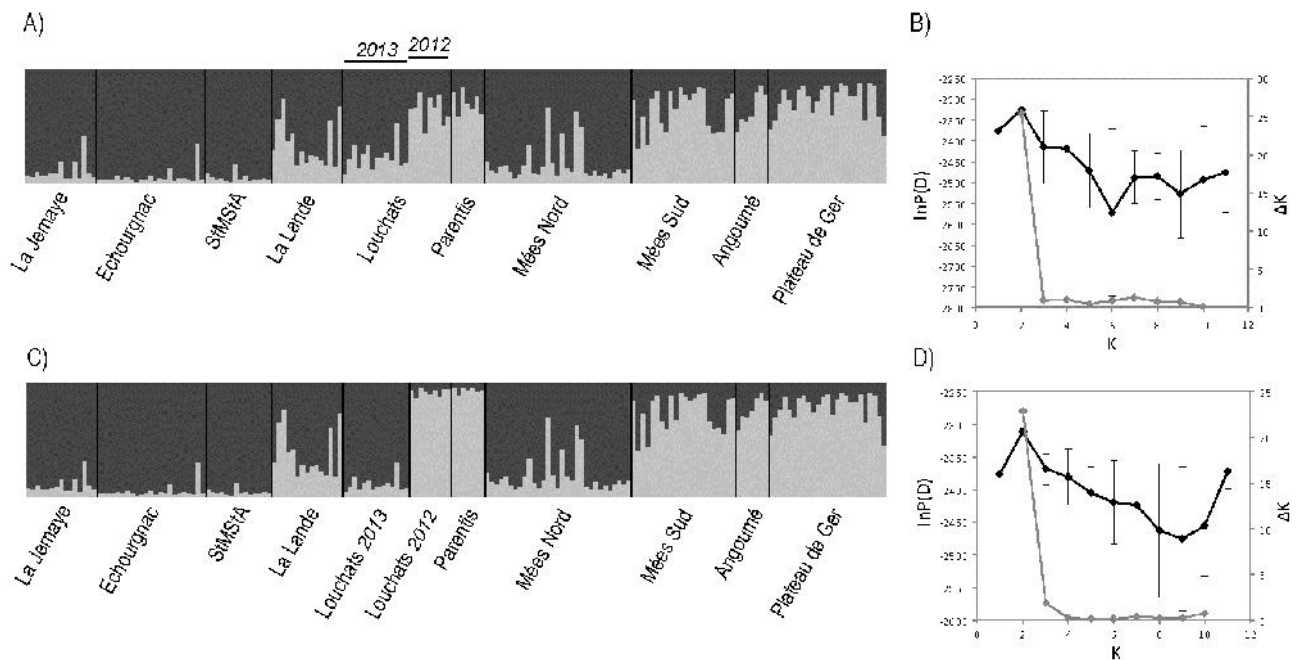


Figure 2 : Analyse Bayésienne d'assignation menée sur 14 loci polymorphes

En A) et C) chaque bande graphique est composée d'autant de barres verticales que d'individus, qui sont alors caractérisés par les résultats des tests d'assignation aux clusters K. En gris foncé, le cluster 1, en gris clair, le cluster 2. En B) et D) les courbes noires représentent les valeurs de $\ln P(K)$ et les courbes grises celles de ΔK .

Cette première analyse menée avec STRUCTURE permet de mettre en évidence deux clusters (Figures 2A et 2B). Le cluster I (en gris foncé) est quasiment fixé au sein des populations 1, 2 et 3. Il est en outre une composante importante des populations 4, 5 et 7. Le cluster II (en gris clair sur la Figure 2) est quant à lui majoritaire dans les populations 6, 8, 9 et 10. La Lande et Mées Nord (et dans une moindre mesure Mées Sud) sont plus hétérogènes et apparaissent comme des populations puits, recevant des individus du cluster I et du cluster II, et au sein de quelles les croisements sont fréquents entre ces deux groupes individus (présence d'individus intermédiaires). En outre, il faut noter que les individus prélevés aux Louchats en 2013 sont plutôt assignés au cluster I alors que

ceux collectés en 2012 sont assignés préférentiellement au cluster 2 (Figure 2A). Les individus collectés en 2012 aux Louchats sont ainsi très similaires à ceux collectés sur la station de Parentis (dans le même secteur géographique, Fig. 1). Une analyse complémentaire a donc été menée en considérant deux stations pour Louchats : Louchats 2012 et Louchats 2013 (Figures 2C et 2D). Cette seconde analyse confirme les affinités génétiques entre Louchats 2012 et Parentis, qui se retrouvent assignés majoritairement au cluster II. En outre, Louchats 2013 présente désormais davantage d'affinités avec les populations 1, 2 et 3, ainsi qu'avec la plupart des individus collectés aux Mées Nord. Le taux d'assignation des individus collectés sur les autres stations restent quant à eux très similaires à ceux obtenus lors du premier tour d'analyse.

Au vu de ces résultats, l'ensemble des analyses qui suivront regrouperont les individus en 11 groupes d'individus : La Jemaye, Echourgnac, StMStA, La Lande, Louchats 2013, Louchats 2012, Parentis, Mées Nord, Mées Sud, Angoumé et Plateau de Ger.

Le test d'adéquation à l'équilibre de Hardy-Weinberg (Annexe 4) permet d'évaluer dans quelle mesure chaque échantillon peut être considéré comme venant d'une population panmictique. Les seuls échantillons donnant une significativité pour ce test sont ceux provenant de La Lande, Mées nord et Mées sud. Ces trois échantillons sont issus de prélèvement effectués sur des localités très voisines, et sur 2 ans (2012 et 2013) pour La Lande et sur 3 ou 4 ans pour les deux autres localités. Séparer des échantillons en plus petites localités, et par année aurait abouti à avoir des échantillons individuels petits, ce qui aurait alors rendu le test peu puissant.

Lorsque l'on examine par ailleurs la valeur globale du test, locus par locus, la plus forte significativité est celle de 6PG ($P < 0,001$), ce qui suggère une pression de sélection sur ce locus, ce qui sera confirmé par ailleurs. Les loci G6P, GO2 et PGM présentent une valeur significative à 5 %. A noter que pour ces trois loci, les valeurs de plus forte significativité de l'écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg sont observés dans les échantillons composites des Mées Nord (G6P, GO2) et Sud (6PG) et de La Lande (PGM), ainsi que de Echourgnac (G6P), Saint Michel de Double (GO2), Louchats 2013 (GO2) et Angoumé (PGM). Pour ces derniers cas, la significativité n'est pas suffisante, vu le nombre de tests effectués, et résultent vraisemblablement d'un effet d'échantillonnage.

Sur cet échantillonnage, la diversité des populations a été estimée par l'indice F_{st} de Wright sur la différenciation des populations. Locus par locus, il donne des valeurs entre -0.0126 (locus ME) et 0.2030 (locus 6PG), tableau 3.

Tableau 3. Indice de différenciation des populations, par statistique F_{st} de Wright, locus par locus.

Locus	F_{st}
6PG	0.2030
G6P	0.0651
GAP	0.0065
GO1	0.0241
GO2	0.0277
GPD	0.1029
ID2	0.0101
MD1	0.0056
MD2	0.0344
ME	-0.0126
PEP	0.0329
PGI	0.0225
PGM	0.0064
PK	0.0220
F_{st} global :	0.0526

La différenciation globale entre populations donne une valeur de $F_{st}=0.0526$, ce qui correspond à une différenciation faible. A noter que le locus 6PG a une valeur de F_{st} nettement plus grande que tous les autres loci. Si on exclut ce locus, le F_{st} global diminue à une valeur de 0,0329.

Nous avons testé l'hypothèse de l'isolement par la distance. La distance génétique est estimée au départ des valeurs de F_{st} (le coefficient de différenciation des populations) par paires de populations. La distance génétique entre deux populations est estimée par $F_{st}/(1-F_{st})$, comme suggéré par Rousset (2008). Le test utilisé, du fait de la non-indépendance des données, est un test de Mantel entre la matrice de distances géographiques et la matrice de distances génétiques. Il donne une valeur de $P=0.18$, ce qui indique un effet non significatif de l'isolement par la distance (Figure 3). Lorsque l'on utilise le logarithme de la distance géographique au lieu de la valeur brute, $P=0.72$. Lorsque l'on omet le locus 6PG, qui a la valeur de F_{st} la plus forte, l'isolement par la distance reste non significatif : $P=0.36$ pour les valeurs brutes de distances et $P=0.84$ pour le log de la distance.

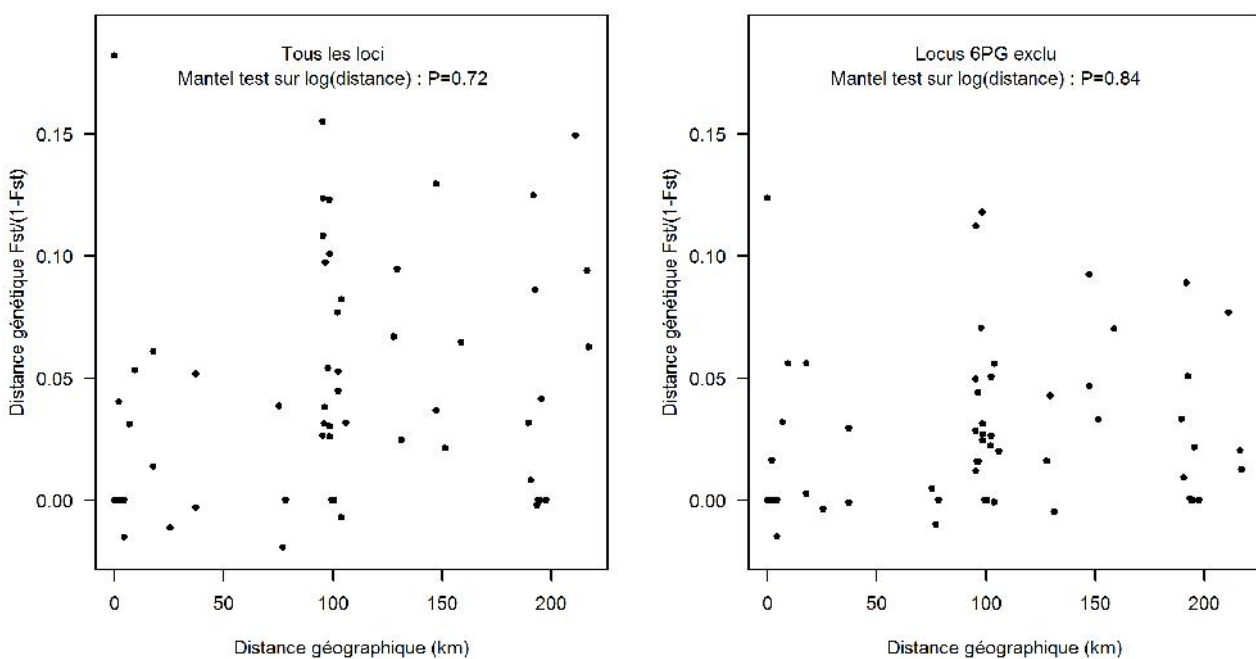


Figure 3. Distance génétique entre populations en fonction de la distance géographique entre populations, respectivement avec tous les loci considérés, et sans le locus 6PG. Les populations les plus éloignées les unes des autres n'ont pas tendance à être plus différentes que les populations les plus proches, telles qu'elles ont été échantillonnées. A noter la valeur forte de la distance génétique entre les populations 5 et 7, toutes deux de Louchats, mais prélevées en 2013 et 2012 respectivement, avec une distance génétique $F_{st}/(1-F_{st})=0,18$, pour une distance géographique nulle.

Les hétérozygoties observées dans les différentes populations sont un bon indice de la variabilité génétique au sein de chacune d'entre elles (Annexe 3). Les valeurs globales observées entre 0,16 pour Mées sud et 0,26 pour la population voisine de Angoumé. Les populations ayant des valeurs supérieures à 0,2 sont La Jemaye, La Lande, Louchats (les deux années), Parentis, Angoumé et le Plateau de Ger.

Les populations voisines, situées à moins de 7 km l'une de l'autre ne sont pas génétiquement différentes l'une de l'autre (4 cas ; Annexe 6), ce qui justifie les regroupements des échantillons de localités voisines, comme aux Mées nord et sud. Toutefois, le site de Louchats a été visité en 2012 (population 5) et en 2013 (population 7), et la différence entre ces échantillons s'est avérée hautement significative. A noter que l'échantillon de Parentis, distant de 37 km, ne se différencie pas de chacun de ceux-ci. Au niveau des distances génétiques, les deux échantillons de Louchats sont assez différents ($F_{st}=0,11$; Annexe 7), alors que l'échantillon de Parentis est faiblement différencié de celui de Louchats 2013 ($F_{st}=0,03$), mais pas de celui de Louchats 2012 ($F_{st}=0,001$).

Une analyse a été réalisée en utilisant le logiciel Arlequin 3.5 (Excoffier *et al.* 2010) afin de mettre en évidence une pression de sélection exercée sur les loci étudiés en utilisant l'approche développée par Beaumont et Nichols (1996). Ces derniers proposent de simuler la distribution des F_{st} en fonction de l'hétérozygotie observée (H_o) entre les populations. Les loci sortant significativement de cette distribution sont considérés comme sous sélection. Les résultats de l'analyse sont présentés dans la Figure 4A.

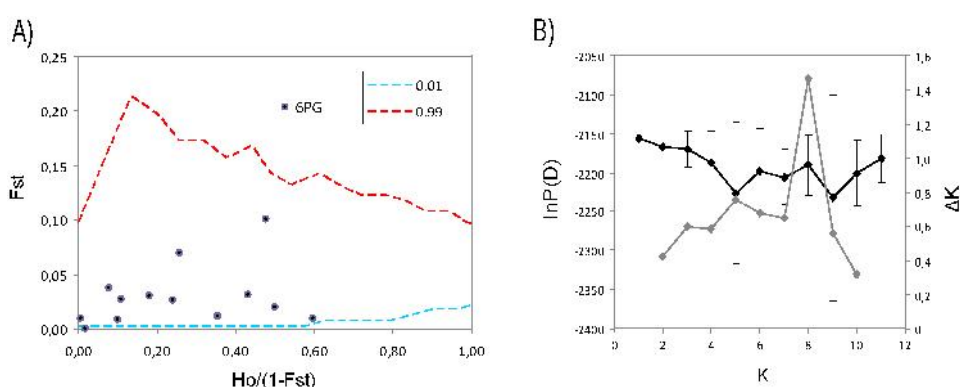


Figure 4 : A) Détection des loci sous sélection ; B) Résultats des analyses Bayésiennes d'assignation menées sur 13 loci (en excluant 6GP)

Sur l'ensemble des 14 loci polymorphes, un seul locus sort significativement de la distribution attendue sous la neutralité : le locus 6GP. Les F_{st} entre populations pour ce locus sont supérieures à celles attendues au vu de son hétérozygotie observée (H_o). Ce locus est donc sous pression de sélection directionnelle. Ce locus ne présentant que deux allèles, dans certaines populations c'est l'allèle 1 qui sera favorisé, dans d'autres populations ce sera l'allèle 2.

