Les loups à la croisée des chemins : Biogéographie des aires de fission-fusion dans les Carpates occidentales et en Europe centrale

DOI: 10.1111/ddi.12676

BIODIVERSITY RESEARCH

WILEY Diversity and Distributions

Wolves at the crossroad: Fission–fusion range biogeography in the Western Carpathians and Central Europe

Pavel Hulva[1,2†] | Barbora Černá Bolfíková[3†] | Vendula Woznicová[2] | Milena Jindřichová[3] | Markéta Benešová[1] | Robert W. Mysłajek[4] | Sabina Nowak[5] | Maciej Szewczyk[4] | Natalia Niedźwiecka[4,5] | Michał Figura[5] | Andrea Hájková[6] | Atilla D. Sándor[7] | Vladimír Zyka[1] | Dušan Romportl[1] | Miroslav Kutal[8,9] | Slavomír Finďo[10] | Vladimír Antal[6]

Résumé

Objectif : La fragmentation des populations représente un leitmotiv de la biologie de la conservation, mais l'impact de la reconnexion des populations est moins bien étudié. La récente recolonisation des grands carnivores en Europe est un bon modèle pour étudier ce phénomène. Notre objectif est de présenter de nouvelles données concernant la distribution et la structure génétique de la population du loup gris en Europe centrale, une région considérée comme un carrefour fréquent et une zone de contact de différentes lignées phylogéographiques, dans un contexte biogéographique.

Localisation : Carpates occidentales, Europe centrale.

Méthodes : Conformément à la présomption d'un mammifère très mobile, nous avons utilisé un regroupement bayésien basé sur l'individu et une définition a posteriori des populations. L'intégration des cadres de la génétique du paysage et de la biogéographie a permis d'identifier les transitions dans l'architecture des populations. Ces modèles ont pu être attribués à des facteurs isolants basés sur des connaissances historiques sur la démographie des espèces.

Résultats : La différenciation génétique reflète l'isolement des populations et les groupes environnementaux reconnus, suggérant une variation **écotypique**. La division est-ouest dans les Carpates occidentales représente probablement la signature de la fragmentation de l'aire de répartition pendant les goulots d'étranglement du 20ème siècle. La variabilité mitochondriale est plus appauvrie que la variabilité nucléaire, indiquant une démographie de type « **effet fondateur** » (*Founder-Flush*). Les microsatellites montrent une différenciation à plus petite échelle dans les Carpates par rapport à la plaine Européenne, ce qui correspond à une hétérogénéité topographique. La dispersion à longue distance d'un loup des Carpates (environ 300 km), l'établissement d'enclaves issues de la population des plaines et le mélange avec des loups de montagne ont été confirmés, indiquant une fraction de population produisant un flux génétique à grande échelle.

Conclusion principale : Les loups des Carpates sont caractérisés par des périodes de déclin de la population et de l'aire de répartition dues à l'éradication, au rôle de refuge des habitats alpins et aux effets péripatriques, suivies d'expansions et de fusions probablement causées par la transition forestière, l'adaptation de la population et les efforts de gestion de la conservation. Les nouvelles occurrences et les événements d'hybridation prédisent de nouveaux contacts entre des populations autrefois isolées, avec des effets opposés potentiels d'hétérosis et de dépression de reproduction. Le rétablissement des populations pourrait être entravé par l'isolement dû à l'environnement et aux impacts anthropiques.

1 INTRODUCTION

Le loup gris (*Canis lupus*) est une espèce très adaptable, et en conséquence, il présente une histoire de large distribution et de différentiation phylogéographique à travers les domaines biogéographiques paléarctique et néarctique, à la fois dans les périodes glaciaires et interglaciaires (Freedman et al., 2014 ; Pilot et al., 2010). En raison des similitudes de niche écologique avec l'Homo sapiens (un prédateur social cursoriel de grands mammifères), les interactions avec l'homme ont modifié les schémas de distribution et la structure des populations de loups depuis la fin du Pléistocène (Wayne, Lehman, Allard, & Honeycutt, 1992). L'effondrement de l'aire de répartition a culminé au cours des derniers siècles, entraînant une réduction globale à 68 % de l'étendue historique (Ripple et al., 2014), l'éradication dans les zones affectées par l'homme et l'isolement des populations restantes dans la majeure partie de l'Europe (Pilot et al., 2014). L'un des plus grands fragments de population de ce type est situé dans les Carpates, considérées comme un bastion des grands carnivores européens. L'arc des Carpates représente le plus grand système de haute montagne d'Europe de l'Est et joue un rôle clé dans la phylogéographie de nombreuses espèces (Schmitt, 2009). Il occupe également une position relativement centrale dans la phylogéographie du loup gris, car il relie les grandes populations de l'est aux petites populations de l'ouest et forme un **pont** entre les populations du sud et du nord (Pilot et al., 2014 ; Stronen et al., 2013). Les Carpates se caractérisent par des conditions environnementales contrastées par rapport aux plaines environnantes, évoquant l'idée de variation **écotypique** (Czarnomska et al., 2013 ; Pilot et al., 2006).

Un **goulot d'étranglement** et une éradication presque complète des loups dans les Carpates occidentales ont été signalés à partir de la fin du XIXème siècle et au début du XXème siècle (Hell, Slamečka, & Gašparik, 2001). La population a augmenté pendant les deux guerres mondiales, mais a diminué au cours de la période de transition pendant l'entre-deux-guerres et dans la seconde moitié du XXème siècle. Cela correspond aux tendances générales d'augmentation des populations de grands prédateurs pendant les crises socio-économiques, principalement en raison de la perturbation des programmes d'éradication gouvernementaux, tandis que les tailles de population des espèces de gibier diminuent souvent en raison de la surexploitation. Par exemple, la population de loups a augmenté de plus de 150 % après l'effondrement de l'Union soviétique (Bragina et al., 2015). En tant que prédateurs supérieurs ayant un rôle clé dans de nombreux écosystèmes, les loups sont devenus une espèce phare dans la conservation de la faune et des modèles d'interactions humaines avec les communautés de mégafaune.

Récemment, l'espèce a commencé à recoloniser de nombreuses régions d'Europe (Chapron et al., 2014). Dans les Carpates occidentales, les loups se sont à nouveau répandus dans la plupart des régions montagneuses, probablement à la suite de nombreux facteurs, dont les changements dans

la biologie des populations, l'environnement et la législation. Par exemple, les changements de la couverture terrestre ont été particulièrement spectaculaires dans les Carpates au cours du siècle dernier (Butsic et al., 2017 ; Munteanu et al., 2014). La déforestation liée à l'utilisation agricole du paysage, par exemple la gestion traditionnelle des pâturages dans les régions alpines (Babai & Molnár, 2014), a culminé sous l'empire Hustro-Hongrois. L'intensité de l'agriculture a diminué pendant le socialisme et après son effondrement, le taux d'abandon le plus élevé ayant été enregistré pendant l'entre-deux-guerres et surtout entre 1990 et 2000 (Munteanu et al., 2014). En conséquence, une proportion croissante de la couverture forestière s'est développée, comme formalisé dans la théorie de la transition forestière, fournissant des environnements pour les ongulés et leurs prédateurs.

