

La structure génétique à petite échelle suggère de faibles niveaux de flux génétique dans une population de loups des Apennins

Eur J Wildl Res
DOI 10.1007/s10344-011-0509-y

ORIGINAL PAPER

Fine-scale genetic structure suggests low levels of short-range gene flow in a wolf population of the Italian Apennines

Massimo Scandura • Laura Iacolina •
Claudia Capitani • Andrea Gazzola • Luca Mattioli •
Marco Apollonio

INTRODUCTION

Le flux génétique est arbitré par la dispersion d'individus dont les déplacements sont affectés par la densité de population et la connectivité de l'habitat. À leur tour, les modèles de dispersion influencent l'abondance, la structure d'âge et de sexe, et les liens génétiques au sein d'une population. Les courtes distances de dispersion sont plus fréquentes, mais la dispersion natale à longue distance est très importante dans le processus de recolonisation et dans l'élaboration de la structure génétique globale d'une population (Ibrahim et al. 1996).

De nombreuses études ont montré que les meutes de loups sont généralement composées d'un couple reproducteur et de leur progéniture, mais des structures de meute plus complexes peuvent résulter d'une variété de mécanismes (Mech et Boitani 2003). Par exemple, la présence d'adultes non reproducteurs qui ne sont pas liés au couple reproducteur, ne semble pas être un événement rare dans les meutes de loups, en particulier dans les populations exploitées (Grewal et al. 2004; Jedrzejewski et coll. 2005). La mortalité est en effet l'un des déterminants les plus importants du dynamisme dans la structure d'une population, et ses effets sont plus forts si elle implique des reproducteurs (Brainerd et al. 2008).

La nature de la dispersion dans les populations de loups est plus controversée, notamment en raison de la distance parcourue par les loups et au biais possible entre les sexes.

Les loups en dispersion peuvent parcourir plus de 1000 km (Wabakken et al. 2007), mais la proportion des disperseurs devenant des reproducteurs à succès semblent varier significativement entre les zones (Kojola et al. 2006). La dispersion à longue distance chez les loups reste discutable, car des populations isolées avec de courte distance de dispersion entre les meutes sont capable de conserver des niveaux d'hétérozygotie et de consanguinité au fil du temps (Vonholdt et al. 2008).

Il n'y a pas d'accord sur le point de savoir si les modèles de dispersion des loups sont fonction du sexe. Les données de terrain sur les loups porteurs de collier radio montrent une légère ou aucune différence dans les modèles de dispersion entre sexes (Mech 1987; Gese et Mech 1991; Kojola et al. 2006), alors que la dispersion en faveur des mâles est suggérée par suivi génétique, en Amérique du Nord et en Europe (Lehman et al. 1992; Seddon et al. 2005; Fabbri et al. 2007; Vonholdt et coll. 2008).

Dans une population saturée, la formation d'une nouvelle meute devrait être assez rare, tandis que le recrutement d'individus étrangers dans les meutes existantes semble être plus fréquents (Vonholdt et al. 2008). Ce dernier est le cas, lorsqu'un membre non-reproducteur est adopté ou qu'un reproducteur est remplacé après sa mort ou par usurpation. De plus, des taux de mortalité élevés sont susceptible de favoriser le turnover des individus au sein des meutes et d'augmenter la fréquence des processus de fractionnement et de fusion.

La population isolée de loups italiens s'est rétablie après un goulot d'étranglement qui s'est produit dans les années 1960-1970 (Cagnolaro et al. 1974). Ils ont recolonisé de manière stable les Alpes occidentales et ont atteint une distribution continue le long des Apennins, où les meutes de loups peuvent localement atteindre des densités élevées. Même si l'espèce est entièrement protégée par la loi italienne, des niveaux élevés de mortalité induite, principalement due au braconnage et aux accidents de trafic routier, sont signalés (Lovari et al. 2007). Aucune étude ne s'est concentrée jusqu'à présent sur la connaissance des dynamiques sociales agissant au niveau local, dans la population de loups italiens et de la façon dont ces mécanismes affectent son rétablissement.