Une troisième analyse d'assignation Bayésienne a été conduite en n'incluant que les 13 loci évoluant sous la neutralité (Fig. 4B). Aucune structuration n'est plus détectée, un seul cluster permet de résumer la variation de l'ensemble des individus échantillonnés. Ce résultat met en évidence que le locus 6GP conditionne fortement la structuration observée plus haut. Les clusters I et II (Figures 2A et 2C) représenteraient ainsi deux groupes adaptatifs distincts au sein des populations d'Aquitaine de *C. oedippus*.

Analyse de l'ADN mitochondrial

Pour les aspects biogéographiques, il aurait été intéressant de séquencer une partie de l'ADN mitochondrial. L'ADN mitochondrial est transmis uniquement par les femelles, et lorsqu'on le compare à des marqueurs nucléaires (comme les allozymes), il permet de détecter des flux génétiques différentiels entre mâles et femelles. Ce type de marqueurs permet en outre d'explorer et comprendre l'histoire de colonisation de l'espèce, en particulier depuis la dernière glaciation. Du point de vue de la conservation, ce type de marqueur permet aussi, par une analyse du degré de polymorphisme des populations échantillonnées, de détecter si elles ont subi ou non de goulots d'étranglement démographiques au cours de leur histoire.

Nous avons pu développer un protocole permettant d'amplifier deux fragments chevauchants de l'ADN mitochondrial, qui comprenaient les gènes mitochondriaux COI et COII, pour une longueur totale d'environ 2500 pb séquencées. Cinq individus ont été ainsi amplifiés grâce à ce protocole et nous avons pu en obtenir les séquences.

La vaste majorité des organismes ne présentent qu'une seule copie mitochondriale par individu. Les séquences obtenues ont mis en évidence que le fragment amplifié correspondait pour un même individu à au moins deux séquences distinctes. Ce cas de figure permet difficilement de procéder aux analyses qui permettraient de répondre aux objectifs évoqués ci-dessus.

Pour tenter de savoir si on pouvait, parmi ces séquences, isoler la séquence de l'ADN mitochondrial, deux individus (Co001 et Co023) ont été à nouveau amplifiés pour les deux fragments chevauchants et les produits d'amplification obtenus ont été clonés. Pour chaque fragment et chaque individu, dix clones ont été séquencés.

Ces nouvelles séquences ont aggravé le tableau initial : ce n'est pas deux séquences différentes que l'on a retrouvées parmi les clones mais entre quatre et cinq (Figure 5).

De ce fait, à ce stade, il n'est pas possible de répondre aux objectifs visés lors du lancement de l'étude. Des analyses plus poussées devraient être conduites pour élucider cette « anomalie », et qui vont au-delà du cadre de cette étude, tant en termes de temps que de coûts.

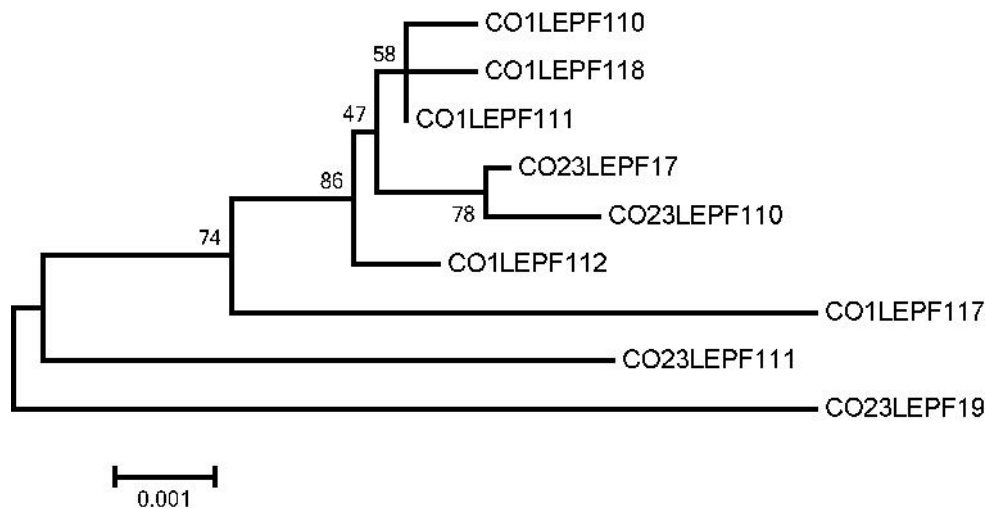


Figure 5 : Représentation phylogénétique des séquences isolées à partir de deux individus (Co1 et Co23) sur un des deux fragments mitochondriaux amplifiés.

Analyse morphométrique

Mesure des échantillons

Tous les individus échantillonnés ont été photographiés avec un Canon EOS40D et un objectif macro Canon 60 mm dans des conditions standard d'éclairage. Avec les ailes, un étalon de surface de 4 cm², une règle donnant l'échelle et les étiquettes de l'individu sont également présentes sur la photographie (figure 6).

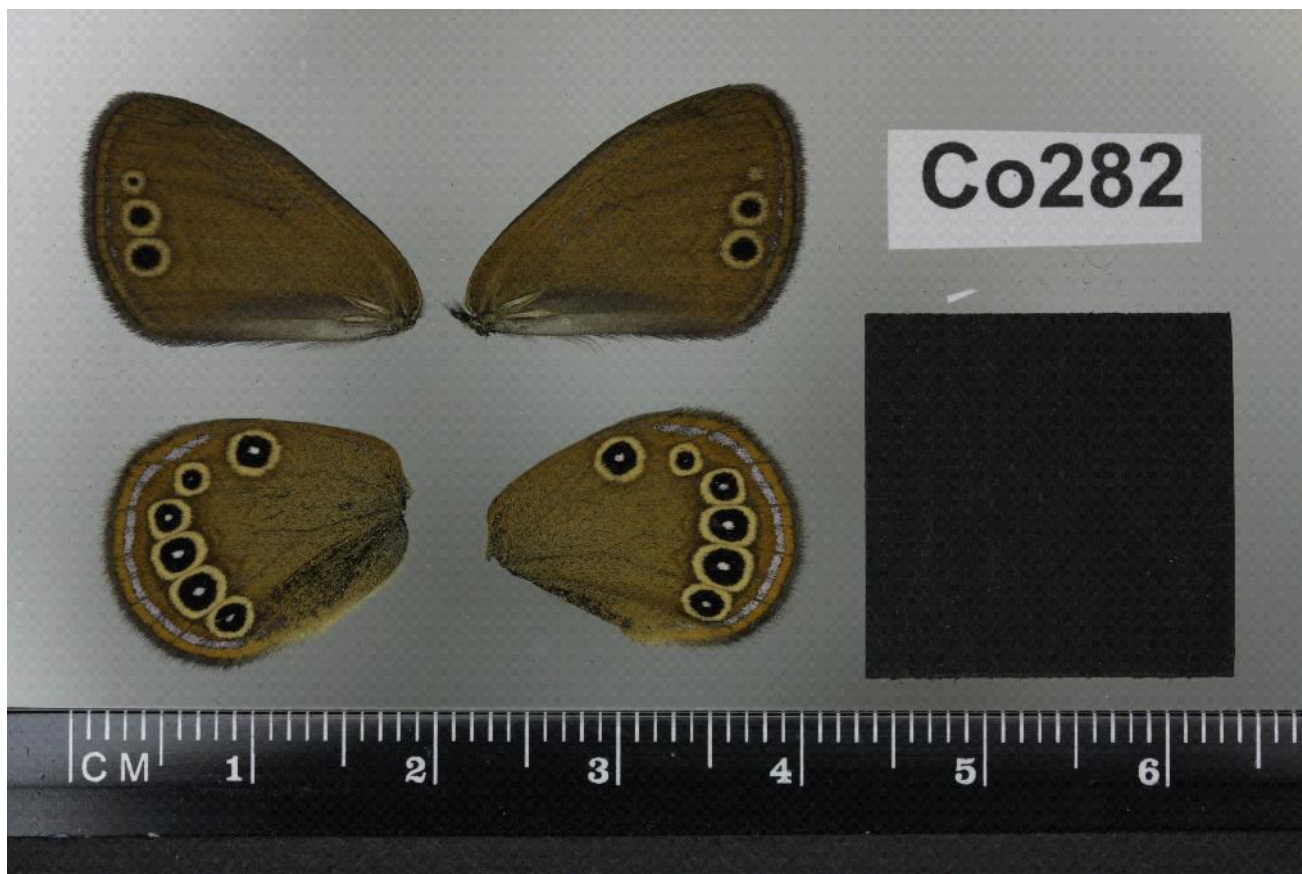


Figure 6. Exemple de photographie d'un échantillon, ici l'individu 282 en provenance d'Echourgnac.

Les photographies brutes (format RAW) ont été ensuite transformées en noir et blanc et réduites en taille pour être traitées par le logiciel ImageJ (Rasband 2012). Le carré noir étalon a permis de calibrer les mesures des surfaces effectuées automatiquement avec ImageJ. Avec ce logiciel, pour chaque photographie, les parties noires des ocelles des ailes antérieure et postérieure gauches sont mesurées ; les ailes droites n'étant utilisées que lorsque les ailes gauches furent endommagées et ainsi empêchant la prise de mesure. Sur chacune de ces ocelles sont enregistrés sa surface et les coordonnées de son barycentre (figure 7).

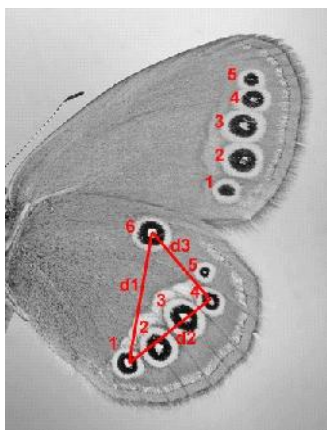


Figure 7. Mesures prises sur les ailes. Les 5 ocelles de l'aile antérieure et les 6 ocelles de l'aile postérieure sont mesurés lorsqu'ils sont présents. Comme les ocelles 1, 4 et 6 de l'aile postérieure sont présent chez tous les individus, les distances entre ces ocelles (notées d1, d2 et d3) sont évaluées au départ des coordonnées des barycentres des ocelles concernées.

Par individu, les données brutes sont les surfaces des 11 ocelles, les rapports entre la longueur et la largeur de l'ellipse correspondant le mieux au périmètre de l'ocelle et les distances d1, d2 et d3. S'y rajoutent les données dérivées : nombre d'ocelles de l'aile antérieure, nombre d'ocelles de l'aile postérieure, et rapport d2/d3 noté R1.

Analyse des mesures

Les 147 individus mâles issus des 182 échantillons ayant servi à l'analyse génétique sont traités, afin de tester si la morphologie permet de différencier les échantillons, et si les résultats de l'analyse morphométrique sont congruents avec ceux de la génétique des populations. Les données issues de imageJ ont été traitées par nos programmes d'analyse utilisant le système de traitement et d'analyse de données R (R Development Core Team 2013).

Comme les populations échantillonnées sont essentiellement organisées suivant un gradient nord sud, une analyse d'un modèle linéaire sur la variable latitude, avec comme variable explicatives possibles les nombres d'ocelles des ailes antérieure et postérieure, les distances d1, d2 et d3, les surfaces des ocelles 2 de l'aile antérieure, et des ocelles 1 et 6 de l'aile postérieure, a mis en évidence la distance d1 comme étant la variable la plus corrélée avec la latitude ($t=-3,565$, $P<0,001$), suivie des nombres d'ocelles de l'aile antérieure ($t=-2,17$, $P=0.03$) et la surface de l'ocelle 2 de l'aile antérieure ($t= 2.790$, $P<0,01$).

Les différentes variables, prises individuellement, présentent en général une variation en fonction de la localité d'origine (Annexe 8). Les variations de ces variables, prises individuellement, sont présentées à l'annexe 9.

Une analyse discriminante globale sur les 11 populations montre une faible différenciation entre les populations, regroupées en 3 lots : populations 1 à 3, populations 6 à 10, et population 11. Ce regroupement a été choisi afin de tester si l'analyse discriminante permet de différencier les populations en fonction d'un gradient nord sud. Les variables utilisées furent uniquement celles toujours présentes : les rapport longueur/largeur des ocelles de l'aile antérieure et de l'ocelle 5 de l'aile postérieure furent ignorées.