Une condition préalable au processus de recolonisation, en particulier dans les régions reculées, est une grande capacité de dispersion. Contrairement aux canidés présentant des conditions plésiomorphes en matière d'écologie des déplacements, comme le chacal doré (*Canis aureus*), qui se caractérise par une dispersion sur de courtes distances (Fabbri et al., 2014), les loups possèdent un potentiel plus élevé de dispersion sur de longues distances et **de formation de têtes de pont** (Jimenez et al., 2017 ; Kojola, Kaartinen, Hakala, Heikkinen, & Voipio, 2009 ; Valière et al., 2003). En raison de la grande attention accordée à l'espèce et du développement de technologies telles que la télémétrie par satellite et les tests génétiques, plusieurs exemples de dispersion de loups sur de longues distances ont été rapportés (par exemple, Andersen et al., 2015 ; Boyd & Pletscher, 1999 ; Ražen et al., 2015 ; Wabakken, Sand, Liberg, & Bjarvall, 2001). Une conséquence de la recolonisation est l'augmentation du potentiel de mélange entre des populations particulières. Comme la reproduction entre des populations différenciées est un processus qui a un impact important sur l'architecture génétique et phénotypique (Rieseberg, Archer, & Wayne, 1999 ; Whitlock et al., 2013), la reconnexion des aires de répartition peut représenter un nouveau défi pour la conservation biologique.

Bien que les données génétiques de la population des Carpates occidentales soient incluses dans plusieurs articles (Bakan, Lavadinović, Popović, & Paule, 2014 ; Czarnomska et al., 2013 ; Gula, Hausknecht, & Kuehn, 2009 ; Montana et al., 2017 ; Pilot et al., 2006, 2010), des études plus détaillées utilisant un échantillonnage représentatif font défaut (Hindrikson et al., 2017). Les objectifs de cette étude étaient les suivants :

1. Compléter les connaissances sur cette région, qui est clé pour la conservation du loup Européen, en fournissant des données inédites sur la structure et la variation de la population au cours de la dernière décennie.
2. Comparer ces résultats avec les populations voisines, à savoir la population de la plaine Européenne, une région ayant une relation spatiale étroite avec les Carpates occidentales, afin de décrire les différences et interactions potentielles.
3. Décrire la distribution spatiale de la variabilité génétique et décrire les associations potentielles des groupes génétiques avec les attributs topographiques, environnementaux et anthropogéniques en utilisant une approche de génétique du paysage.
4. Interpréter ces données à la lumière de la démographie, de la fragmentation et de la reconnexion des populations.
5. Interpréter les enregistrements de distribution en Europe centrale (République Tchèque) en dehors des populations voisines bien établies (Carpates, Europe centrale, Baltique, Alpes Italiennes

et Dinariques-Balkans) en tenant compte de ces connaissances, afin d'évaluer le potentiel de dispersion et de mélange des populations d'Europe centrale.

2 | METHODES

2.1 | Stratégie d'échantillonnage

Les échantillons non invasifs (excréments ; N = 84) ont été collectés principalement lors des transects de chasse. Les échantillons invasifs (tissu musculaire ; N = 166) ont été collectés sur des victimes de la route et sur des animaux chassés légalement. Des échantillons comparatifs de chiens sauvages, de races de chiens et de canidés d'origine hybride entre loups des Carpates et bergers allemands (loup-chien tchécoslovaque-Smetanová et al., 2015) ont été ajoutés pour vérifier la discrimination sur le terrain entre les échantillons de loups et de chiens et pour étudier **l'introgression** potentielle d'allèles de chiens dans le génome du loup. Tous les échantillons (tableau S1) ont été fixés avec de l'éthanol à 96% et stockés à -20°C.

2.2 | Amplification des marqueurs génétiques

2.3 | Structure et variation de la population

2.4 | Analyses génétiques du paysage et IBD

2.5 | Biogéographie de l'aire de répartition

La distribution actuelle de l'espèce dans la zone étudiée a été exprimé à l'aide de données provenant d'articles précédents et de la présente étude (détails dans les informations complémentaires), classée en occurrences permanentes et sporadiques dans la grille carrée régulière de l'AEE (Agence Européenne pour l'environnement) (10 × 10 km) selon les critères décrits dans Chapron et al. (2014).

Pour clarifier les effets des conditions environnementales sur le schéma spatial de la distribution des loups et la génétique des populations, une stratification environnementale a été réalisée. Cette approche est largement utilisée lorsque la réduction, la décorrélation et la synthèse d'un certain nombre de variables d'entrée sont nécessaires (par exemple, Hazeu et al., 2011 ; Metzger, Bunce, Jongman, Mücher, & Watkins, 2005 ; Omernik, 1987). Le choix des variables a donné la priorité à celles qui sont susceptibles d'influencer la différenciation des populations et l'évolution adaptative du loup gris, par exemple les paramètres décrivant les profils de température et de précipitations (Geffen, Anderson, & Wayne, 2004 ; O'Keefe, Meachen, Fet, & Brannick, 2013 ; Schweizer, Von Holdt, et al., 2016). Les ensembles de données d'entrée couvraient les éléments suivants : (**1**) facteurs climatiques (température moyenne annuelle, précipitations annuelles et amplitude diurne moyenne ; WorldClim 2.0 ; Fick & Hijmans, 2017) ; (**2**) variables topographiques (altitude, hétérogénéité verticale ; GTOPO30, USGS) ; (**3**) structure de la couverture terrestre (dérivée de Global Land Cover 2015 ; ESA) ; et (**4**) facteurs d'interférence humaine (distance aux routes, distance aux établissements, fragmentation du paysage ; Global Land Cover 2015 ; ESA ; Open Street Maps). La classification des facteurs abiotiques n'a utilisé que des variables climatiques et topographiques. Une analyse en composantes principales a été réalisée, et le raster multibande des trois premières composantes a ensuite été transformé en clusters à l'aide d'une classification non supervisée. Une stratification basée sur la proportion de la couverture terrestre dans la grille de l'AEE a été utilisée pour distinguer les différences naturelles/anthropiques dans les Carpates occidentales.

L'impact des barrières anthropiques a été analysé à l'aide du maillage effectif (meff), une métrique écologiquement pertinente pour quantifier les niveaux de fragmentation du paysage (Girvetz, Thorne, Berry et Jaeger, 2008 ; Jaeger, 2000 ; Moser et al., 2007). La géométrie de la fragmentation a été préparée à l'aide de données sur les zones urbaines (dérivées de Global Land Cover 2015), les autoroutes et les routes importantes (dérivées de Open Street Maps ; Geofabrik GmbH et OpenStreetMap Contributors, 2016). Le niveau de fragmentation a été calculé à l'aide de la mesure du maillage effectif du CBC avec la formule de Girvetz et al. (2008).