Dans cette étude, nous avons étudié la structure génétique à petite échelle. Les loups se sont rapidement rétablis dans la région au cours des 20 dernières années et au début des années 2000 ; la région semblait avoir été colonisée par un certain nombre de meutes rapprochées (Apollonio et al. 2004; Capitani et coll. 2006). Dans la région, il n'y a pas de barrière à la dispersion et la mortalité d'origine humaine est soupçonnée être élevée (Capitani 2005). Selon Vonholdt et coll. (2008), dans ces conditions, à courte portée la migration, des individus pourrait être favorisée à se reproduire, on s'attend alors à ce qu'une homogénéité génétique se manifeste dans la population. Dans la présente étude, nous avons spécifiquement testé les éléments de prédictions suivants : (1) les mouvements individuels entre les meutes sont fréquents, en raison d'une dispersion à courte distance, d'un processus de fractionnement de meute et de fusion/adoption, (2) la parenté génétique est élevée entre les meutes voisines et diminue lentement avec l'augmentation de la distance, et (3) aucune structure génétique substantielle ne peut être trouvée dans la population.

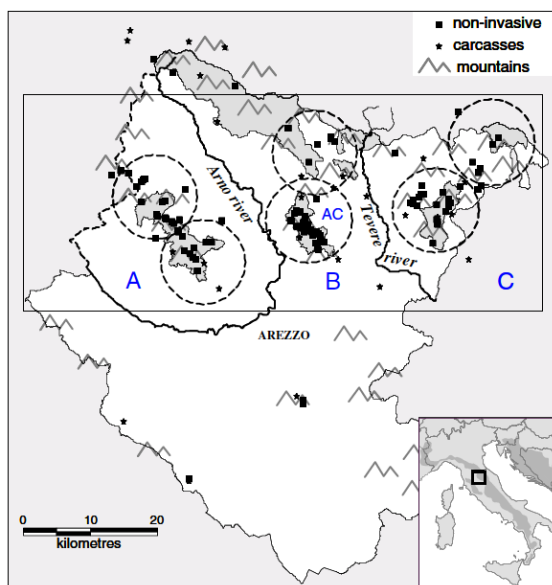


Fig.1 Carte simplifiée montrant la distribution des échantillons génotypés dans la province de Arezzo (Italie). Les zones protégées sont en gris foncé. Une zone sélectionnée (rectangle) a été partitionnée par la présence de deux rivières dans les sous-zones A, B et C. Les cercles hachés représentent les unités d'échantillonnage basées sur l'emplacement d'une meute approximative (zone tampon de 6 km autour des sites de rendez-vous enregistrés l'été 2002). La meute d'Alpe di Catenaia (AC) surveillée intensivement est au centre. L'emplacement géographique de la zone d'étude en relation avec l'aire de présence du loup (ombré) en Italie est indiqué dans la boîte (en bas à droite)

Population de loups

La population locale de loups a été surveillée en permanence de janvier 1998 à décembre 2004 par observation directe, hurlements provoqués et suivi dans la neige (voir Apollonio et al. 2004; Capitani 2005). Neuf à 12 meutes (moyenne $10,3 \pm 1,2$) ont été dénombrées annuellement dans la province d'Arezzo. La taille de meute était entre deux et huit individus, avec une moyenne de $4,0 \pm 0,6$ (moyenne \pm sd) en hiver. Une densité hivernale globale de 2,3 loups/100 km² et une distance moyenne de $11,1 \pm 1,8$ km entre les sites de rendez-vous des meutes voisines ont été estimés dans la région (Capitani et al. 2006). Une productivité élevée des meutes et une fidélité importante aux sites de rendez-vous d'été a été constatée au cours de la période d'étude (Capitani 2005).

Statistical analysis

L'analyse a été limitée aux individus échantillonnés au cours de la période 2000–2003 dans les territoires de six meutes habitant trois zones de montagne séparées par deux rivières (A, B et C sur la figure 1 et vue schématique sur la figure 2). La présence de deux meutes adjacentes a été constaté dans