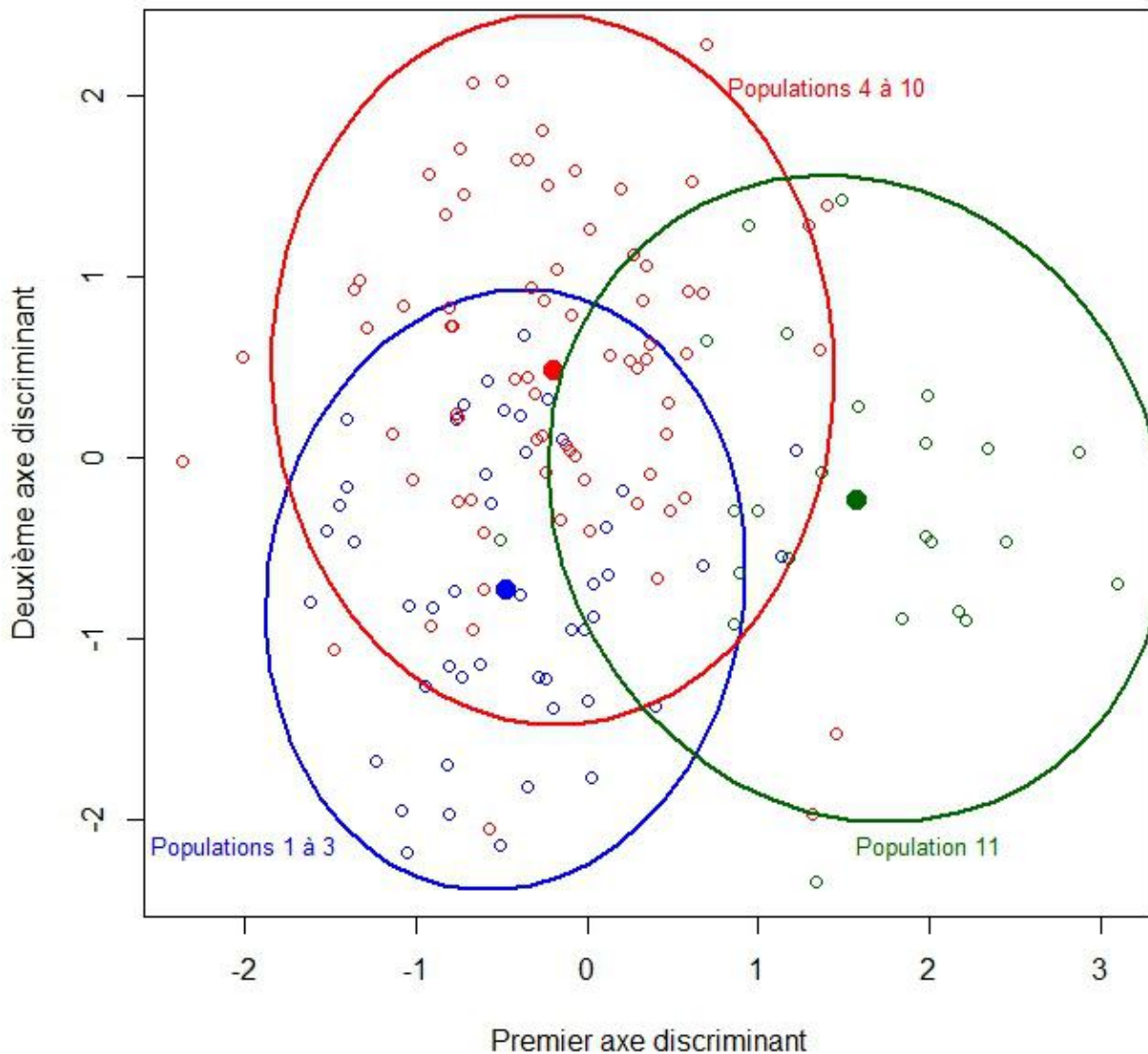


Figure 8. Analyse discriminante sur base des données morphométriques des 147 individus mâles analysés génétiquement. Les ellipses regroupent chaque fois les 90 % des échantillons de chaque groupe. Sur l'axe 1, la variance entre groupes représente 49 % de la variance totale (valeur propre = 0,494), et l'axe 2 en représente 31 % (valeur propre = 0,314).

Les populations sont faiblement différenciées suivant un axe nord sud. A une échelle plus locale, les analyses génétiques ont mis en évidence une différence entre les deux échantillons de Louchats, ainsi que la proximité génétique de l'échantillon de Parentis avec l'échantillon de Louchats prélevé en 2012. Une analyse discriminante a été menée uniquement sur ces échantillons (figure 9). Elle montre que les échantillons de Louchats de 2012 et 2013 sont complètement séparés, et que l'échantillon de Parentis est voisin de celui de Louchats 2012.

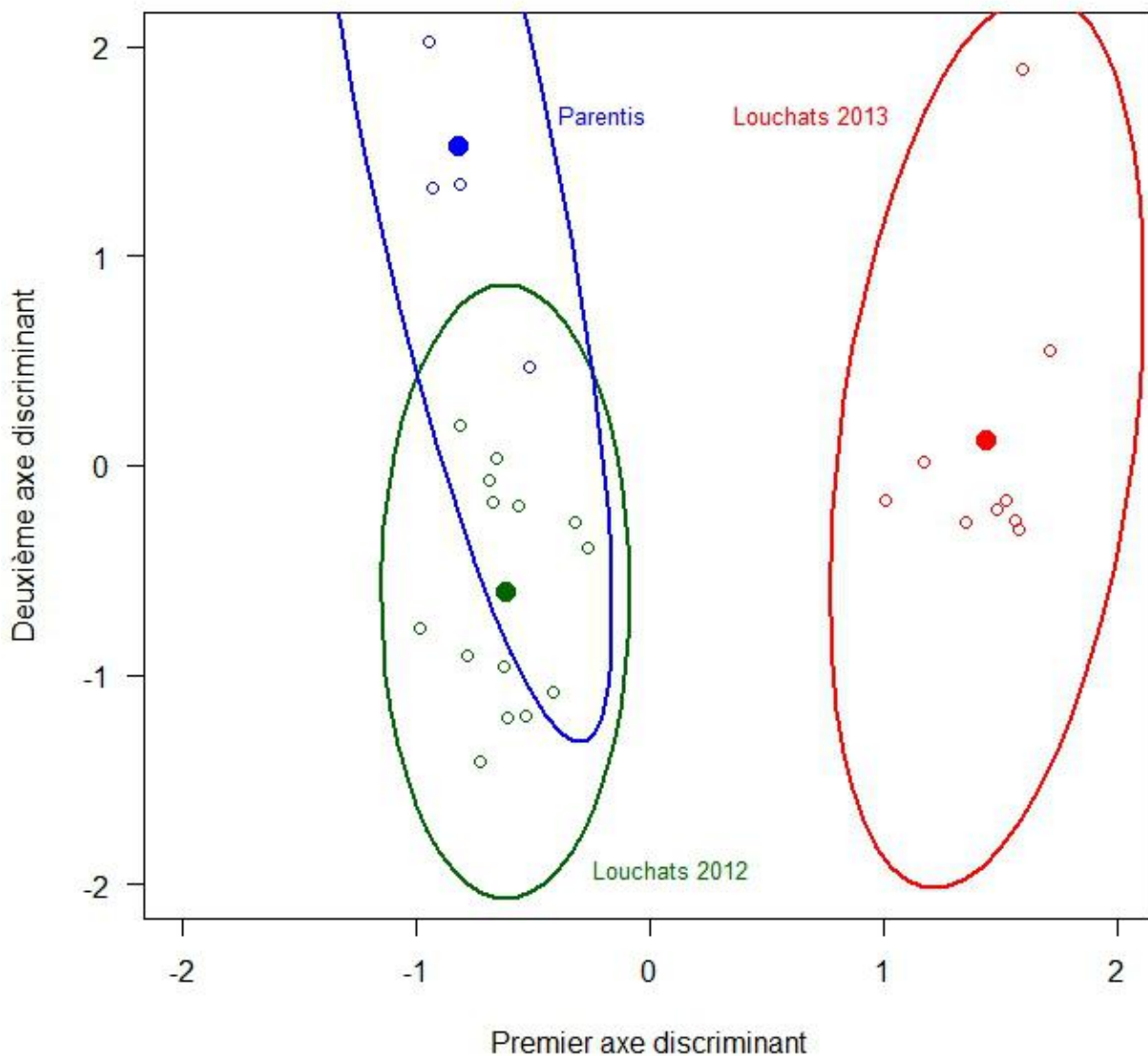


Figure 9. Analyse discriminante sur les individus mâles de Louchats et Parentis. La variance entre groupes représente 96 % de la variance totale sur l'axe 1 (valeur propre=0,965) et l'axe 2 en représente 65 % (valeur propre=0,650).

Une même analyse a été faite pour les populations des Mées nord et Mées sud, qui sont géographiquement voisines (Figure 10). La différenciation entre ces populations est faible, avec un fort recouvrement entre les nuages de points des trois zones. Comme l'échantillon d'Angoumé ne comprenait que des femelles, il n'a pu être inclus dans cette analyse

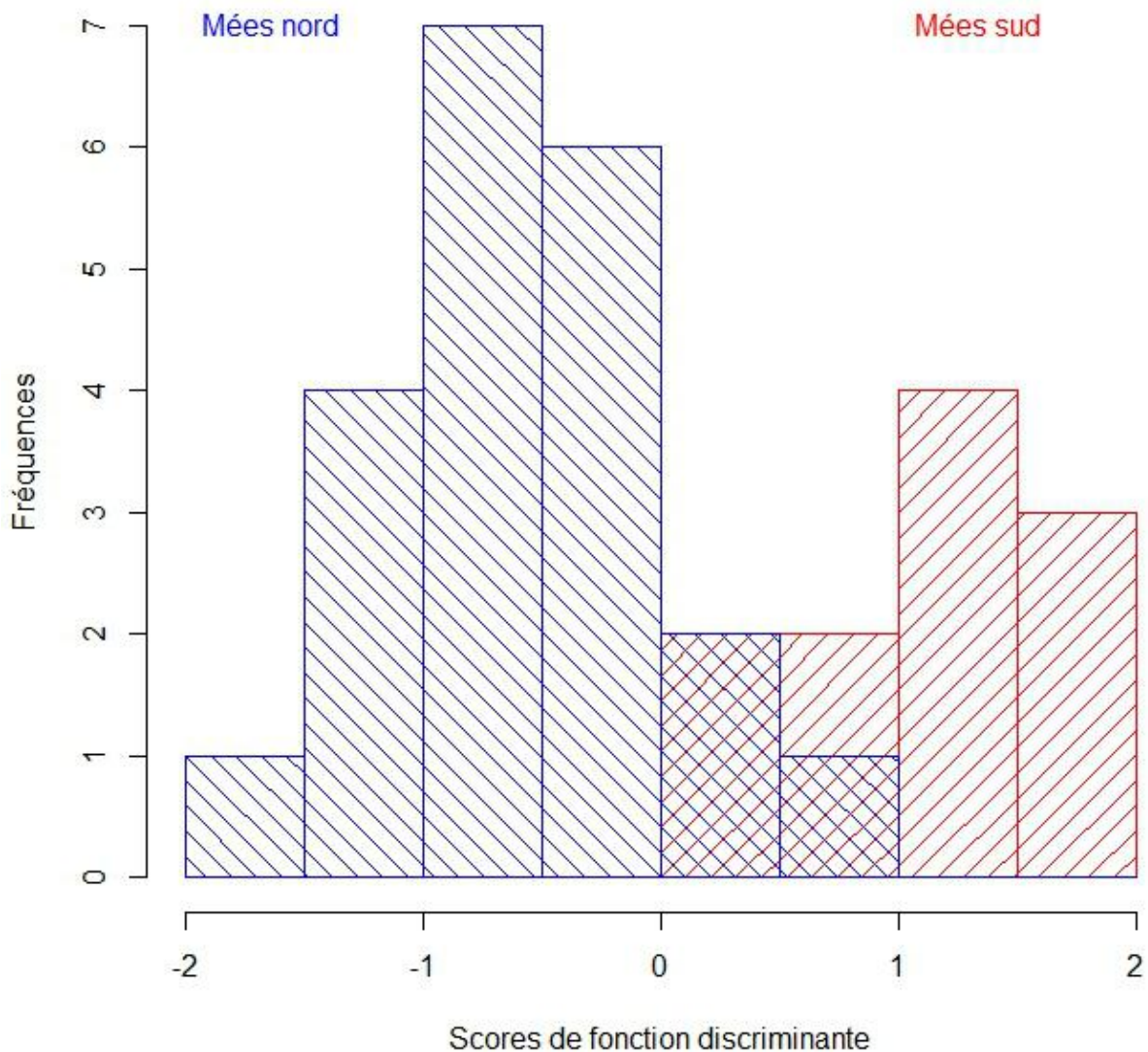


Figure 10. Analyse discriminante sur les individus des Mées nord et sud . La variance entre groupes représente 68 % de la variance totale sur l'axe des abscisses (valeur propre=0,677). Le recouvrement partiel des histogrammes des valeurs données par la fonction discriminante indique une différenciation incomplète, mais significative ($F_{1,30}=60,1$, $P<0,001$).

Il apparaît donc que les populations échantillonnées se différencient morphologiquement de manière similaire à la différenciation génétique mise en évidence par ailleurs : Il y a un faible gradient nord sud et des populations voisines peuvent être différentes, et une modification d'une année à l'autre est parfois possible, comme ce fut le cas à Louchats.

Analyse de tous les échantillons français

Une première analyse a porté sur la différenciation possible, d'une part entre les mâles et les femelles (dimorphisme sexuel) et d'autre part entre l'ensemble des populations d'Aquitaine d'une part (total de 254 individus) et les populations échantillonnées dans les Alpes d'autre part (Le Bachais et Brignoud, soit un total de 23 individus seulement).

Une analyse discriminante croisée sur les individus des Alpes et d'Aquitaine d'une part, et en distinguant les sexes d'autre part montrent d'abord un effet sexe (valeur propre du premier axe : 0,798), puis un effet localité (valeur propre du deuxième axe : 0,353) (figure 11).

Les échantillons des Alpes et d'Aquitaine ont été comparés pour toutes les variables morphométriques considérées, et séparément pour les mâles et les femelles. Certaines variables donnent des résultats congruents entre les sexes : les surfaces des ocelles 2 à 6 des ailes postérieures ainsi que la distance entre le centre de l'ocelle 1 et celui de l'ocelle 6 de l'aile postérieure sont différents significativement (à $P < 0.05$), et ce tant pour les mâles que pour les femelles.

Tous les spécimens

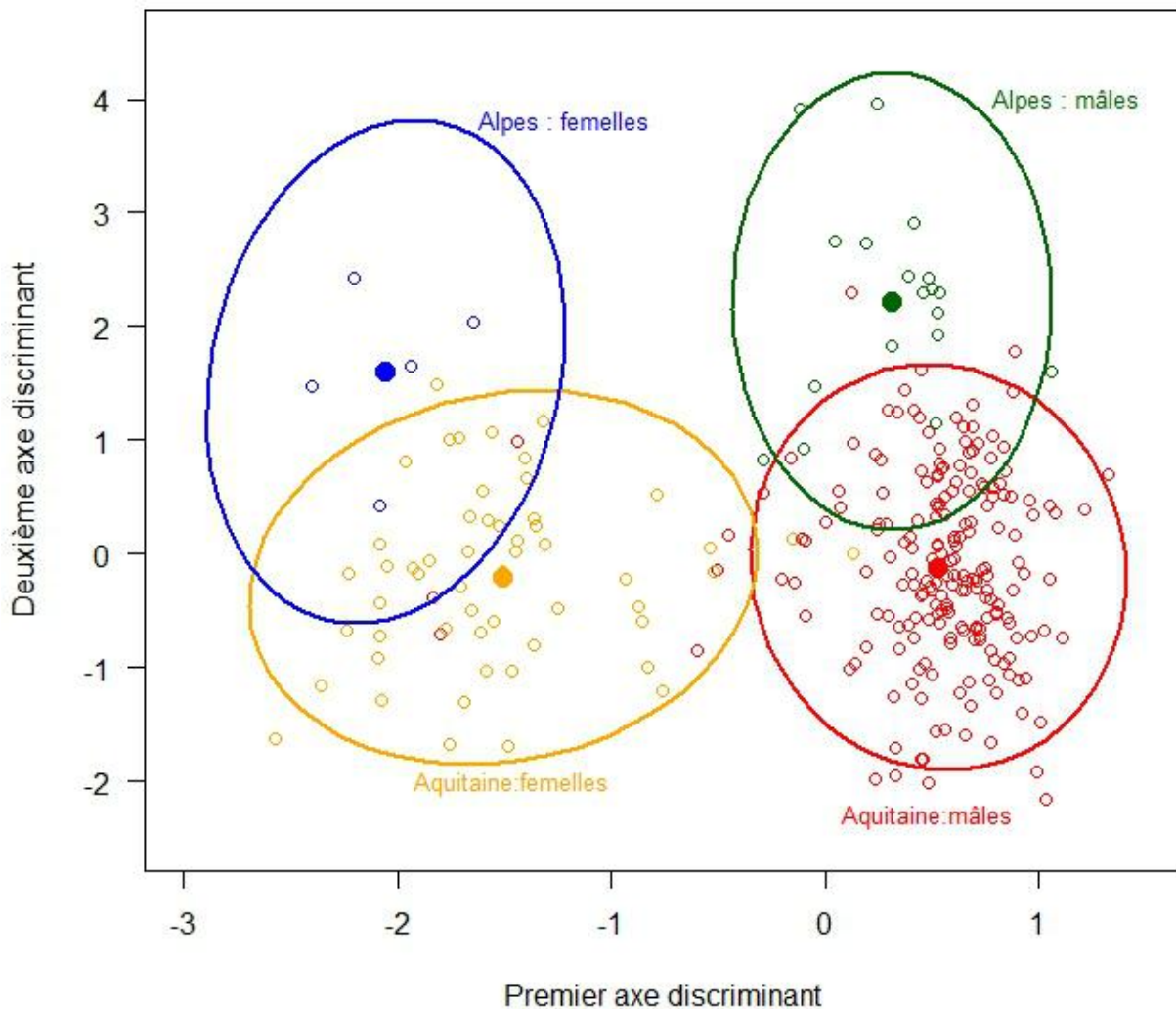


Figure 11. Différenciation des individus récoltés ou en collection, suivant la région (Alpes vs. Aquitaine) et le sexe (mâles vs femelles).