Les couches décrivant les résultats des analyses génétiques et géographiques obtenues par différentes approches ont été combinées dans arcgis 10.5.

3 | RÉSULTATS

3.1 | Regroupement génétique et variation de la population

Parmi les 365 échantillons de canidés, 250 loups ont été confirmés par clustering bayésien (Fig. S1). Aucun premier stade d'hybridation loup-chien (Randi et al., 2014) n'a été identifié dans la zone d'étude. L'ensemble de données mitochondriales comprenant 257 séquences de loups, des populations particulières ont montré des fréquences distinctes d'haplotypes (figure 1, figure S2). Au sein de la plaine Européenne, une proportion dominante d'haplogroupe 1 a été observée. Deux haplotypes, w1 et w2, étaient dominants dans la majeure partie du territoire. Dans les Carpates, c'est l'haplogroupe 2 qui prédomine. Deux variantes étroitement liées, w6 et w14, ont été détectées. Les aires de répartition des deux haplotypes se **chevauchent**, mais la distribution de l'haplotype w6 a été déplacée davantage vers le nord-est. Des individus porteurs de l'haplogroupe 1 ont été détectés dans deux enclaves relativement petites et isolées dans les Carpates occidentales. L'haplotype w1 a été déterminé près du Paradis Slovaque chez trois individus chassés au cours des années 2014-2015 (symboles rouges dans la figure 1 au sein de la Slovaquie). L'haplotype w2 a été identifié dans 15 cas dans l'Orava en 2011-2014 et un cas dans les montagnes Beskydy (orange dans la Figure 1 au sein des Carpates). En République Tchèque, avec une position centrale dans la région étudiée et l'absence de population de loups au cours des derniers siècles, de nouveaux enregistrements distributifs d'appartenance aux deux haplogroupes sont présentés. Dans la partie alpine de l'aire de répartition (Autriche), une composition différente avec des proportions dominantes d'haplotypes w6, w22 et w23 a été détectée.

L'ensemble de données nucléaires des animaux originaires des populations des Carpates, de la Baltique et de l'Europe centrale (sensu Chapron et al., 2014), le regroupement bayésien individuel à $K = 2$, qui a obtenu le soutien le plus élevé de la méthode Evanno (Fig. S3a), a confirmé le statut distinct de la population au sein de la plaine Européenne par rapport aux Carpates (Figure 2). Une structure hiérarchique de la population a été révélée dans la population des Carpates, tandis que les populations de la Baltique et de l'Europe centrale ont continué à former une unité pour des valeurs plus élevées de K (Fig. S4) et sont donc appelées « **population de la plaine** » dans toute la discussion. Dans la région des Carpates, trois individus ayant une affinité avec la population des plaines ont été détectés (parents de premier ordre, non-concordance des loci de paires), portant l'haplotype w1 (rouge dans la figure 3). Les analyses de structure (**1**) de l'ensemble des données sur le loup et (**2**) de la population des Carpates ont donné des résultats cohérents, avec un soutien maximal pour quatre groupes supplémentaires dans les Carpates (Figure 3, Figs S3b et S4), comprenant : (**1**) la sous-population d'Orava avec une forte proportion d'haplotype w2 (orange) ; (**2**) la Slovaquie centrale (vert) ; (**3**) les monts Levočské et le massif de Čergov (bleu) ; et (**4**) la Slovaquie orientale (violet). Les génotypes du sud des Carpates (Roumanie) se regroupent avec les

variants de la partie orientale de la Slovaquie à des *K* plus élevés, formant un cluster privé de *K* = 9 (Figure S4).

Aucun des tests de neutralité n'était significatif. Les tests de différenciation génétique entre les populations des Carpates et des plaines montrent des valeurs modérées (F_{ST} = 0,0915 ; F_{ST}corr = 0,0887). Les paramètres décrivant la variation des populations pour les données mitochondriales et microsatellites sont résumés dans le tableau 1. Les populations des Carpates occidentales présentent une variation mitochondriale plus faible (Hd = 0,218) par rapport aux populations de la plaine européenne (0,511) et des Alpes (0,663), tandis que la variation des loci autosomiques était comparable (Ar = 7,38 contre 7,52), de même que le sex-ratio (1,22 contre 1,32).

L'analyse génétique du paysage dans Geneland (Fig. S5) a révélé cinq domaines spatiaux dans les données mitochondriales. Ces unités se chevauchaient avec les populations Européennes précédemment définies. Les populations de la Baltique et de l'Europe centrale formaient une seule unité, tandis que la population des Carpates était subdivisée en parties occidentale et orientale. Les données nucléaires ont révélé un schéma plus complexe avec un groupe dans la plaine Européenne contre 10 groupes dans les Carpates, ce qui correspond aux résultats de la structure. Des corrélations positives entre les distances génétiques et géographiques ont été établies à l'aide de tests de Mantel dans les populations des Carpates (r^2 = 0,0385, p < 0,01 pour les séquences mitochondriales ; r^2 = 0,0278, p < 0,01 pour les microsatellites nucléaires) et des plaines (r^2 = 0,023, p < 0,05 pour les séquences mitochondriales ; r^2 = 0,0342, p < 0,01 pour les microsatellites nucléaires).

3.2 Stratification environnementale

La classification environnementale a révélé cinq groupes pour l'ensemble de la zone d'étude, correspondant aux gradients de latitude, d'altitude et de continentalité (basses terres continentales, basses terres océaniques, hautes terres, alpines et basses terres steppiques ; Figure 2). La stratification selon la proportion de l'occupation du sol a permis de délimiter cinq types de paysages de base dans les Carpates occidentales, dominés par les forêts de conifères, les forêts mixtes et les forêts de feuillus, une mosaïque de forêts et de pâturages, les terres arables et une mosaïque de terres urbaines et arables (Figure 3). L'analyse du niveau de fragmentation a montré un gradient est-ouest remarquable au sein de l'Europe centrale (Figure 4).

4 | DISCUSSION

Nos résultats confirment le statut discret des loups des Carpates par rapport aux populations voisines concernant l'architecture génétique et la variation des marqueurs mitochondriaux et microsatellites (Bakan et al., 2014 ; Czarnomska et al., 2013 ; Montana et al., 2017 ; Pilot et al., 2006, 2010 ; Stronen et al., 2013). La population des Carpates occidentales se caractérise par les éléments suivants : (**1**) faible variabilité de l'ADN mitochondrial avec des gammes confinées d'haplotypes particuliers et une proportion dominante de w6 et w14, variants uniquement Européens avec une distribution en Europe de l'Est et dans les Balkans ; (**2**) variabilité microsatellite modérée avec l'apparition de sous-populations géographiquement confinées ; (**3**) présence d'enclaves isolées appartenant à des groupes génétiques de plaine basés sur l'ADN mitochondrial et nucléaire ; (**4**) dispersion limitée hors des Carpates ; et (**5**) association avec des conditions environnementales spécifiques.