chaque zone au cours de cette période. Les sites de rendez-vous utilisés par les meutes ont été localisés sur la base des enregistrements de hurlements d'été (les techniques de terrain et les méthodes sont décrites dans Capitani et al. 2006). Nous avons ensuite défini les unités d'échantillonnage (SU) comme des zones circulaires centrées sur le site de rendez-vous détecté et ayant un rayon de 6 km (Fig.1). Cette distance se rapproche de la moitié de la distance moyenne entre les meutes adjacentes dans la zone d'étude (Capitani et coll. 2006). Un individu génotypé a été affecté à la SU, où le centre géographique de tous les endroits d'échantillonnage en un an sont tombés. Une fois l'affiliation aux SU établie, les valeurs de relation par paire ont été calculées pour les dyades appartenant aux classes de distance suivantes (Fig.2) : (1) dans la même unité (WSU), (2) entre les unités dans la même zone (BSU), (3) entre les unités des zones voisines (BNA), iv) entre unités situées dans des zones éloignées (BDA).

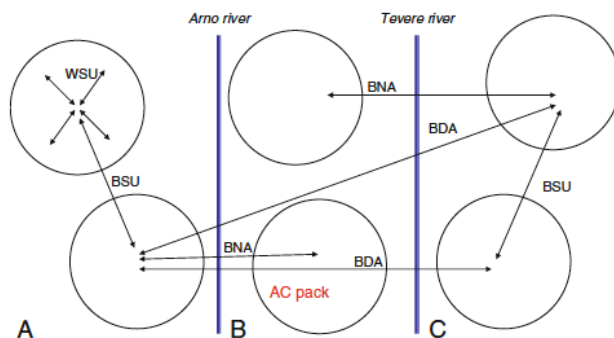


Fig. 2 Schéma montrant les quatre classes de distance qui étaient utilisées pour classer les dyades de loups échantillonnés par relations génétiques : au sein des unités sociales (WSU), entre les unités de la même zone (BSU), entre les unités dans les zones voisines (BNA), et entre régions éloignées (BDA). Chaque cercle représente une unité d'échantillonnage (SU). Les trois zones correspondent aux sous-zones A, B et C apparaissant dans le rectangle de la Fig. 1. Ils sont séparés par deux rivières (Arno et Tevere)

RESULTATS

Un total de 177 génotypes multi-locus a été obtenu : 30 (17%) proviennent de carcasses de loups et 147 (83%) des échantillons prélevés de manière non invasive. Le logiciel MICRO-CHECKER n'a détecté aucun biais dans notre ensemble de données, qui pourrait être attribué à des erreurs de notation allélique, à l'abandon allélique ou aux allèles nuls. Les génotypes notés ont été attribués à 86 individus différents ($P_{sib} = 6,7 \times 10^{-5} - 2,1 \times 10^{-2}$). Parmi eux, l'analyse bayésienne des grappes a révélé 4 renards et 8 chiens, chacun avec une confiance d'affectation >95%. En revanche, tous les autres génotypes incertains ont été attribués aux loups, même si deux d'entre eux ont montré des signes d'un éventuel événement d'hybridation avec des chiens dans leur ascendance ($P_{[wolf]} < 95%$). La détermination moléculaire du sexe nous a permis d'établir que 36 individus étaient des mâles et 31 des femelles, tandis que le sexe n'a pas pu être évalué pour sept individus. Un total de 55 allèles a été observé à neuf loci (trois à neuf par locus), tandis que H_o et H_e moyens à travers les locis étaient de 0,647 et 0,660, respectivement. La population a quitté HWE (Méthode de Fisher, $p = 0,0021$), mais cela n'était pas dû à la consanguinité ($FIS = 0,0199$, $p > 0,10$). Six des 36 paires de locis ont montré une association significative au niveau génotypique (déséquilibre de liaison), bien qu'aucun d'entre eux n'ait été localisé sur le même chromosome. Vraisemblablement, le départ de HWE et LE résultaient de la structuration de la population, suggérée par la survenue simultanée de différents allèles dans les différentes zones d'échantillonnage.

En moyenne, chaque génotype dérivant de l'échantillonnage non invasif a été obtenu à partir de l'analyse de 3,02 échantillons (Tableau 1). Cependant, 50% des individus ont été échantillonnés juste une fois (Fig. 3a). Environ 80% de tous les événements de rééchantillonnage s'est produit dans la même SU où un loup a été échantillonné pour la première fois ; aucune différence n'a été observée entre les sexes (Fig. 3b). En ce qui concerne la répartition géographique en Fig.1, un seul loup (mâle W58) a été échantillonné dans plus d'une zone, à savoir en C en 2002 et en B en 2003 et 2004 (Tab.1). Trois individus, tous des mâles, furent échantillonnés pendant plus de 3 ans (S11, S18 et S19). Le mâle W11 a été surveillé de manière non invasive pendant six années consécutives (toute la période d'étude) dans la même zone où la femelle W38 a été suivie pendant trois années consécutives, de 2001 à 2003.