A une échelle plus petite, l'échantillon de Lourdes, récolté en 1962, est différent morphologiquement de celui de la localité voisine du plateau de Ger, récolté en 2012-2013, sans qu'il soit possible de séparer un effet temporel d'un effet spatial (figure 12).

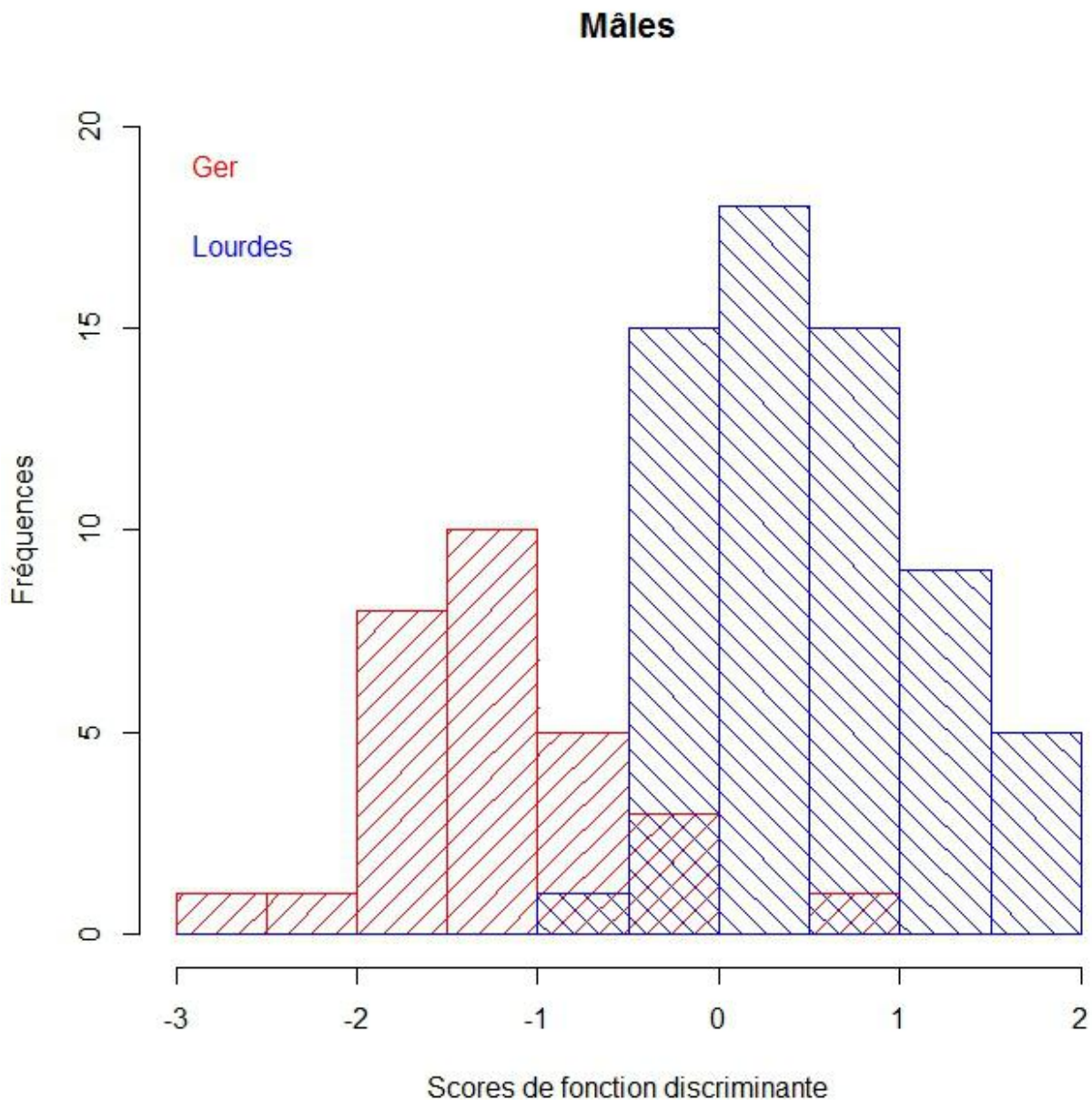


Figure 12. Analyse discriminante de la population du plateau de Ger par rapport à celle de Lourdes (mâles seulement). L'axe discriminant représente 64 % de la variation entre groupes (valeur propre = 0,639). La différence est hautement significative ($F_{1,90}=158,8; P<0,001$).

Il apparaît donc que les analyses morphométriques sur les surfaces des ocelles apportent des informations précieuses sur la différenciation des populations, et ce de manière cohérente avec les renseignements génétiques.

Conclusions générales

Les populations de *Coenonympha oedippus* présentent une forte diversité, tant génétique que morphologique, au sein de chacune des populations étudiées.

Au sein de la région Aquitaine, il y a un faible gradient génétique entre les populations du nord de la région (La Jemaye, Echourgnac, Saint Michel de Double) et celles du sud de la région (Mées, Angoumé et plateau de Ger), du principalement à la différenciation au sein du locus 6PG, qui est vraisemblablement sous sélection. Il importe donc de conserver ces différents groupes de populations avec leurs spécificités génétiques.

Au niveau morphologique, les populations des Alpes et celles d'Aquitaine sont bien différenciées. Bozano (2002), bien que listant une série de sous espèces décrites de *C. oedippus*, signale qu'il ne faut pas les prendre en considération, car les variations décrites comme existant entre les sous espèces existent dans l'ensemble de la distribution de l'espèce¹. Nos données montrent au contraire que certaines tendances peuvent être proposées, et que les populations des Alpes et celles d'Aquitaine varient en particulier par la taille des ocelles des ailes postérieures. En ce sens, les deux groupes de populations doivent être considérés séparément pour des mesures de conservation spécifiques.

1 « all the above variations are found in the whole distribution range of *A. oedippus*, therefore the many described subspecies should not be taken into consideration » (Bozano 2002)

Bibliographie

- Beaumont MA, Nichols RA (1996) Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure. *Proceedings of the Royal Society London B* 263, 1619-1626.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F (2004) *GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations*. Laboratoire Génome Populations Interactions, UMR 5000, CNRS, Université de Montpellier II, Montpellier, France
- Bozano, G. C. (2002). *Guide to the Butterflies of the Palearctic Region. Satyrinae part III, Tribe Satyrini: Subtribes Melanargina and Coenonymphina: Melanargia, Coenonympha, Sinonympha, Triphysa* (Omnes Artes.). Milano.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: A simulation study. *Mol Ecol* 14: 2611-2620.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) ARLEQUIN suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1567-1587
- Frankel, O. H., & Soulé, M. E. (1981). *Conservation and Evolution* (Cambridge University Press.). Cambridge.
- Hebert, P.D., Beaton, M.J., (1993) *Methodologies for Allozyme Analysis Using Cellulose Acetate Electrophoresis*, Helena Laboratories. ed. Beaumont, Tx, U.S.A.
- Leraut, P. J. (1997). *Liste systématique et synonymique des Lépidoptères de France, Belgique et Corse* (deuxième édition). *Alexanor (supplément)*, 1-526.
- Nève, G. (2009). Population genetics of European butterflies. In J. Settele, T. Shreeve, M. Konvicka, & H. Van Dyck (Éd.), *Ecology of Butterflies in Europe* (Cambridge University Press., p. 107-129). Cambridge.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly PJ (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- R Development Core Team. (2013). *R: A language and environment for statistical computing* (R Foundation for Statistical Computing.). Vienna. [<http://www.r-project.org>]
- Rasband, W.S. (2012) ImageJ. U. S. National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA. <http://imagej.nih.gov/ij/> [accédé le 26 juin 2012]
- Richardson, B. J., Baverstock, P. R., & Adams, M. (1986). *Allozyme Electrophoresis* (Academic Press.). Sydney.
- Rousset, F. (2008). Genepop'007: a complete re-implementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8, 103-106.
- Sinama, M., Dubut, V., Costedoat, C., Gilles, A., Junker, M., Malausa, T., Megléc, E. (2011). Challenge for microsatellite development in Lepidoptera: *Euphydryas aurinia* (Nymphalidae) as a case study. *European Journal of Entomology*, 108(2), 261-266.
- Verity, R. (1957). *Les Variations géographiques et saisonnières des Papillons diurnes en France*. Paris: Le Charles.



Figure 13. Origine des échantillons étudiés (non compris les quelques échantillons issus de localités non précisées)

Liste des échantillons de *Coenonympha oedippus* étudiés.

Les individus prélevés avant 2000 sont des individus de collection qui ont servi à l'analyse morphologique. Les coordonnées indiquées pour ces individus sont celles de la localité, lorsque le site précis de prélèvement n'a pas pu être localisé avec précision. Pour les individus prélevés à partir de 2010, les noms des lieux et les coordonnées sont celles fournies avec les échantillons.

numéro	sexe	commune	lieu dit	LatitudeN	LongitudeE	date
Co01	M	Echourgnac	La Lande	45,154720	0,184610	13/07/2010
Co02	F	Echourgnac	La Lande	45,154720	0,184610	13/07/2010
Co03	F	La Jemaye	Etangs de la Jemaye	45,160530	0,287170	13/07/2010
Co04	F	La Jemaye	Etangs de la Jemaye	45,160530	0,287170	13/07/2010
Co05	M	La Jemaye	Etangs de la Jemaye	45,160530	0,287170	13/07/2010
Co06	M	La Jemaye	Etangs de la Jemaye	45,160530	0,287170	13/07/2010
Co07	F	La Jemaye	Etangs de la Jemaye	45,160530	0,287170	13/07/2010
Co08	F	Mées N	Les Maneyres(1)	43,718610	-1,102917	21/07/2010
Co09	F	Mées N	Les Maneyres(1)	43,718610	-1,102917	21/07/2010
Co10	M	Mées N	Les Maneyres(1)	43,718610	-1,102917	21/07/2010
Co11	M	Mées N	Les Maneyres(1)	43,718610	-1,102917	21/07/2010
Co12	M	Mées N	Les Maneyres(1)	43,718610	-1,102917	21/07/2010
Co13	F	Mées N	Les Maneyres(1)	43,718610	-1,102917	21/07/2010
Co14	F	Mées S	L'estanque	43,704060	-1,129556	21/07/2010
Co15	F	Mées S	L'estanque	43,704060	-1,129556	21/07/2010
Co16	F	Saint André de Double	La Conquête	45,111720	0,281417	13/07/2010
Co17	F	Mées N	Les Maneyres	43,719420	-1,109056	21/07/2010
Co18	F	Mées N	Les Maneyres	43,719420	-1,109056	21/07/2010
Co19	M	Mées S	(sud)	43,704000	-1,127889	20/06/2011
Co20	M	Echourgnac	Le Perrier	45,136389	0,213278	13/07/2010
Co21	F	Echourgnac	Le Perrier	45,136389	0,213278	13/07/2010
Co22	M	Echourgnac	Le Perrier	45,136389	0,213278	13/07/2010
Co23	M	Echourgnac	Le Perrier	45,136389	0,213278	13/07/2010
Co24	M	Echourgnac	Le Perrier	45,136389	0,213278	13/07/2010
Co25	F	Mées N	L'estanque	43,716583	-1,101917	21/07/2010
Co26	M	Mées N	L'estanque	43,716583	-1,101917	21/07/2010
Co27	F	Mées N	L'estanque	43,716583	-1,101917	21/07/2010
Co28	F	Angoumé	Pelvezin	43,695306	-1,153056	21/07/2010
Co29	F?	Angoumé	Pelvezin	43,695306	-1,153056	21/07/2010
Co30	F	Angoumé	Pelvezin	43,695306	-1,153056	21/07/2010
Co31	F	Angoumé	Pelvezin	43,695306	-1,153056	21/07/2010
Co32	F	Angoumé	Pelvezin	43,695306	-1,153056	21/07/2010
Co33	F	Angoumé	Pelvezin	43,695306	-1,153056	21/07/2010
Co34	F	Angoumé	Pelvezin	43,695306	-1,153056	21/07/2010