La fragmentation de l'aire de répartition et les processus d'évolution neutre qui en découlent sont probablement responsables d'une partie des schémas observés. En outre, la répartition de certaines populations se superpose largement aux groupes environnementaux déduits (Figure 2). Les zones respectives coïncidaient bien avec les régions biogéographiques de l'Europe. L'apparition de groupes génétiques distincts associés à des environnements particuliers en l'absence de barrières physiques au flux de gènes (isolement par l'environnement ; Wang & Bradburd, 2014) a été acceptée comme une indication de la variation écotypique chez le loup gris (Carmichael et al, 2007 ; Czarnomska et al., 2013 ; Musiani et al., 2007 ; Pilot et al., 2006) et d'autres espèces de mammifères très mobiles (Centeno-Cuadros et al., 2017 ; Dalén et al., 2004 ; Moura et al., 2014 ; Sacks, Brown, & Ernest, 2004 ; Wolf et al., 2008). Un échantillonnage supplémentaire représentant les Carpates orientales et méridionales et l'approche génomique sont nécessaires pour étudier ce phénomène en détail chez les loups. La séparation de la population des Carpates de celle des plaines est facilitée par l'occurrence de la « ceinture sans loup » en Ukraine (Gursky, 1985) et en Pologne (Czarnomska et al., 2013). Dans le sud de la Pologne, l'occurrence d'haplotypes typiques de la steppe pontique en Ukraine et dans les Balkans a été vérifiée (Figure 1), indiquant qu'il pourrait y avoir une certaine résistance environnementale de cette ceinture aux loups des populations de la Baltique et des Carpates. La population des Carpates occidentales est séparée des populations d'Europe du Sud par le bassin pannonien (figure 1), un environnement de plaine représentant un refuge steppique interglaciaire au sein de l'Europe. Cependant, l'haplotype **w6**, fréquent dans les Carpates, est présent dans la population Italo-Alpine (cf. Boggiano et al., 2013). *Nommé W16 dans l'article de Boggiano.*

4.1 Goulots d'étranglement historiques

La faible diversité haplotype constatée dans les Carpates occidentales, similaire à celle de la population Italienne (cf. Montana et al., 2017), est probablement la conséquence d'un goulot d'étranglement de la population, une situation qui a affecté les loups dans de nombreuses régions (Greenbaum, Templeton, Zarmi, & Bar-David, 2014 ; Jansson, Harmoinen, Ruokonen, & Aspi, 2014 ; Pilot et al., 2014 ; Wayne et al., 1992). Une telle observation est en accord avec la présomption d'impacts plus élevés de l'éradication et de la fragmentation anthropogéniques en Europe centrale par rapport aux populations orientales plus continues (Pilot et al., 2006 ; Randi et al., 2000). Une combinaison de variation mitochondriale réduite et de variation nucléaire soutenue, constatée dans les Carpates, a été trouvée, par exemple, chez les loups Finlandais (Jansson et al., 2014). Ce schéma pourrait refléter un impact plus important des goulots d'étranglement sur les loci mitochondriaux que sur les loci nucléaires, en raison d'une taille de population effective plus faible et donc d'une plus grande influence de l'effet fondateur et de la dérive génétique sur l'ADN mitochondrial haploïde. Si la croissance de la population suit relativement rapidement un goulot d'étranglement, l'impact de la dérive pourrait être réduit, comme le formalisent les modèles de l'effet fondateur (Carson, 1968) et de la transilience (Templeton, 1980).

Les études historiques de la Slovaquie indiquent que, pendant les goulots d'étranglement de la population au 20ème siècle, les loups ont survécu dans la partie la plus orientale du pays et dans des dèmes plutôt isolés en Slovaquie centrale (Hell et al. 2001). Les habitats ayant le plus faible impact anthropique ont été révélés dans le nord-est et le centre-nord de la Slovaquie (Figure 4). Nous supposons que la différenciation génétique est-ouest dans les marqueurs mitochondriaux et nucléaires représente la signature d'un isolement historique dans ces régions. Un schéma similaire est observé dans les populations d'ours brun (*Ursus arctos*) des Carpates occidentales. Étant donné la plus grande spécialisation de l'habitat chez cette espèce, la disjonction est-ouest de l'aire de répartition a persisté jusqu'à récemment, entraînant une différenciation génétique (Straka, Paule,

Ionescu, Štofík et Adamec, 2012). Dans l'analyse de structure, les loups de l'Est de la Slovaquie se regroupent avec ceux de la Roumanie. Les individus du plateau transylvanien portent l'haplotype w14, fréquent dans les Carpates occidentales. Cela suggère une certaine connectivité entre les sous-populations de loups dans l'ensemble de **l'arc des Carpates** et une facilitation du statut génétique distinct des Carpates occidentales par les processus démographiques associés aux limites de l'aire de répartition et à la microévolution péripatrique, tels que la restriction de l'apport mutationnel et le surf des allèles (Bridle & Vines, 2006).

4.2 | L'isolement des populations dans les Carpates et les îles du ciel

Le clivage est-ouest de la composition génétique coïncide partiellement avec une zone de transition entre les systèmes de haute montagne du centre et de l'ouest de la Slovaquie, caractérisés par une forêt de conifères (Figure 3, régions 3-6), et des chaînes de montagne de plus faible altitude, avec des différences de climat et de couverture du sol, à l'est (régions 7-10). Des modèles imbriqués de différenciation des marqueurs microsatellites à évolution rapide dans des régions particulières indiquent un degré d'isolement régional dû à la complexité topographique, facilitant le caractère insulaire de la structure de la population (Wright, 1931). Par exemple, les populations des montagnes Levočské et Čergov (région 7), caractérisées par l'occurrence d'un cluster nucléaire privé de $K = 4$, sont également caractérisées par un isolement des territoires voisins. Cependant, une certaine diffusion spatiale de clusters particuliers indique l'existence d'une fraction de population avec un potentiel de flux génétique à grande échelle (Tammeleht et al., 2010).

Les effets anthropogéniques, notamment la fragmentation, pourraient faciliter ces schémas, en particulier la plus grande résistance à la dispersion des vallées, caractérisées par une forte abondance d'établissements humains, des barrières linéaires au flux génétique et la déforestation (Huck et al., 2010, 2011). Par exemple, la distribution de plusieurs clusters génétiques est limitée par la principale autoroute traversant les Carpates occidentales (Figure 3). Bien que les loups ne soient pas nécessairement des habitants de la forêt (Mech & Boitani, 2013), la récente transition forestière en altitude peut également être considérée comme formant un néorefuge anthropocène, analogue à la fonction des refuges alpins au cours de l'histoire du Pléistocène (Schmitt, 2009 ; Starcová, Vohralík, Kryštufek, Černá Bolfíková, & Hulva, 2016).