Comme prévu, la parenté dans la population a diminué avec la croissance de la distance (Fig.4). Dans les comparaisons intra-pack (WSU, $n = 63$), la parenté moyenne de $0,310 \pm 0,042$ (moyenne \pm

standard erreur), mais a diminué à $0,133 \pm 0,034$ entre les meutes de la même zone (BSU, $n = 73$). La relation par paire est tombée à des valeurs moyennes de $0,011 \pm 0,018$, lorsque les individus étaient échantillonnés dans les zones voisines (BNA, $n = 217$), et il était négatif ($-0,124 \pm 0,023$, BDA, $n = 90$) dans les comparaisons entre des régions éloignées. Les différences de relations moyennes observées les entre les classes étaient toutes significatives (test de randomisation, $P < 0,01$ pour toutes les comparaisons). **Par conséquent, le signal de la parenté a été perdue à quelques kilomètres d'une SU.**

Selon l'analyse CERVUS et les valeurs de relations par paires, les individus W11 et W38 étaient compatibles pour être le couple parental de la meute AC pendant cette période. Six individus dans notre l'échantillon étaient susceptibles d'avoir été engendré par ce couple reproducteur. Cinq d'entre eux avaient été échantillonnés entre 2000 et 2003 dans l'unité d'échantillonnage AC, tandis que le sixième individu (W48) était un yearling qui a été retrouvé mort en décembre 2002, à 13 km du site de rendez-vous AC. Ce loup avait été abattu, mais sa carcasse a été retrouvée au bord d'une route provinciale. On peut soutenir qu'une translocation post mortem ait eu lieu. De plus, il a été trouvé dans un site qui était hors de tout territoire du loup.

L'analyse bayésienne a permis l'évaluation du flux génétique entre les zones et la différenciation génétique de la population qui en résulte. La partition en trois clusters ($K = 3$) a reçu le support le plus élevé des simulations ($\Delta \ln P(D) k = 3 = 83,7$; $\Delta \ln P(D) k = 2 = 49,5$; $\Delta \ln P(D) k = 4 = 55,4$). La contribution des trois groupes déduits de la composition génétique de chacun des loups échantillonnés est illustrée à la figure 5. En moyenne, les individus de la zone A ont montré 88% d'appartenance au groupe I, ceux de la zone B ont montré 75% d'appartenance au groupe III, et ceux de la zone C ont montré 64% d'adhésion au groupe II. Un total de 29 loups sur 47 (62%) ont été échantillonnés dans la zone la plus probable (probabilité > 90%) pour être leur région d'origine. Dans la zone C tous ces loups « résidents » étaient de la même SU (donc membres possibles de la même meute), mais ce n'était pas le cas pour les zones A et B. En revanche, trois à six loups sont des immigrants de première génération, appliquant respectivement les critères 90% et 75% (Fig. 5). Selon le résultat précédent, aucun loup de la zone B ne semblait avoir dispersés dans les zones voisines. Au contraire, tous les immigrants sauf un (W44, critère de 75%) étaient susceptibles d'avoir dispersé de la zone A.