Co35	F	Mées N	Les Maneyres	43,719417	-1,109056	21/07/2010
Co36	F	Mées N	Les Maneyres	43,719417	-1,109056	21/07/2010
Co37	F	Mées N	Les Maneyres	43,719417	-1,109056	21/07/2010
Co38	F	Mées N	Les Maneyres	43,719417	-1,109056	21/07/2010
Co39	M	Mées N	Les Maneyres	43,719417	-1,109056	21/07/2010
Co40	F	Mées N	Les Maneyres	43,719417	-1,109056	21/07/2010
Co41	M	Lourdes	Lac	43,109983	-0,094037	09/07/1962
Co42	F	Lourdes	Lac	43,109983	-0,094037	09/07/1962
Co43	M	Lourdes	Lac	43,109983	-0,094037	09/07/1962
Co44	F	Lourdes	Lac	43,109983	-0,094037	09/07/1962
Co45	M	Lourdes	Lac	43,109983	-0,094037	1959
Co46	M	Lourdes	Lac	43,109983	-0,094037	?
Co47	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/1962
Co48	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/1962
Co49	F	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/1962
Co50	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/1962
Co51	M	Parentis en Born	Lagune de Lanegras	44,392145	-1,005232	30/06/2011
Co52	M	Parentis en Born	Lagune de Lanegras	44,392145	-1,005232	30/06/2011
Co53	F	Parentis en Born	Lagune de Lanegras	44,392145	-1,005232	30/06/2011
Co54	M	Mées S	Estanque	43,703942	-1,128512	08/07/2011
Co55	M	Mées S	Estanque	43,703942	-1,128512	08/07/2011
Co56	M	Parentis en Born	Lagune de Lanegras	44,382030	-1,050310	30/06/2011
Co57	F	Parentis en Born	Lagune de Lanegras	44,382030	-1,050310	30/06/2011
Co58	M	Parentis en Born	Lagune de Lanegras	44,382030	-1,050310	30/06/2011
Co59	M	Parentis en Born	Lagune de Lanegras	44,382030	-1,050310	30/06/2011
Co60	M	Louchats	Janic	44,512092	-0,578293	11/07/2012
Co61	M	Louchats	Janic	44,511888	-0,578473	11/07/2012
Co62	M	Louchats	Janic	44,505742	-0,590360	11/07/2012
Co63	M	Mées N	Estinaux	43,720435	-1,110821	08/07/2011
Co64	M	Mées S	s/Estanque	43,704070	-1,126688	28/06/2011
Co65	M	Mées S	s/Estanque	43,704070	-1,126688	28/06/2011
Co66	M	Mées S	s/Estanque	43,704070	-1,126688	28/06/2011
Co67	M	Belin-Beliet (33)	La Lande	44,545780	-0,769157	04/07/2012
Co68	M	Belin-Beliet (33)	La Lande	44,543158	-0,771415	04/07/2012
Co69	M	Belin-Beliet	La Lande	44,543260	-0,768283	04/07/2012

(33)						
Co70	M	Belin-Beliet (33)	La Lande	44,538408	-0,771217	04/07/2012
Co71	M	Belin-Beliet (33)	La Lande	44,538503	-0,771328	04/07/2012
Co72	F	Mées S	Estanque 1	43,704103	-1,130283	10/07/2012
Co73	M	Mées S	Estanque 1	43,704103	-1,130283	10/07/2012
Co74	M	Mées S	Estanque 1	43,704103	-1,130283	10/07/2012
Co75	F	Mées S	Estanque 1	43,704103	-1,130283	10/07/2012
Co76	F	Mées S	Estanque 1	43,704103	-1,130283	10/07/2012
Co77	F	Mées S	Estanque 1	43,704103	-1,130283	10/07/2012
Co78	F	Mées S	Estanque 1	43,704103	-1,130283	10/07/2012
Co79	M	Mées - Nord		43,718559	-1,106722	10/07/2012
Co80	F	Mées - Nord		43,718559	-1,106722	10/07/2012
Co81	M	Mées - Nord		43,718559	-1,106722	10/07/2012
Co82	F	Mées - Nord		43,718559	-1,106722	10/07/2012
Co83	M	Mées - Nord		43,718559	-1,106722	10/07/2012
Co84	M	Mées - Nord		43,718559	-1,106722	10/07/2012
Co85	M	Mées - Nord		43,718559	-1,106722	10/07/2012
Co86	F	Mées - Nord		43,718559	-1,106722	10/07/2012
Co87	M	Mées - Nord		43,718559	-1,106722	10/07/2012
Co88	M	Mées - Nord		43,718559	-1,106722	10/07/2012
Co89	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co90	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co91	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co92	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co93	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co94	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co95	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co96	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co97	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co98	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co99	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co100	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co101	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co102	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co103	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co104	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co105	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co106	M		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012
Co107	F		Plateau de Ger	43,200173	-0,050928	12/07/2012

Co108	M	Louchats	Pujau Nègre	44,490740	-0,558183	11/07/2012
Co109	M	Louchats	Pujau Nègre	44,490728	-0,558170	11/07/2012
Co110	M	Louchats	Pujau Nègre	44,492010	-0,545652	11/07/2012
Co111	M	Louchats	Pujau Nègre	44,490625	-0,558792	11/07/2012
Co112	M	Louchats	Pujau Nègre	44,491902	-0,546455	11/07/2012
Co113	M	Louchats	Pujau Nègre	44,491950	-0,546163	11/07/2012
Co114	M	Mées	sud	43,705143	-1,124189	10/07/2012
Co115	F	Mées	sud	43,705143	-1,124189	10/07/2012
Co116	F	Mées	sud	43,705143	-1,124189	10/07/2012
Co117	F	Mées	sud	43,705143	-1,124189	10/07/2012
Co118	F	Mées	sud	43,705143	-1,124189	10/07/2012
Co119	M	Mées	sud	43,705143	-1,124189	10/07/2012
Co120	M	Mées	sud	43,705143	-1,124189	10/07/2012
Co121	F	Mées	sud	43,705143	-1,124189	10/07/2012
Co122	F	Le Lude	Savigné s/S	47,618772	0,056512	22/06/66
Co123	F	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co124	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co125	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co126	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co127	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co128	F	Epannes (Deux Sèvres)		46,229500	-0,579294	29/07/26
Co129	F	Gironde				06/07/16
Co130	M?	Gironde				08/07/14
Co131	F	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/59
Co132	F	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/59
Co133	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co134	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co135	F	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co136	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co137	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co138	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co139	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co140	F	Lac de		43,109983	-0,094037	09/07/62

		Lourdes			
Co141	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co142	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co143	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co144	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co145	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co146	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co147	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co148	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co149	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co150	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co151	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co152	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co153	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co154	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co155	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co156	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co157	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co158	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co159	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co160	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co161	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co162	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co163	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co164	M	Lac de	43,109983	-0,094037	04/07/60

		Lourdes			
Co165	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co166	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co167	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co168	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co169	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co170	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co171	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co172	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co173	F	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co174	F	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co175	F	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co176	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	09/07/59
Co177	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	09/07/59
Co178	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	09/07/59
Co179	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	09/07/59
Co180	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	09/07/59
Co181	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	09/07/59
Co182	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	09/07/59
Co183	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co184	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co185	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	04/07/60
Co186	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	09/07/59
Co187	M	Lac de Lourdes	43,109983	-0,094037	09/07/59
Co188	M	Lac de	43,109983	-0,094037	09/07/59

		Lourdes				
Co189	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/59
Co190	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/59
Co191	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/59
Co192	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co193	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co194	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co195	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co196	M	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co197	F	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co198	F	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co199	F	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co200	F	Lac de Lourdes		43,109983	-0,094037	09/07/62
Co201	M	Gironde				06/07/15
Co202	M?	Hirschke, Autriche				
Co203	M	Amuré	Deux Sèvres	46,265405	-0,627508	03/07/11
Co204	M	Amuré	Deux Sèvres	46,265405	-0,627508	02/07/20
Co205	F	Amuré	Deux Sèvres	46,265405	-0,627508	
Co206	M	Biarritz		43,483788	-1,538817	
Co207	F	Amuré	Deux Sèvres	46,265405	-0,627508	
Co208	F	Hirschke, Autriche				
Co209	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co210	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co211	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co212	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co213	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co214	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co215	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co216	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co217	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co218	F	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62

Co219	M	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co220	F	Brignoud	Bernin	45,260899	5,887128	02/07/62
Co221	F	Le Bachais	Isère	45,213056	5,775522	juillet/1939
Co222	M	Le Bachais	Isère	45,213056	5,775522	juillet/1939
Co223	M	Belin-Béliet	La Lande	44,538272	-0,771490	09/07/13
Co224	M	Belin-Béliet	La Lande	44,538272	-0,771490	09/07/13
Co225	M	Belin-Béliet	La Lande	44,538272	-0,771490	09/07/13
Co226	M	Belin-Béliet	La Lande	44,538272	-0,771490	09/07/13
Co227	M	Belin-Béliet	La Lande	44,538272	-0,771490	09/07/13
Co228	M	Belin-Béliet	La Lande	44,538272	-0,771490	09/07/13
Co229	M	Belin-Béliet	La Lande	44,538272	-0,771490	09/07/13
Co230	M	Belin-Béliet	La Lande	44,538272	-0,771490	09/07/13
Co231	M	Belin-Béliet	La Lande	44,538272	-0,771490	09/07/13
Co232	M	Belin-Béliet	La Lande	44,538272	-0,771490	09/07/13
Co233	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co234	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co235	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co236	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co237	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co238	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co239	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co240	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co241	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co242	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co243	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co244	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co245	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co246	M	St-Michel- de-Double	Fonvaute	45,097902	0,294305	10/07/13
Co247	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13
Co248	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13
Co249	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13

Co250	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13
Co251	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13
Co252	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13
Co253	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13
Co254	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13
Co255	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13
Co256	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13
Co257	M	Ger	Plateau de Ger	43,218372	-0,049187	18/07/13
Co258	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co259	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co260	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co261	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co262	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co263	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co264	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co265	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co266	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co267	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co268	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co269	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co270	M	Mées N	Estiraux	43,718400	-1,104948	05/07/13
Co271	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co272	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co273	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co274	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co275	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co276	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co277	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co278	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co279	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co280	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co281	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co282	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co283	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co284	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co285	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co286	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co287	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co288	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co289	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13
Co290	M	Echourgnac		45,154590	0,203752	09/07/13

Co291	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co292	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co293	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co294	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co295	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co296	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co297	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co298	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co299	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co300	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co301	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co302	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co303	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co304	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co305	M	Louchats	Hazera Hostens	44,490578	-0,559013	09/07/13
Co306	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co307	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co308	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co309	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co310	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co311	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co312	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co313	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co314	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co315	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co316	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co317	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co318	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13
Co319	M	La Jemaye	Le Périer	45,157145	0,260510	09/07/13

Annexe 2
Fréquences alléliques observées dans les populations

Populations	6PG		G6P			GAP		GO1			
	1	2	1	2	3	1	2	1	2	3	4
1 La Jemaye	0,867	0,133	0,133	0,867	0,000	1,000	0,000	0,000	0,033	0,967	0,000
2 Echourgnac	0,935	0,065	0,130	0,848	0,022	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
3 St-Michel-de-Double	0,964	0,036	0,250	0,714	0,036	0,964	0,036	0,000	0,071	0,929	0,000
4 La Lande	0,600	0,400	0,233	0,733	0,033	1,000	0,000	0,000	0,133	0,867	0,000
5 Louchats 1	0,857	0,143	0,321	0,679	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
6 Parentis	0,500	0,500	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,929	0,071
7 Louchats 2	0,333	0,667	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,944	0,056
8 Les Mées Nord	0,871	0,129	0,177	0,823	0,000	1,000	0,000	0,016	0,032	0,952	0,000
9 Les Mées Sud	0,568	0,432	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,023	0,000	0,932	0,045
10 Angoumé	0,500	0,500	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,143	0,786	0,071
11 Plateau de Ger	0,420	0,580	0,040	0,940	0,020	1,000	0,000	0,000	0,000	0,960	0,040

Populations	GO2			GPD			ID2				
	1	3	4	1	2	3	1	2	3	4	5
1 La Jemaye	0,000	0,767	0,233	0,000	0,700	0,300	0,000	0,000	0,133	0,833	0,033
2 Echourgnac	0,000	0,891	0,109	0,000	0,630	0,370	0,000	0,022	0,152	0,804	0,022
3 St-Michel-de-Double	0,036	0,679	0,286	0,036	0,893	0,071	0,000	0,036	0,214	0,714	0,036
4 La Lande	0,100	0,633	0,267	0,000	0,500	0,500	0,000	0,167	0,100	0,733	0,000
5 Louchats 1	0,036	0,679	0,286	0,000	0,357	0,643	0,000	0,071	0,107	0,821	0,000
6 Parentis	0,071	0,500	0,429	0,000	0,643	0,357	0,000	0,214	0,143	0,643	0,000
7 Louchats 2	0,000	0,611	0,389	0,000	0,889	0,111	0,000	0,111	0,111	0,778	0,000
8 Les Mées Nord	0,016	0,694	0,290	0,081	0,726	0,194	0,016	0,016	0,081	0,887	0,000
9 Les Mées Sud	0,023	0,591	0,386	0,000	0,841	0,159	0,000	0,045	0,068	0,886	0,000
10 Angoumé	0,000	0,786	0,214	0,071	0,857	0,071	0,000	0,143	0,214	0,571	0,071
11 Plateau de Ger	0,060	0,860	0,080	0,100	0,800	0,100	0,000	0,140	0,080	0,760	0,020

Populations	MD1			MD2			ME		PEP		
	1	3	4	1	2	3	1	2	1	2	3
1 La Jemaye	0,900	0,100	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,100	0,900	0,000
2 Echourgnac	0,978	0,022	0,000	0,000	0,935	0,065	0,000	1,000	0,065	0,935	0,000
3 St-Michel-de-Double	0,964	0,000	0,036	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,250	0,750	0,000
4 La Lande	0,833	0,167	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,033	0,933	0,033
5 Louchats 1	1,000	0,000	0,000	0,000	0,857	0,143	0,036	0,964	0,071	0,893	0,036
6 Parentis	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,929	0,071
7 Louchats 2	0,944	0,056	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,778	0,222
8 Les Mées Nord	0,952	0,048	0,000	0,000	0,935	0,065	0,016	0,984	0,032	0,968	0,000
9 Les Mées Sud	0,977	0,023	0,000	0,000	1,000	0,000	0,023	0,977	0,023	0,932	0,045
10 Angoumé	0,929	0,071	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,929	0,071
11 Plateau de Ger	0,940	0,060	0,000	0,060	0,940	0,000	0,000	1,000	0,080	0,900	0,020