4.3 Dispersion hors des Carpates

Plusieurs enregistrements d'Europe centrale représentent la première preuve directe de la présence du loup dans des régions particulières après sa disparition, en concordance avec l'expansion supposée de l'aire de répartition (Chapron et al., 2014). Par exemple, une jeune femelle percutée par une voiture près de Valašské Meziříčí en juillet 2012 (Figure 1, Tableau S1, ID 72) représente la première occurrence bien documentée dans les montagnes Beskydy depuis 1914 (Hošek, 1976). Le mâle tué sur la route D1 près de Jihlava en mars 2017 (ID 75) représente le premier signalement dans la partie centrale de la République Tchèque (hautes terres de Bohême-Moravie) depuis 1861 (Grim, 2010). Comme les données génétiques assignent l'individu à la population des Carpates, ce cas est le premier événement de dispersion à longue distance bien documenté en dehors de l'arc des Carpates. Sur la base d'analyses génétiques du paysage, l'extrapolation la plus parsimonieuse de l'origine des animaux se situe dans le nord-est de la région d'Orava et régions adjacentes en Pologne (région 2), ce qui indique une distance de dispersion d'au moins ca. 300 km (Figure 4, Fig. S5). Si l'on considère la relation entre la distance de dispersion et le trajet de déplacement chez les loups (voir par exemple Kojola et al., 2009), le trajet de déplacement pourrait être considérablement plus long. L'animal s'est déplacé entre des parties disjointes du groupe environnemental des montagnes

(Figure 2), ce qui indique que la dispersion liée à l'habitat natal pourrait jouer un rôle. Les dépressions des Carpates ont été traversées, bien que les basses terres séparant les provinces des Carpates et de l'Hercynie présentent potentiellement une grande résistance à la dispersion pour les loups de montagne en raison de leur dissemblance environnementale avec les Carpates.

Cependant, la population des Carpates ne présente pas de forte tendance à l'expansion, illustrée par exemple par l'absence de reproduction dans les montagnes Beskydy (Kutal, Váňa, Suchomel, Chapron, & López-Bao, 2016), contrairement à l'expansion substantielle de la population d'Europe centrale, illustrée par son établissement dans l'ouest de la Pologne (Nowak & Mysłajek, 2016 ; Nowak et al, 2017), le nord de l'Allemagne et la région nord de la République Tchèque, où une meute permanente (IDs 2-8) a été constatée pour la première fois depuis 1766 (Flousek et al., 2014).

Les zones de transition en altitude, la continentalité du climat et d'autres facteurs environnementaux peuvent faciliter l'isolement par l'environnement dans des écotypes particuliers (Geffen et al., 2004). Par exemple, une étude SNP des loups nord-américains a révélé que les loups de l'Arctique et du Haut-Arctique ont une proportion plus élevée de gènes probablement impliqués dans l'adaptation locale (Schweizer, Robinson et al., 2016). En raison des similitudes biogéographiques entre les latitudes et les altitudes plus élevées, une hypothèse concernant un degré plus élevé d'adaptation locale liée aux conditions environnementales chez les loups de montagne pourrait être proposée. Cela pourrait faciliter les effets insulaires et empêcher la dispersion vers les habitats de plaine en raison des limites de l'évolutivité à la limite de l'aire de répartition (Pierce, Gutierrez, Rice, & Pfennig, 2017).

En plus de la résistance à la dispersion environnementale, l'impact anthropique pourrait jouer un rôle dans le rétablissement des populations de loups. Outre les différences de régimes de gestion dans des régions particulières (Kutal et al., 2016 ; Nowak & Mysłajek, 2017), le rôle de la fragmentation du paysage dans la biologie et la conservation des populations est largement débattu (Mortelliti, Amori, Capizzi, Rondinini, & Boitani, 2010). Comme prévu (Munroe, Croissant, & York, 2005), notre étude décrit des gradients abrupts de fragmentation du paysage correspondant aux modèles de facteurs socio-économiques en Europe centrale, ce qui entraîne une résistance croissante à la dispersion et une désintégration de la population vers les régions très fragmentées de l'ouest (Figure 4). L'isolement de la population des Carpates occidentales est facilité par les agglomérations, les conurbations adjacentes et les infrastructures linéaires du sud de la Pologne, de l'est de la République Tchèque, du nord de l'Autriche et de la Hongrie. Il est symptomatique que l'origine de l'individu 75 ait été extrapolée à la région la moins affectée par la fragmentation, soulignant l'importance des îlots de nature sauvage pour la conservation, et qu'il ait été tué par la route dans la région désignée comme la plus affectée. Les différences d'adaptation aux paysages dominés par l'homme peuvent contribuer aux tendances dissemblables de la population des Carpates occidentales par rapport à celle des plaines. Des adaptations comportementales sous-tendues par des changements génomiques ont été constatées chez des populations urbaines de vertébrés (Mueller, Partecke, Hatchwell, Gaston et Evans, 2013).

4.4 | Établissement des loups de plaine en montagne et admixture

La distribution de l'haplogroupe 1 dans les Carpates occidentales en taches limitées dans l'espace (Figure 1, haplotypes w1 et w2), correspondant à un statut distinct dans les marqueurs microsatellites (Figure 3, régions 2 et 8), corrobore l'hypothèse d'événements fondateurs par des individus se dispersant depuis la population des plaines. L'haplotype **w1** est fréquent chez les loups

de la région Baltique et de la plaine Européenne (Pilot et al., 2010). De plus, il est présent en Scandinavie et domine la vague d'expansion de la population d'Europe centrale (Czarnomska et al., 2013), illustrant le potentiel de dispersion de son **écotype**, qui utilise théoriquement des corridors de plus faible altitude en montagne. L'haplotype **w2** est le deuxième plus fréquent dans la population de plaine, et une enclave de cet haplotype est distribuée dans les collines nord-ouest des Carpates, facilement accessible depuis la plaine Européenne. Compte tenu de la taille plus importante de l'enclave et du degré plus élevé de mélange avec l'écotype de montagne, le patch **w2** représente un événement fondateur probablement plus ancien que **w1**. L'haplotype **w4**, typique de la population pontique (Ukraine), a été détecté dans les Carpates extérieures orientales en Roumanie, indiquant des interactions entre les populations des Carpates et du Pontique. Ces résultats sont en accord avec d'autres études phylogéographiques, concluant que l'immigration est courante dans les populations de loups isolées en raison des capacités de dispersion des espèces (Seddon, Sundqvist, Bjornefeldt, & Ellegren, 2006) et que la population des Carpates a un degré de mélange plus élevé par rapport aux populations de loups plus isolées (Pilot et al., 2010 ; Stronen et al., 2013).