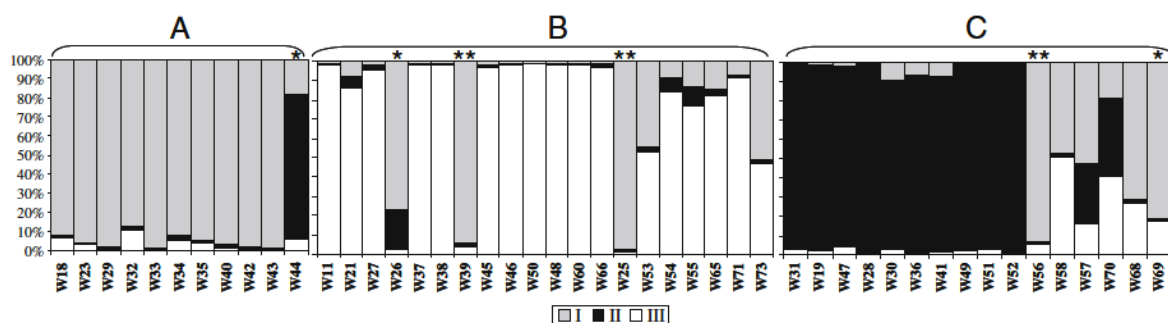


Fig. 5 : Proportions d'appartenance aux trois clusters inférés, comme résultant de l'analyse des grappes dans STRUCTURE, pour les loups échantillonnés dans les zones A, B et C (voir Fig. 1) au cours de la période 2000–2003. Les astérisques indiquent des génotypes identifiés comme immigrants, c'est-à-dire ayant une appartenance q à un cluster qui est le plus courant dans un autre aire (** $q > 90\%$; * $q > 75\%$).

DISCUSSION

En présence de données très limitées sur le comportement spatial des loups en Italie, la présente étude fournit les premières données génétiques sur les déplacements des loups à petite échelle géographique et la preuve d'une structure génétique cryptique. Nous avons considéré une population rétablie qui est au cœur de l'aire de répartition actuelle de l'espèce en Italie et qui a probablement été impliquée dans la recolonisation des Alpes occidentales (Scandura et al. 2001). Elle est distribuée sur les zones montagneuses contiguës, où les habitats appropriés sont apparus être saturé par des meutes, avec un espace stabilisé apparemment élevé (Capitani 2005; Capitani et al. 2006). Basé sur des données obtenues par Vonholdt et al. (2008) à Yellowstone National Park, nous avons prédit qu'une population avec de telles caractéristiques comme celles observées dans notre zone d'étude (i.e. territoires groupés

et stables) devraient montrer des niveaux élevés d'homogénéité génétique, en conséquence de fréquentes migrations entre les meutes. Sur la base de nos résultats, cette prédiction peut être rejetée.

Les modèles temporels et spatiaux, déduits par des rééchantillonnage d'individus génotypés dans la population, suggèrent en effet que l'échange de loups entre les meutes voisines sont peu fréquents. Une fois génotypé pour la première fois, un loup rééchantillonné avait de bonnes chances (environ 80%) de se trouver dans la même unité d'échantillonnage. Cependant, la moitié des loups n'ont pas été détectés après leur premier événement d'échantillonnage. La mortalité élevée et le taux élevé de dispersion de longue distance peuvent expliquer ce faible taux de recapture, car la plupart des événements de mortalité passent généralement inaperçus et les disperseurs à longue distance sont susceptibles de quitter la zone d'étude.

En accord avec les données de rééchantillonnage, aucune preuve de dispersion de courte distance depuis la meute centrale AC n'a été trouvée pendant la période 2000–2003. Pendant cette période, la reproduction du pack AC par le couple dominant génotypé (mâle W11 et femelle W38) a été confirmée chaque année et son site de rendez-vous d'été était constamment enregistré dans la même petite vallée (Capitani et al. 2006). Aucun des six descendants possibles de ce couple n'a été échantillonné plus d'un an et tous sauf un s'est produit uniquement dans la zone CA. L'exception est représentée par W48, retrouvé mort en marge du territoire de la meute AC, mais il était censé y avoir été déplacé après sa mort. Par conséquent, malgré la position centrale et la stabilité apparente de cette meute, la migration à courte distance de ses membres n'a pas été documentée.

Comme prévu, la parenté génétique diminue avec l'augmentation de la distance. Bien que deux rivières séparent les zones A, B et C (Fig.1), elles ne peuvent pas représenter des barrières efficaces contre la dispersion des loups. Néanmoins, alors que les loups des SU adjacentes de la même zone a montré un degré modéré de parenté, le R moyen a été ramené à zéro lors de son calcul entre les loups des régions voisines. En conséquence, un niveau remarquable de différenciation génétique entre les trois zones a été trouvée au moyen d'une analyse bayésienne. Ces résultats confirment l'existence de contraintes au flux de gènes local, les deux vallées principales représentant des zones de discontinuité génétique. Néanmoins, entre trois (90% critère d'attribution) et six événements (critère de 75%) d'immigration récente a été détectée dans la population.