Populations	PGI			PGM					PK		
	1	2	3	1	2	3	4	5	1	2	3
1 La Jemaye	0,067	0,333	0,600	0,033	0,133	0,167	0,533	0,133	0,200	0,800	0,000
2 Echourgnac	0,065	0,370	0,565	0,000	0,239	0,109	0,587	0,065	0,174	0,826	0,000
3 St-Michel-de-Double	0,000	0,643	0,357	0,000	0,214	0,214	0,536	0,036	0,000	1,000	0,000
4 La Lande	0,000	0,400	0,600	0,033	0,400	0,033	0,533	0,000	0,000	1,000	0,000
5 Louchats 1	0,000	0,286	0,714	0,071	0,321	0,143	0,429	0,036	0,143	0,857	0,000
6 Parentis	0,000	0,357	0,643	0,000	0,214	0,143	0,643	0,000	0,143	0,857	0,000
7 Louchats 2	0,000	0,611	0,389	0,000	0,333	0,056	0,611	0,000	0,167	0,833	0,000
8 Les Mées Nord	0,000	0,403	0,597	0,016	0,387	0,065	0,532	0,000	0,097	0,903	0,000
9 Les Mées Sud	0,000	0,273	0,727	0,023	0,227	0,023	0,727	0,000	0,091	0,886	0,023
10 Angoumé	0,000	0,357	0,643	0,000	0,214	0,071	0,714	0,000	0,214	0,786	0,000
11 Plateau de Ger	0,020	0,280	0,700	0,020	0,380	0,180	0,420	0,000	0,240	0,760	0,000

Annexe 3

Hétérozygoties observées des populations

 $I-Q_{intra}$, calculé par GENEPOP

	Populations	Tous les loci	6PG	G6P	GAP	GO1	GO2	GPD	ID2	MD1
1	La Jemaye	0,2333	0,1333	0,2667	0,0000	0,0667	0,2000	0,4667	0,3333	0,2000
2	Echourgnac	0,1925	0,0435	0,1739	0,0000	0,0000	0,2174	0,2174	0,3913	0,0435
3	St-Michel-de-Double	0,1786	0,0714	0,3571	0,0714	0,1429	0,2143	0,2143	0,3571	0,0714
4	La Lande	0,2190	0,2667	0,3333	0,0000	0,2667	0,4667	0,3333	0,3333	0,0667
5	Louchats 1	0,2500	0,1429	0,3571	0,0000	0,0000	0,2143	0,4286	0,2857	0,0000
6	Parentis	0,2347	0,1429	0,0000	0,0000	0,1429	0,5625	0,4286	0,4286	0,0000
7	Louchats 2	0,2347	0,6667	0,0000	0,0000	0,1111	0,5556	0,2222	0,4444	0,1111
8	Les Mées Nord	0,1728	0,0645	0,0968	0,0000	0,0968	0,2258	0,3548	0,2258	0,0968
9	Les Mées Sud	0,1558	0,2273	0,0000	0,0000	0,1364	0,5000	0,0455	0,2273	0,0455
10	Angoumé	0,2653	0,4286	0,0000	0,0000	0,4286	0,1429	0,2857	0,8571	0,1429
11	Plateau de Ger	0,2286	0,3600	0,1200	0,0000	0,0800	0,2400	0,4000	0,3600	0,0400

	Populations	MD2	ME	PEP	PGI	PGM	PK
1	La Jemaye	0,0000	0,0000	0,2000	0,5333	0,6000	0,2667
2	Echourgnac	0,1304	0,0000	0,1304	0,5217	0,5652	0,2609
3	St-Michel-de-Double	0,0000	0,0000	0,2143	0,2857	0,5000	0,0000
4	La Lande	0,0000	0,0000	0,1333	0,5333	0,3333	0,0000
5	Louchats 1	0,2857	0,0714	0,2143	0,4286	0,7857	0,2857
6	Parentis	0,0000	0,0000	0,1429	0,4286	0,7143	0,2857
7	Louchats 2	0,0000	0,0000	0,4444	0,5556	0,5556	0,3333
8	Les Mées Nord	0,1290	0,0323	0,0645	0,4839	0,4194	0,1290
9	Les Mées Sud	0,0000	0,0455	0,1364	0,2727	0,3182	0,2273
10	Angoumé	0,0000	0,0000	0,1429	0,7143	0,1429	0,4286
11	Plateau de Ger	0,1200	0,0000	0,2000	0,4400	0,5200	0,3200

Annexe 4

Ecart par rapport à l'équilibre de Hardy Weinberg : valeurs de probabilités « *HW probability test* », données par GENEPOP

	Populations	Tous les loci	6PG	G6P	GAP	GO1	GO2	GPD	ID2	MD1	MD2
1	La Jemaye	0,8645	0,2035	1,0000	-	-	0,1266	1,0000	1,0000	1,0000	-
2	Echourgnac	0,3593	0,0668	0,0498	-	-	1,0000	0,0199	1,0000	-	1,0000
3	St-Michel-de-Double	0,1714	-	0,2563	-	1,0000	0,0256	1,0000	0,2840	-	-
4	La Lande	0,0222	0,1103	0,2244	-	1,0000	0,4309	0,2972	0,0493	0,0184	-
5	Louchats 1	0,7658	0,2181	0,5561	-	-	0,0263	1,0000	0,3527	-	1,0000
6	Parentis	0,8917	0,1186	-	-	-	1,0000	1,0000	0,1579	-	-
7	Louchats 2	1,0000	0,4565	-	-	-	1,0000	1,0000	1,000	-	-
8	Les Mées Nord	0,0030	0,0018	0,0015	-	1,0000	0,0037	0,1690	1,0000	1,0000	1,0000
9	Les Mées Sud	0,0550	0,0127	-	-	1,0000	0,6189	0,0016	1,0000	-	-
10	Angoumé	0,6951	1,0000	-	-	1,0000	0,2304	1,0000	0,7764	-	-
11	Plateau de Ger	0,7774	0,2218	1,0000	-	1,0000	0,3814	1,0000	0,5116	0,0605	1,0000

	Populations	ME	PEP	PGI	PGM	PK
1	La Jemaye	-	1,0000	0,2776	0,4207	0,4614
2	Echourgnac	-	1,0000	0,6445	0,8970	0,5212
3	St-Michel-de-Double	-	0,1435	0,2388	0,4328	-
4	La Lande	-	1,0000	1,0000	0,0130	-
5	Louchats 1	-	1,0000	1,0000	0,4405	1,0000
6	Parentis	-	-	1,0000	1,0000	1,0000
7	Louchats 2	-	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
8	Les Mées Nord	-	1,0000	1,0000	0,0842	0,2324
9	Les Mées Sud	-	1,0000	0,2697	0,1733	1,0000
10	Angoumé	-	-	0,4398	0,0210	1,0000
11	Plateau de Ger	-	1,0000	1,0000	0,0644	0,5860

Test locus par locus

Locus	P-Val
6PG	0,0008
G6P	0,0264
GAP	-
GO1	1,0000
GO2	0,0254
GPD	0,2185
ID2	0,8090
MD1	0,0947
MD2	1,0000
ME	-
PEP	0,9998
PGI	0,9805
PGM	0,0282
PK	0,9913

Annexe 5

Tests de déséquilibre de liaison, par paire de loci, pour toutes les populations.
Valeurs de probabilités données par GENEPOP (méthode de Fisher)

	6PG	G6P	GAP	GO1	GO2	GPD	ID2	MD1	MD2	ME	PEP	PGI	PGM
G6P	0,408												
GAP	1,000	1,000											
GO1	0,971	0,625	1,000										
GO2	0,849	0,893	0,427	0,924									
GPD	0,698	0,164	1,000	0,999	0,119								
ID2	0,628	0,390	0,216	0,967	0,533	0,876							
MD1	0,994	0,969	1,000	0,991	0,372	0,996	0,975						
MD2	0,818	0,604	-	0,568	0,795	0,382	0,488	0,320					
ME	0,208	1,000	-	1,000	0,798	0,844	1,000	1,000	0,644				
PEP	0,893	0,617	0,142	0,947	0,275	0,956	0,784	1,000	0,941	1,000			
PGI	0,596	0,993	1,000	0,927	0,958	0,987	0,982	0,954	0,989	1,000	0,635		
PGM	0,944	0,488	0,647	0,992	0,953	0,577	0,694	0,327	0,017	0,291	0,989	0,807	
PK	0,930	0,073	-	0,931	0,993	0,748	0,238	0,966	0,999	0,485	0,992	0,550	0,858

Annexe 6

Différenciation entre les 10 populations, ne sont indiqués ici que les cas où la différenciation est reconnue comme significative à 5 % par la méthode du test de G proposé par Raymond & Rousset (1995), calculé par Genepop 4.0 (Rousset, 2007).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	-								
2		-							
3		0,014	-						
4	0,033	<0,001	0,003	-					
5			0,039		-				
6			0,039			-			
7	0,002	<0,001	<0,001	0,012	<0,001		-		
8			0,046	0,047			0,007	-	
9	0,019	<0,001	<0,001	0,007	0,002				-
10		0,023	0,038		0,015				
11	0,002	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001			<0,001	0,018

Distances en km entre paires de populations. Les paires de populations statistiquement différentes sont surlignées en jaune.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0									
2	4	0								
3	7	10	0							
4	106	102	104	0						
5	98	95	95	18	0					
6	131	128	129	25	37	0				
7	98	95	95	18	0	37	0			
8	194	191	190	96	96	75	96	0		
9	196	193	192	98	98	77	98	2	0	
10	198	195	194	100	100	78	100	4	3	0
11	217	216	211	159	147	152	147	102	102	104

Annexe 7

Fst par paires de populations, global pour tous les loci considérés.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0									
2	-0.0152	0								
3	0.0310	0.0532	0							
4	0.0196	0.0256	0.0530	0						
5	0.0304	0.0275	0.1010	0.0026	0					
6	-0.0047	0.0159	0.0411	-0.0037	0.0286	0				
7	0.0263	0.0472	0.0118	0.0531	0.1103	-0.0009	0			
8	0.0007	0.0093	0.0322	0.0154	0.0423	0.0047	0.0155	0		
9	0.0213	0.0483	0.0818	0.0659	0.1055	-0.0100	0.0239	0.0161	0	
10	-0.0008	0.0160	0.0311	0.0386	0.0956	-0.0188	0.0007	0.0138	0.0059	0
11	0.0124	0.0199	0.0714	0.0656	0.0846	0.0320	0.0447	0.0219	0.0480	-0.0008

Annexe 8

Analyse de la variance des caractères morphologiques chez les mâles entre les 10 localités pour chacune des variables prises isolément. A Angoumé seulement des femelles ont été capturées, cette localité n'est donc pas présentée ici

Pour toutes les variables prises individuellement les nombre de degrés de libertés associés aux valeurs de F sont de 9 et 137.

* : $P < 0,05$

** : $P < 0,01$

*** : $P < 0,001$

Caractère	F	P associé
Surface de l'ocelle 1 de l'aile antérieure	0,652	0,75
Surface de l'ocelle 2 de l'aile antérieure	2,239	0,023*
Surface de l'ocelle 3 de l'aile antérieure	1,032	0,418
Surface de l'ocelle 4 de l'aile antérieure	0,971	0,466
Surface de l'ocelle 5 de l'aile antérieure	0,703	0,705
Surface de l'ocelle 1 de l'aile postérieure	3,093	0,002**
Surface de l'ocelle 2 de l'aile postérieure	4,368	<0,001***
Surface de l'ocelle 3 de l'aile postérieure	2,278	0,021*
Surface de l'ocelle 4 de l'aile postérieure	3,982	<0,001
Surface de l'ocelle 5 de l'aile postérieure	2,866	0,004**
Surface de l'ocelle 6 de l'aile postérieure	3,306	0,001**
Nombre d'ocelles de l'aile antérieure	0,923	0,503
Nombre d'ocelles de l'aile postérieure	1,790	0,075
d1 = Distance Ocelle 1 ocelle – ocelle 6 aile postérieure	11,040	<0,001
d2 = Distance Ocelle 1 ocelle – ocelle 4 aile postérieure	6,609	<0,001
d3 = Distance Ocelle 4 ocelle – ocelle 6 aile postérieure	8,858	<0,001
Rapport R1=d2/d3	2,226	0,024*

Annexe 9

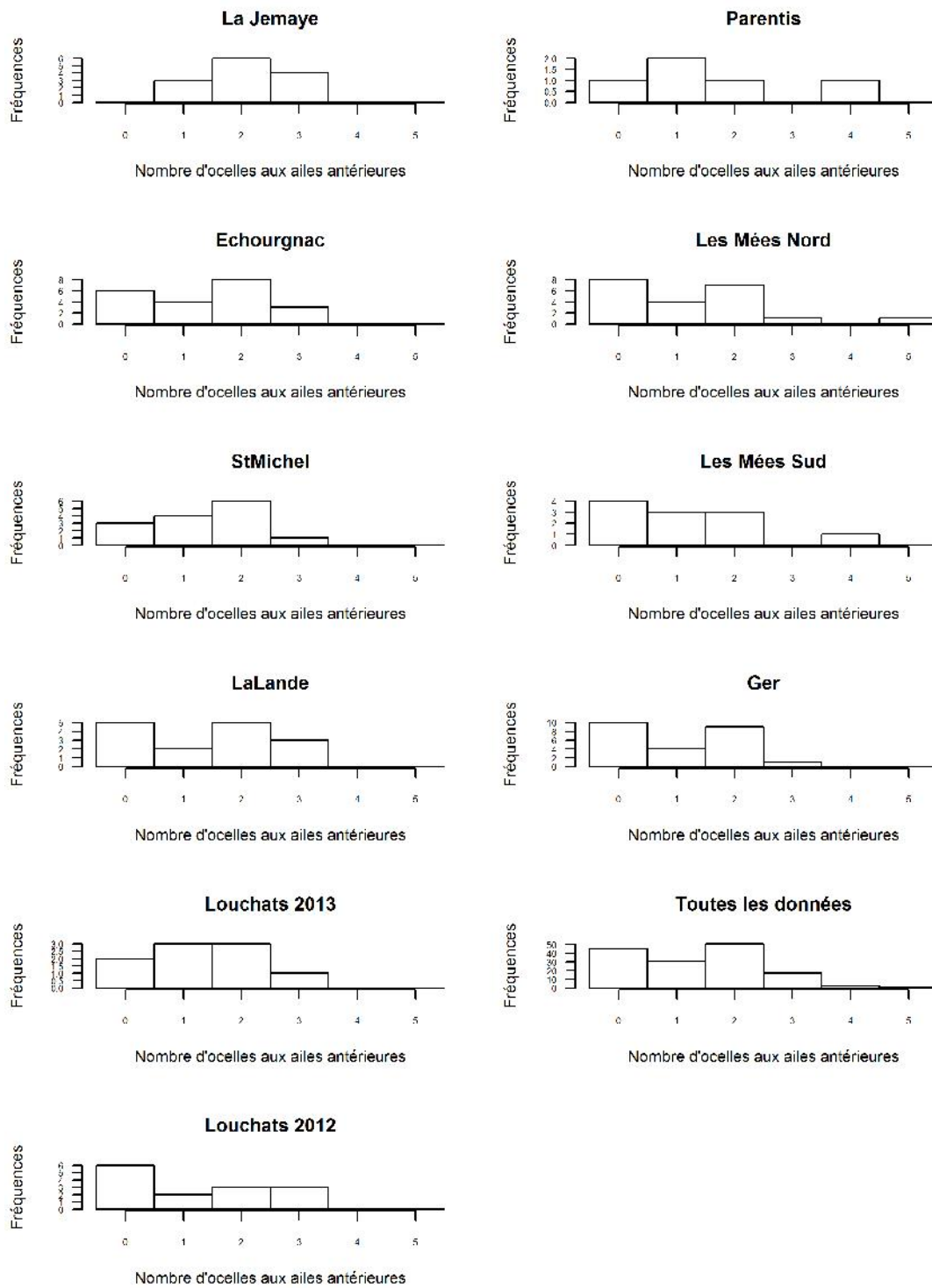


Figure 14. Variation du nombre d'ocelles aux ailes antérieures, chez les mâles, entre les 10 populations étudiées. La variation n'est pas significative ($F_{9,137}=0,923$, $P=0,503$).