4.5 | Potentiel de reconnexion en Europe centrale et implications en termes de conservation

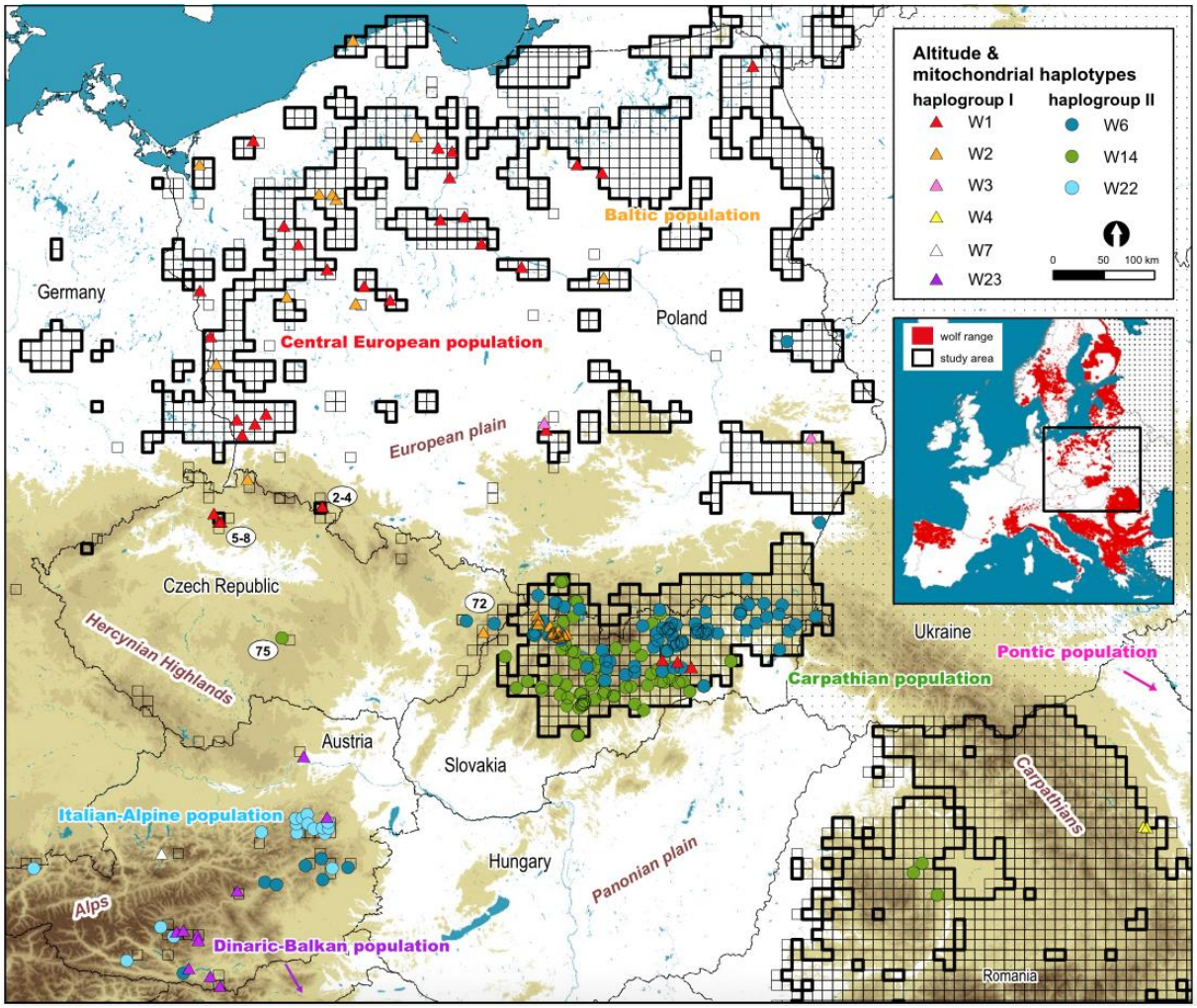
L'Europe centrale est considérée comme un « carrefour » d'un point de vue phylogéographique, car elle est caractérisée par des zones de contact secondaire et des zones hybrides de nombreuses lignées qui sont apparues par évolution allopatrique (Hewitt, 2001 ; Schmitt, 2007). L'étude actuelle illustre le potentiel de contacts secondaires entre des populations/écotypes autrefois isolés du loup gris, un grand carnivore dont l'aire de répartition est fragmentée par l'homme et dont la population se reconstitue ensuite.

La population actuelle des Carpates occidentales est probablement le produit de la fusion de fragments de population existant au 20ème siècle, suivie de fusions avec la population des plaines, générant un modèle d'hybridation en mosaïque. Les cinq groupes environnementaux sont tous présents en Europe centrale, y compris, par exemple, des parcelles d'environnement alpin dans la forêt de Bohème au sud de la République Tchèque et dans les Carpates (Figure 2). Les colonies de meutes reproductrices et les observations d'individus vagabonds en République Tchèque, qui reflètent pour la plupart les conditions environnementales des populations d'origine, prédisent la poursuite de la tendance au **mélange** entre les populations présentes en Europe centrale (Figure 1).

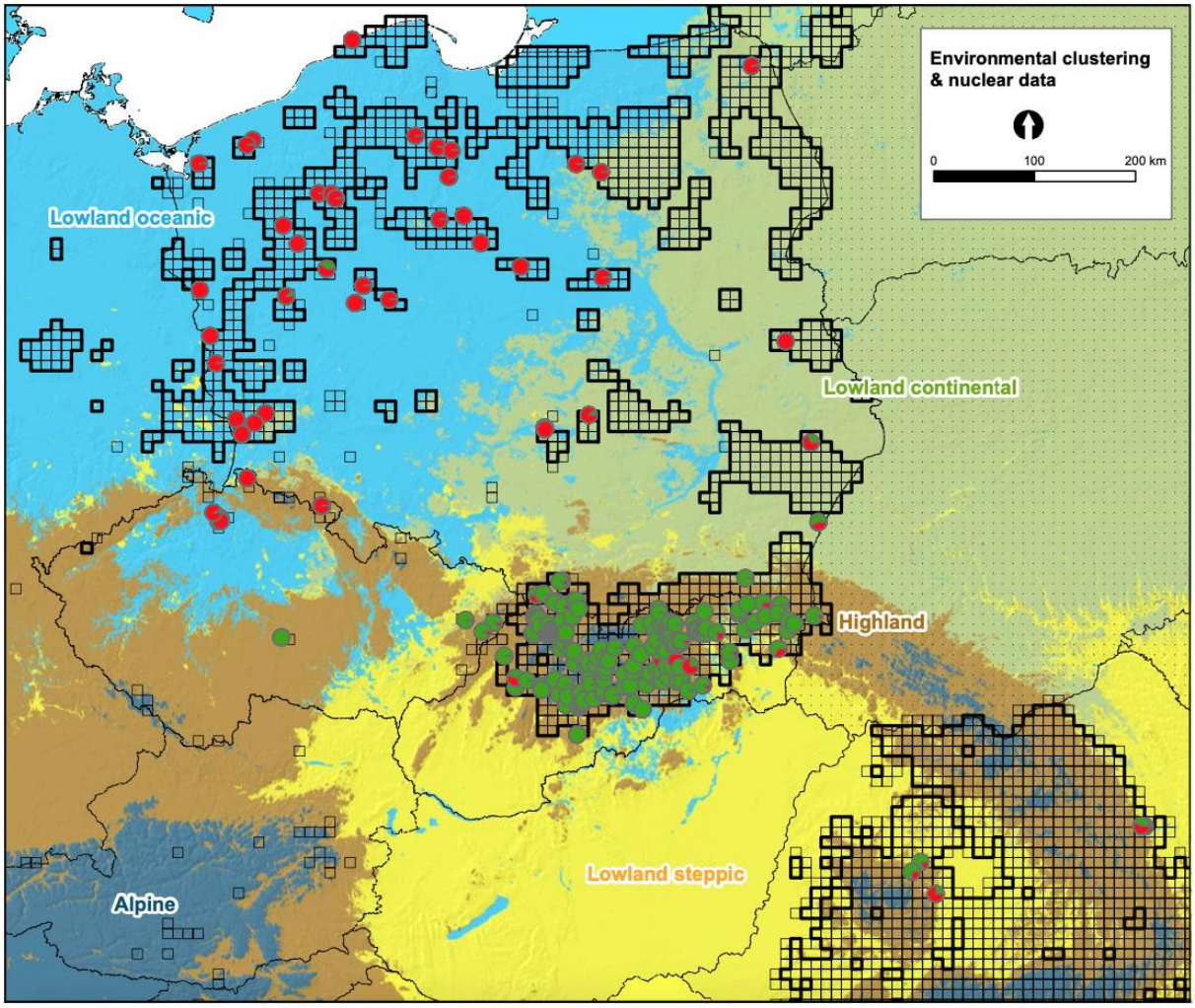
La consanguinité peut augmenter la variation de la population réduite par les goulots d'étranglement, avec des effets potentiels d'hétérosis et de facilitation de l'expansion (Pfennig, Kelly, & Pierce, 2016 ; Pierce et al., 2017). D'autre part, en particulier parmi les populations présentant des adaptations écologiques prononcées, une dépression de la surproduction peut se produire (Hunter & Gibbs, 2007). L'exemple type de croisements dysfonctionnels concerne les différences de calendrier de reproduction dans les populations adaptées à des conditions environnementales contrastées chez le bouquetin (*Capra ibex*) introduit du Moyen-Orient et de l'Autriche dans les montagnes des Hautes Tatras en Slovaquie, ce qui entraîne une production de progéniture en hiver (Greig, 1979 ; Turcek, 1951).