En fait, la stabilité de la meute peut expliquer la maintenance d'un degré de structuration remarquable dans une population. Bien que le taux de mortalité ne soit pas négligeable dans la zone d'étude, il semble toucher principalement les jeunes, une tendance générale observée dans le reste de l'Italie également (Capitani 2005; Lovari et coll. 2007). Ceci est également confirmé par la prévalence de cette classe d'âge dans notre échantillon d'individus morts. Dans les populations qui ne se caractérisent pas par la perte fréquente d'un reproducteur, les couples reproducteurs peuvent se reproduire pendant plusieurs années et, lorsqu'ils sont tranquilles, ils peuvent conserver les mêmes lieux de résidence et les mêmes territoires au fil du temps. C'est par exemple le cas du pack AC, comme suggéré par ses emplacements d'été (Capitani et al. 2006). De plus, la population locale de loups semble non seulement stable, mais aussi remarquablement dense, proche de la saturation d'exploitation d'habitats convenables (Capitani et coll. 2006). C'est un autre facteur favorisant la migration entre les meutes chez les jeunes loups, qui peuvent avoir des difficultés à trouver une zone appropriée libre dans la province d'Arezzo.

Les Apennins étant un continuum d'habitats convenables aux loups (Corsi et al. 1999), se disperser sur de longues distances peut représenter une stratégie efficace. La preuve la plus frappante de cela, est la recolonisation naturelle des Alpes occidentales, où les loups colonisateurs se sont dispersés depuis les Apennins du Nord (Scandura et al. 2001; Fabbri et al. 2007). La récente voie de dispersion d'un individu muni d'un collier radio (Ciucci et al. 2009) soutient l'idée d'une tendance générale à la dispersion à longue distance dans la population italienne. En fait, la dispersion de longue distance est commune chez les loups, et particulièrement fréquente parmi les classes d'âge jeunes, qui peuvent se disperser sur des centaines de kilomètres (Mech et Boitani 2003). Les distances de dispersion peuvent être très élevées pour les populations en expansion, comme observé en France (Valière et al. 2003) et en Suède (Vilà et al. 2002; Wabakken et al. 2007). En Finlande, la radiotélémetrie et les données génétiques ont révélé que les migrants représentaient une forte proportion d'individus en dispersion et leur distance moyenne de dispersion était proche de 100 km (Aspi et al. 2006; Kojola et al. 2006).

Gula et coll. (2009) ont documenté un loup mâle se dispersant sur une distance de 230 km dans les Carpates polonaises, où aucune différenciation génétique pertinente a été détectée.

Si de longues distances de dispersion peuvent favoriser l'homogénéisation génétique à une large échelle géographique, ce comportement peut limiter les échanges d'individus entre groupes rapprochés, générant une structure génétique **cachée**, même en l'absence de barrières physiques.

Selon cette hypothèse, des milieux comme ceux que nous avons surveillés dans la province d'Arezzo sont susceptibles de représenter une source fournissant les migrants à la recolonisation des zones périphériques. Cette interprétation peut expliquer les modèles d'expansion dans le centre de l'Italie, où les loups colonisent les zones vallonnées périphériques et les basses terres, après avoir complètement recolonisés les zones de montagne. Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent l'existence d'une structure génétique cryptique (cachée) dans la population de loup des Apennins, qui peut résulter d'une combinaison de données démographiques, de modèles sociaux et de dispersion, tels que la stabilité des couples reproducteurs et la tendance à remplacer la perte d'un reproducteur par des individus venant de loin (c'est-à-dire les disperseurs à longue distance, Smith et coll. 1997).

De plus, la présente étude démontre que la mise en œuvre de plusieurs sources de données opportunistes et non invasives pour évaluer les mouvements des loups et reconstruire des généalogies dans une population, peut fournir des informations précieuses sur la dynamique qui influencent la structure génétique et la démographie de cette espèce. Les futures études, utilisant éventuellement à la fois la génétique et la radiotélémetrie, sont garantis pour améliorer notre compréhension des mécanismes complexes qui affectent la dynamique des populations et la récupération des populations de loups d'Europe du Sud.