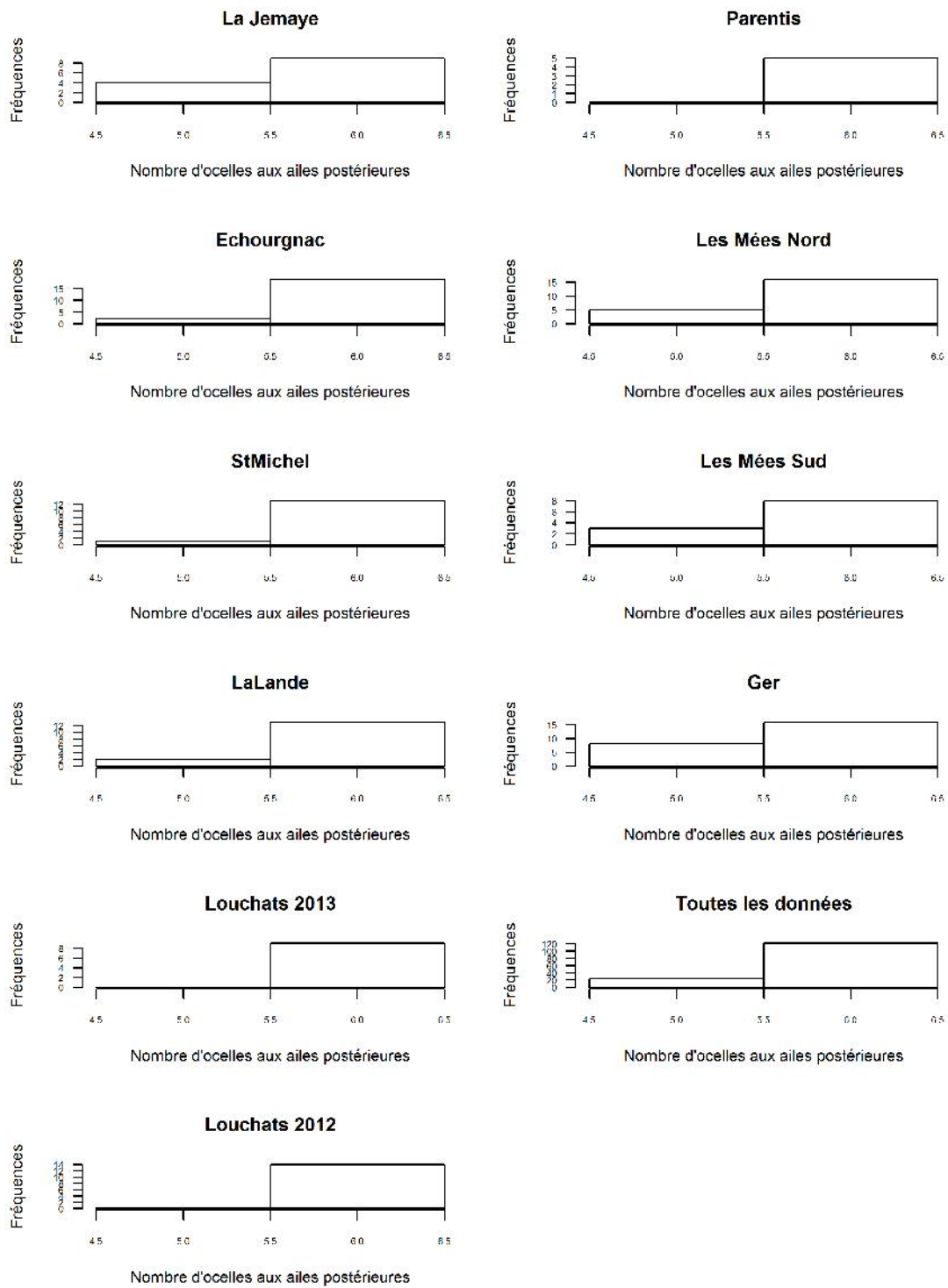


Figure 15. Variation du nombre d'ocelles aux ailes postérieures, chez les mâles, entre les 10 populations étudiées. La variation n'est pas significative ($F_{9,137}=1,790$, $P=0,075$).

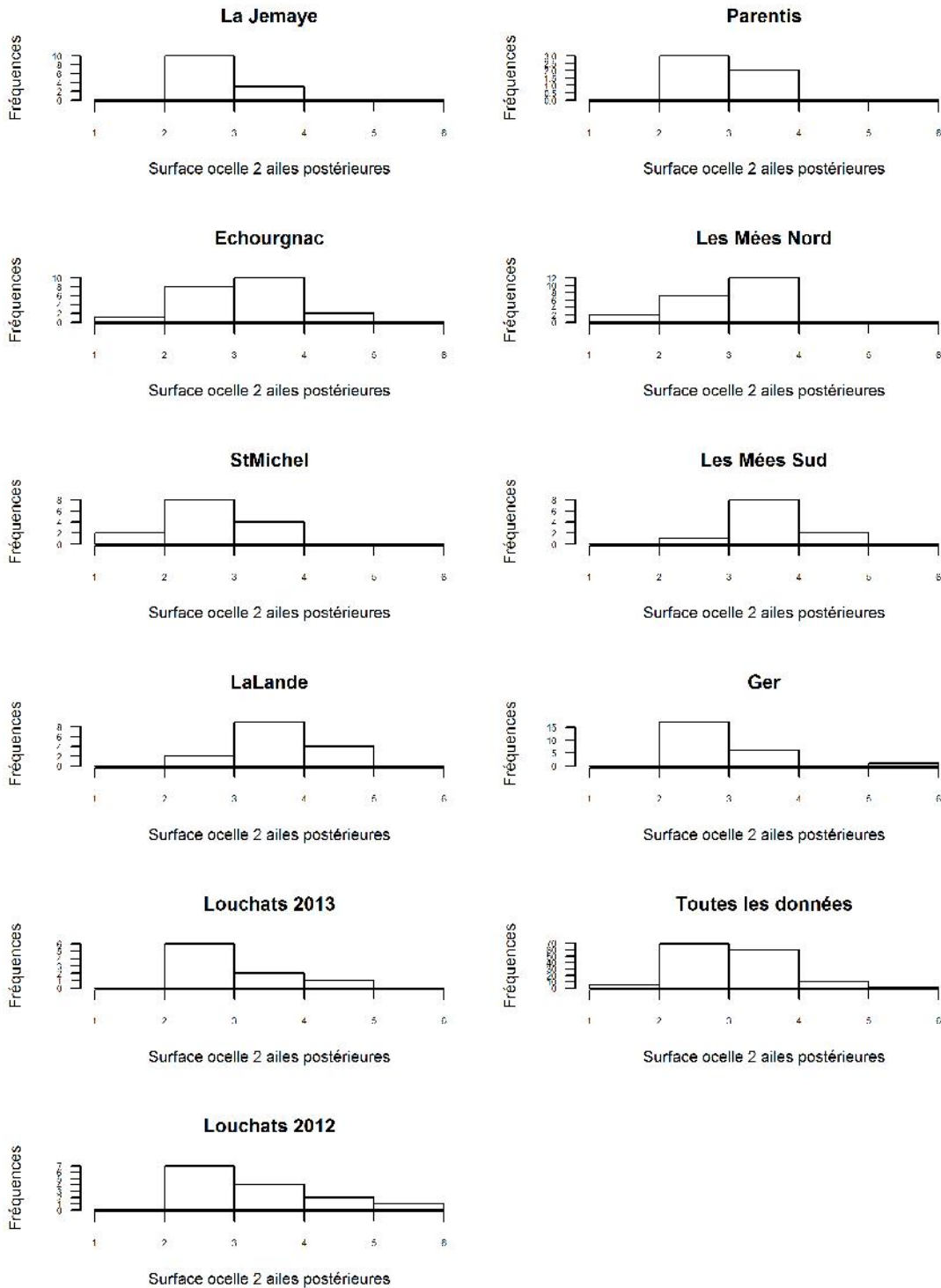


Figure 16. Variation de la surface de l'ocelle 2 de l'aile postérieure, en mm², chez les mâles, entre les 10 populations étudiées. La variation est hautement significative ($F_{9,137}=4,368$, $P<0,001$).

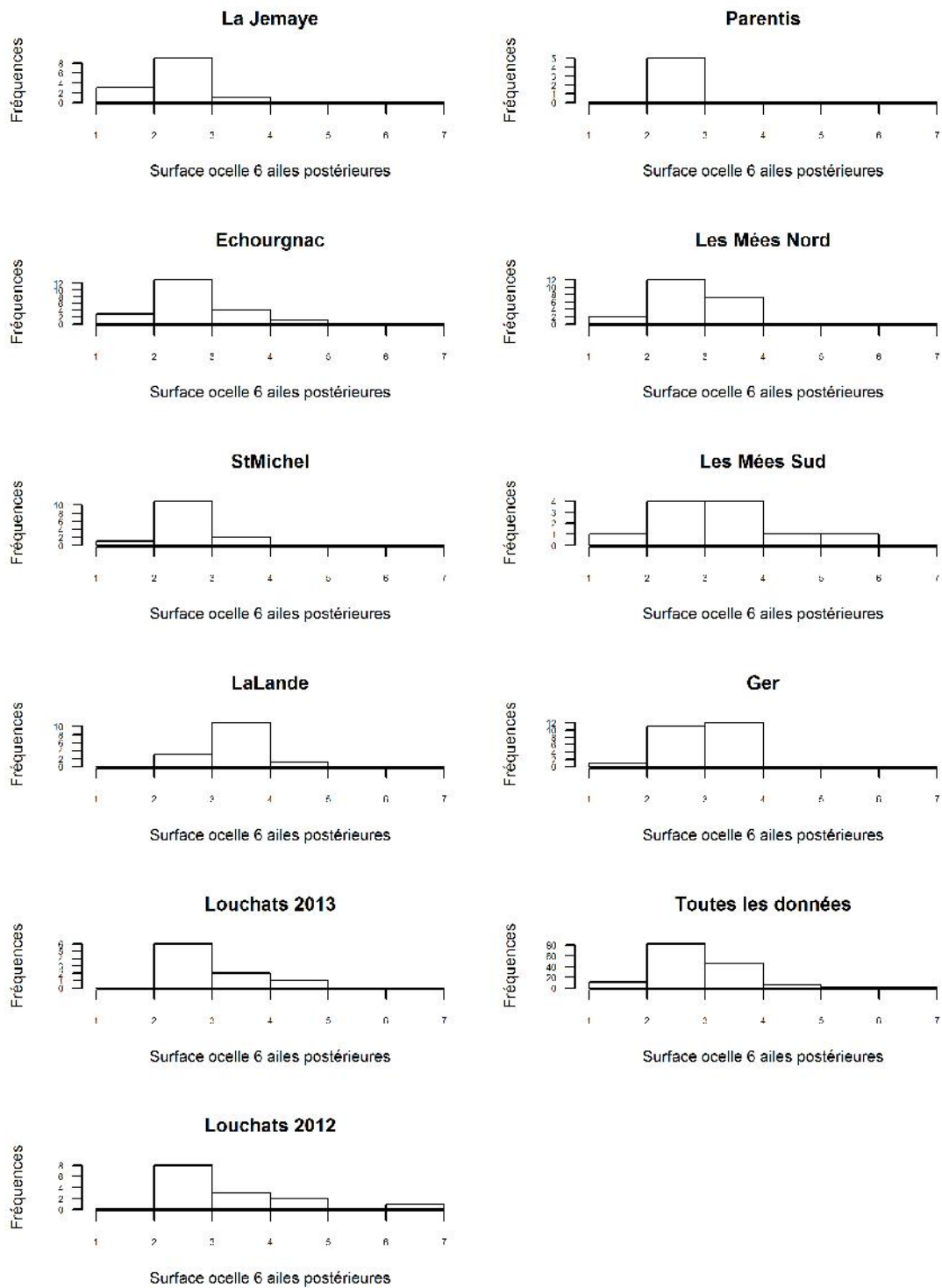


Figure 17. Variation de la surface de l'ocelle 6de l'aile postérieure, en mm², chez les mâles, entre les 10 populations étudiées. La variation est hautement significative ($F_{9,137}=3,306$, $P=0,001$).