Outre la différenciation génétique, des traits phénotypiques typiques ont été signalés chez les loups des Carpates. Par exemple, une taille de crâne plus grande avec un dimorphisme sexuel plus

prononcé a été constatée dans les Carpates, contrairement à la plaine Européenne (Okarma & Buchalczyk, 1993). Une flexion crânienne différente est typique des loups des Carpates et des loups Dinariques (Milenković, Šipetić, Blagojević, Tatović, & Vujošević, 2010). Les différences de forme et de taille du crâne sont souvent liées à la différenciation des niches trophiques chez les mammifères (Evin, Horáček, & Hulva, 2011). En Amérique du Nord, les membres de l'haplogroupe 2 ne sont connus que dans les archives fossiles du Pléistocène, et ils représentaient un **écomorphe** distinct spécialisé dans la chasse de la mégafaune glaciaire (Leonard et al., 2007). Les loups des Carpates montrent des spécificités dans la composition de leurs proies avec une grande proportion de cerfs rouges dans leur régime alimentaire (Jędrzejewski et al., 2012). Ces caractéristiques uniques ainsi que les tendances démographiques prédestinent la population de loups gris des Carpates comme une unité de conservation pertinente. Pour révéler l'association potentielle des traits respectifs avec les conditions environnementales et son rôle dans la différenciation des populations (isolation par adaptation, Orsini, Vanoverbeke, Swillen, Mergeay, & De Meester, 2013), ainsi que les impacts du mélange et de l'outbreeding entre des écotypes de loups particuliers sur leur fitness, des études supplémentaires sont nécessaires.



F I G U R E 1 Carte de la zone d'étude illustrant la répartition actuelle du loup gris en Europe centrale, la classification en populations récemment reconnues (sensu Chapron et al., 2014), les altitudes et les haplotypes de la région de contrôle mitochondriale (catégorisés sensu Pilot et al., 2010). Dans la grille carrée de l'EEE, les lignes épaisses délimitent une présence permanente, les lignes fines une présence sporadique et les points des données manquantes. Les tons de gris sont mis à l'échelle par 250 m d'altitude. Les triangles indiquent les haplotypes de l'haplogroupe 1 ; les cercles l'haplogroupe 2. Les numéros indiquent les ID des échantillons (Tableau S1) mentionnés dans le texte.



F I G U R E 2 Carte de l'Europe centrale décrivant la distribution du loup gris (en utilisant la grille de référence de l'AEE), les résultats de l'analyse de regroupement environnemental (affichés sous forme de taches de couleur et d'étiquettes de groupes particuliers sur la carte) et les résultats du regroupement bayésien individuel des génotypes microsatellites basé sur 18 loci autosomiques pour K = 2, calculés dans le logiciel structure. Chaque génotype est représenté par un diagramme circulaire divisé en K segments de couleur. Les proportions des segments de couleur sont équivalentes aux valeurs de structure q

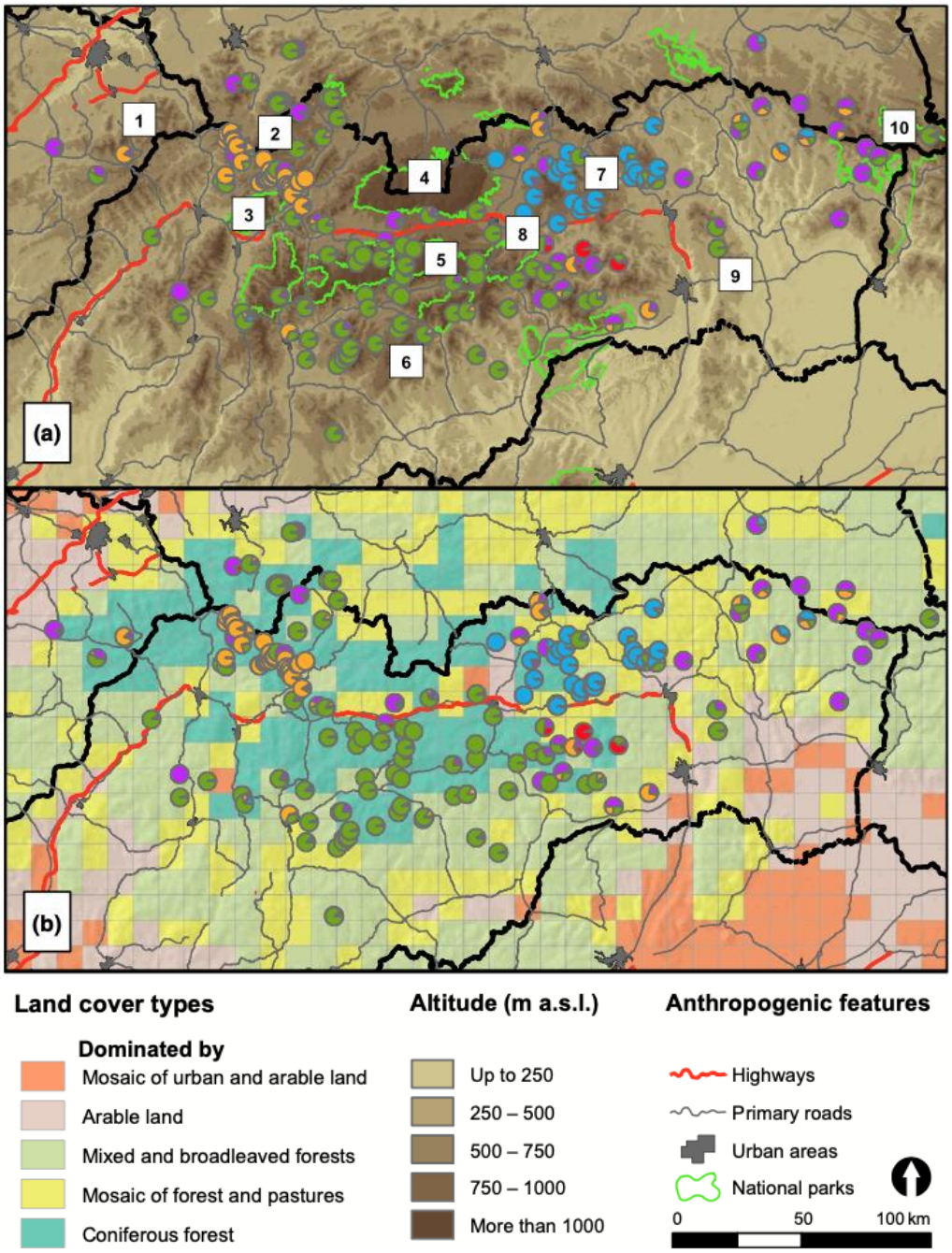
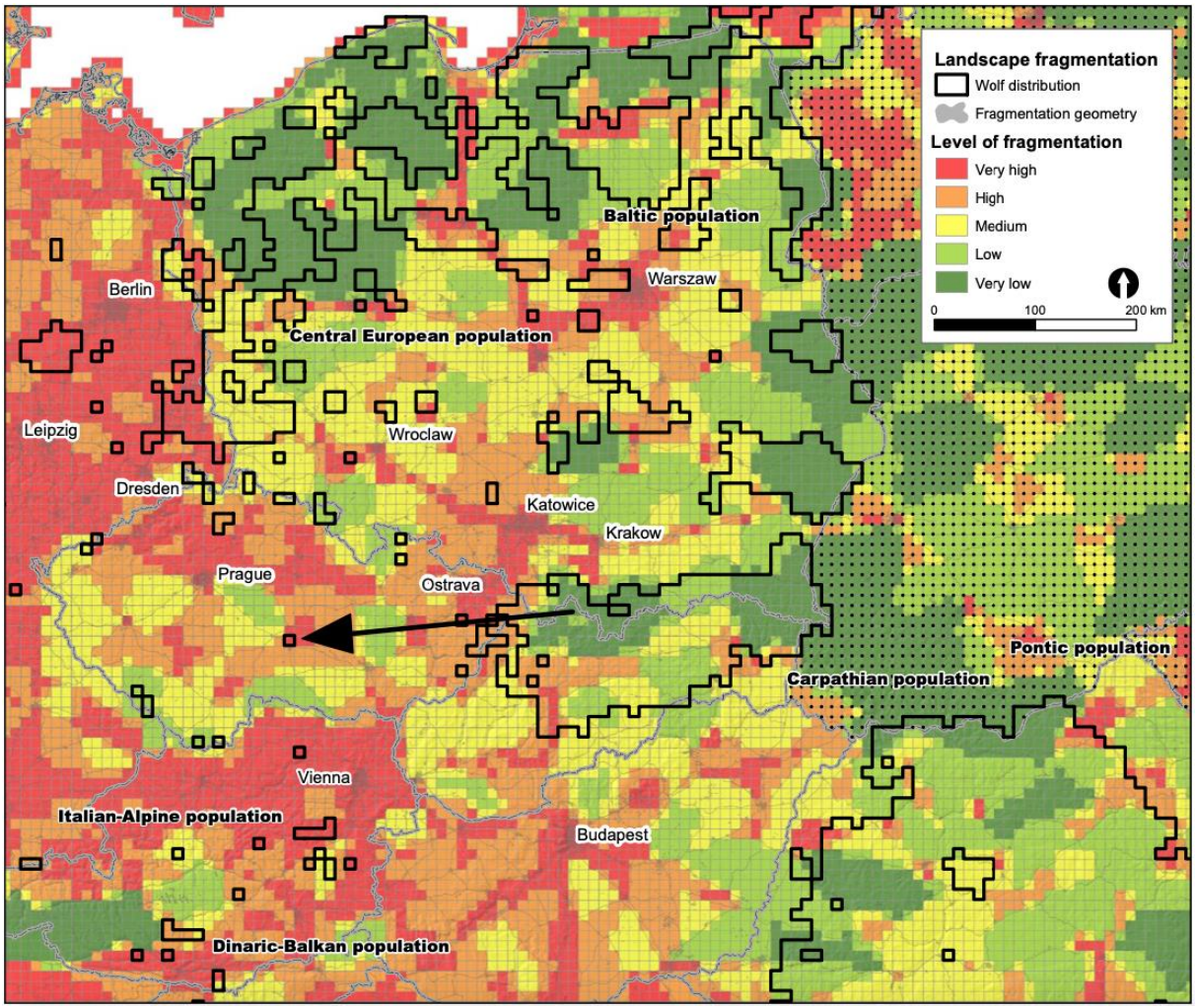


FIGURE 3 Regroupement bayésien individuel des génotypes microsatellites (18 loci ; représentés par des diagrammes circulaires) dans le contexte biogéographique des Carpates occidentales, montrant l'enclave de la population des basses terres avec l'haplotype w1 (rouge) et quatre sous-populations soutenues pour les Carpates (Fig. S3b), y compris le cluster admixé avec une proportion d'haplotype w2 (orange). Dans certaines parties du panneau, les caractéristiques environnementales suivantes sont affichées : (a) gradient altitudinal et attributs anthropogéniques ; (b) résultats de la stratification de la stratification de l'occupation du sol dans la grille de référence de l'AEE. Régions: 1-Beskydy, 2-Orava, 3-Malá Fatra, 4-High Tatra 5- Low Tatra, 6-Slovakian Central Mountains, 7-Levočské Mountains & Čergov Massif, 8-Slovak Paradise, 9-Slánské Mountains and 10-Poloniny



F I G U R E 4 Connectivité du paysage au sein de l'Europe centrale, mesurée à l'aide de la taille de maille effective (meff). La flèche représente la distance et la direction de la dispersion du loup mâle du printemps 2017 (ID 75)