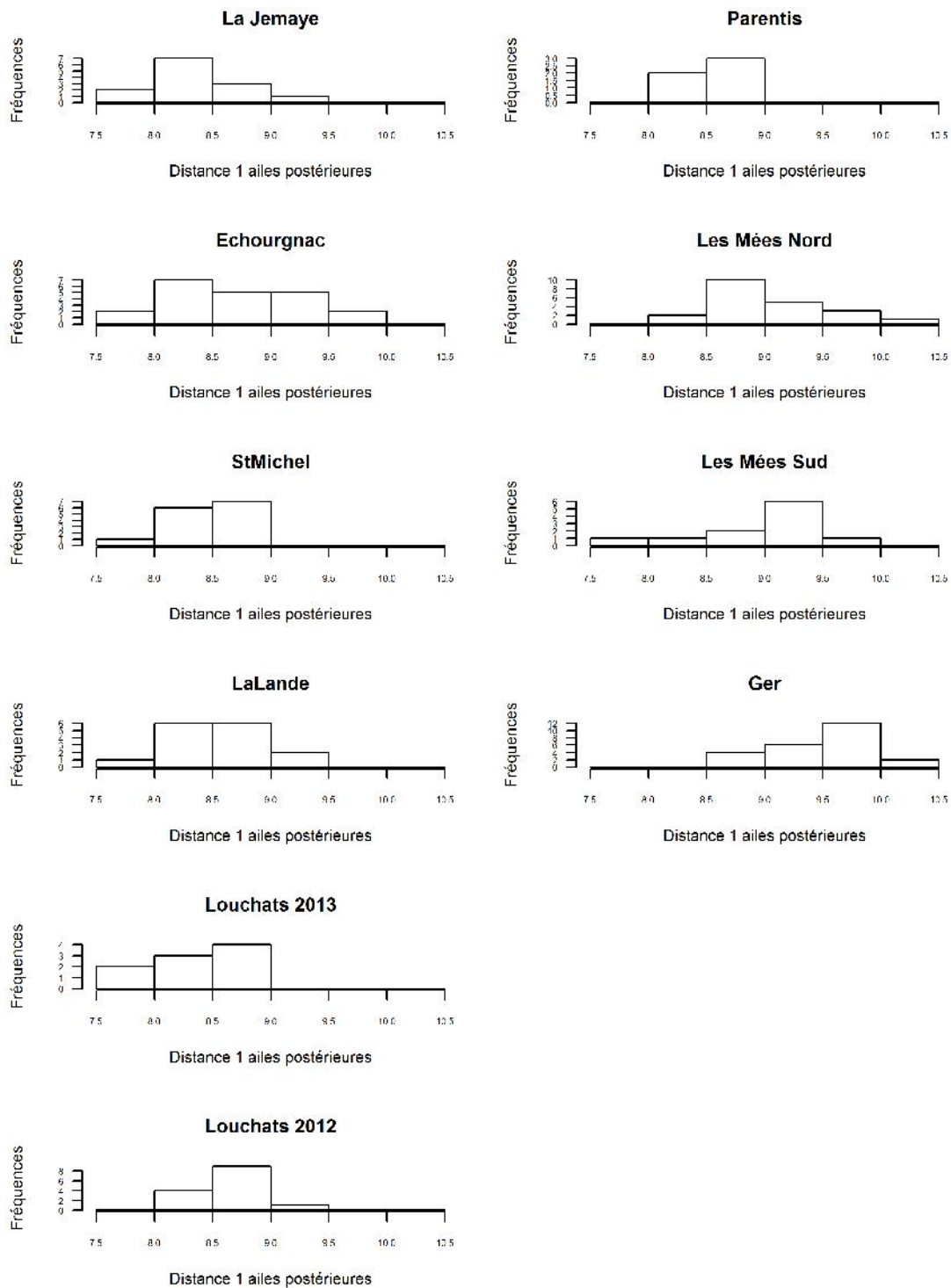


Figure 18. Variation de la distance entre l'ocelle 1 et l'ocelle 6 de l'aile postérieure, en mm, chez les mâles, entre les 10 populations étudiées. La variation est hautement significative ($F_{9,137}=11,040$, $P<0,001$).

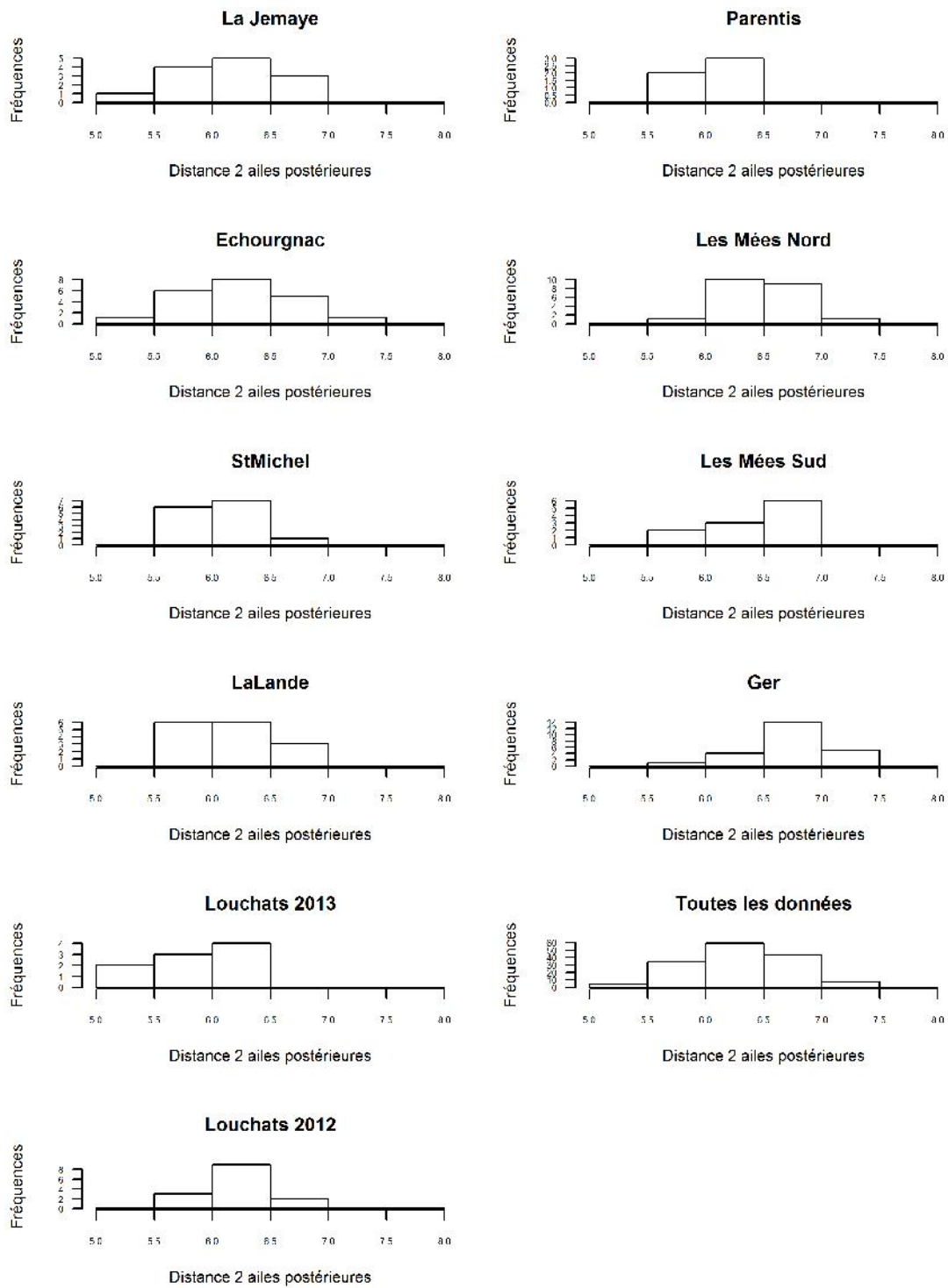


Figure 19. Variation de la distance entre l'ocelle 1 et l'ocelle 4 de l'aile postérieure, en mm, chez les mâles, entre les 10 populations étudiées. La variation est hautement significative ($F_{9,137}=6,609$, $P<0,001$).

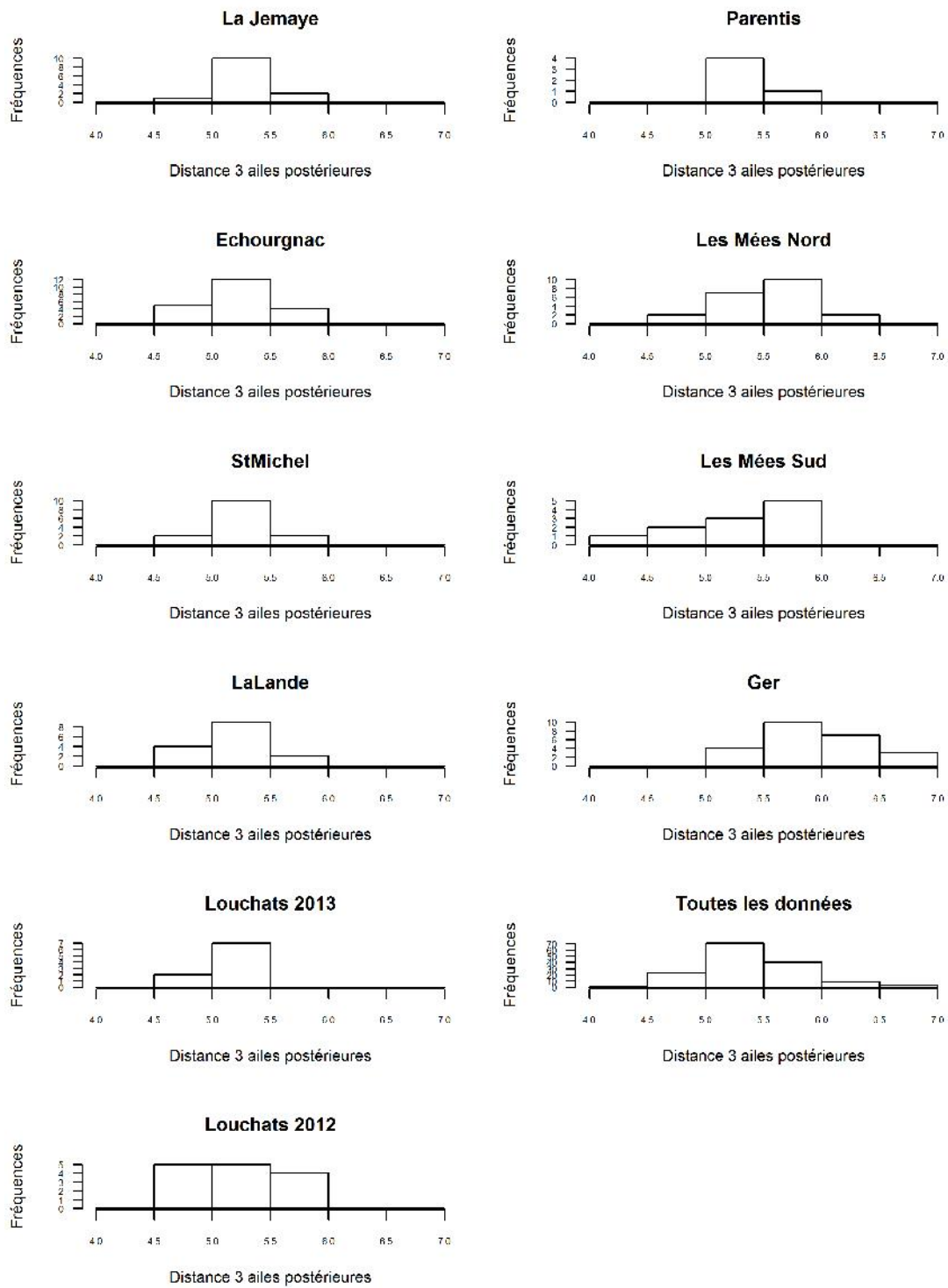


Figure 20. Variation de la distance entre l'ocelle 4 et l'ocelle 6 de l'aile postérieure, en mm, chez les mâles, entre les 10 populations étudiées. La variation est hautement significative ($F_{9,137}=8,858$, $P<0,001$).

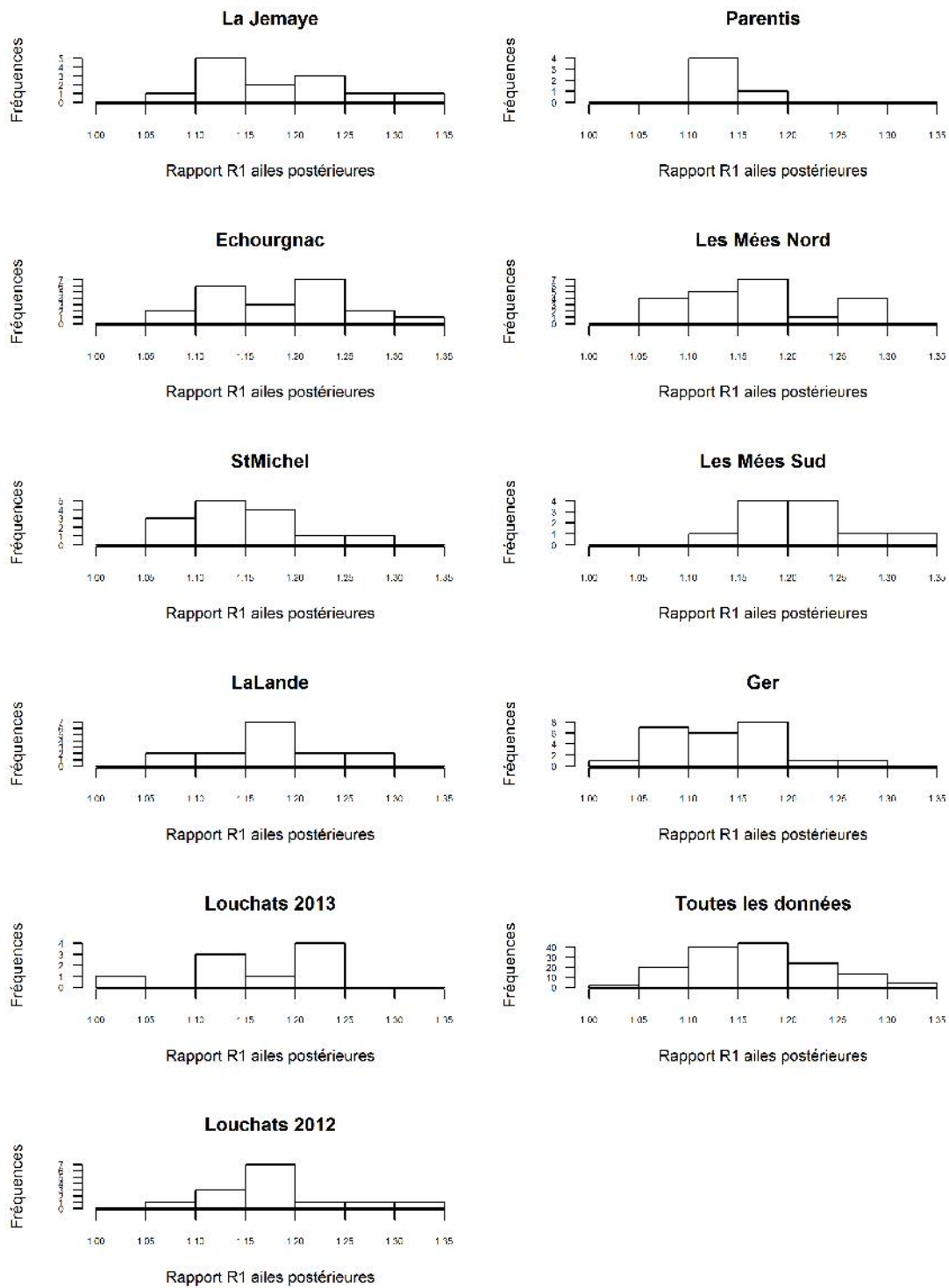


Figure 21. Variation du rapport $R1=d2/d3$ (distance ocelle 1 ocelle 4/distance ocelle 4 ocelle 6 de l'aile postérieure), chez les mâles, entre les 10 populations étudiées. La variation est significative ($F_{9,137}=2,226$, $P=0,024$).