

Généalogie et viabilité génétique des loups gris réintroduits au Yellowstone

Molecular Ecology (2008) 17, 252–274

doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03468.x

The genealogy and genetic viability of reintroduced Yellowstone grey wolves

BRIDGETT M. VONHOLDT,* DANIEL R. STAHLER,*† DOUGLAS W. SMITH,† DENT A. EARL,* JOHN P. POLLINGER* and ROBERT K. WAYNE*

*University of California, Los Angeles, Ecology and Evolutionary Biology, 621 Charles E. Young Dr South, Los Angeles, CA 90095, USA, †Yellowstone Center for Resources, National Park Service, PO Box 168; Yellowstone National Park, Wyoming 82190, USA

INTRODUCTION

Dans cette étude, nous avons construit un pedigree de la population de Yellowstone impliquant tous les individus fondateurs et 169 de leurs descendants au cours de la dernière décennie. Peu d'études à ce jour ont été en mesure de résoudre de telles relations pour une espèce sauvage menacée d'extinction (Taylor et al., 1997; Kalinowski et al., 1999; Ralls et Ballou, 2004; Liberg et al., 2005). Ce pedigree, basé sur des données de terrain et génétiques, a été utilisé pour explorer les tendances de la diversité génétique, la structure de la population, et la taille effective de la population. Nous décrivons comment la reproduction, la formation des meutes et la parenté influencent les variations génétiques, et d'identifier les règles d'assemblage de la population régissant la préservation de l'expansion de la population de loups. En outre, nous avons évalué le succès de reproduction observé et le maintien d'une variation génétique par rapport à des scénarios de reproduction simulés. Enfin, nous avons projeté des changements de variabilité génétique dans l'avenir et discuté des stratégies de gestion pour maintenir la variabilité. Cette étude fournit une évaluation unique du rétablissement des espèces en voie de disparition, et facilite une meilleure compréhension sur l'importance des mesures de conservation, sur la viabilité génétique et la persistance de la population.

MATERIEL et METHODE

Des échantillons de sang et de tissu ont été recueillis entre 1995 et 2004 de 200 loups de YNP au moyen par capture en hélicoptère et sur des cadavres (figure 1). Notre échantillonnage représente 23 meutes. Tous les 31 loups Canadiens fondateurs ont été échantillonnés avant leur libération dans le parc. De plus, 10 louveteaux ont été transférés du nord-ouest du Montana en 1996 après que leurs parents ont été tués dans le cadre d'une action de contrôle de la déprédation du bétail en 1996 et représentait des individus supplémentaires non apparentées aux fondateurs de Yellowstone. Cependant, seulement deux d'entre eux se sont reproduit dans la nature. La proportion d'individus équipés de

collier radio au cours de la période d'étude variait de 25 à 86% de la taille totale du recensement de Yellowstone (NC; gamme 21-174 loups), défini comme tous les loups vivants à la fin de l'année civile.

RESULTATS

Histoire démographique de la réintroduction

La population de Yellowstone s'est développée rapidement après les réintroductions de 1995 et 1996. Au total, 41 les loups ont été réintroduits de 1995 à 1997; 31 fondateurs venaient du Canada et 10 du nord-ouest du Montana. Les individus du Montana proviennent d'un stock canadien indépendant et seulement trois de ces louveteaux ont vécu 1 an avec seulement deux reproductions dans la nature. La croissance démographique était initialement très élevée durant la phase de réintroduction (40-50% par an, 1995-1997) et a continué à augmenter jusqu'en 2003 (10-15% par an, 1999-2003) atteignant un maximum de 174 loups avant de décliner à 169 loups en 2004 (Smith 2005). La formation des meutes et l'établissement du territoire a suivi un modèle similaire, passant de trois meutes en 1995 à 16 meutes stabilisées en 2003 et 2004 (figure 1). L'analyse des table de vie calculée à partir de l'âge spécifique les taux de natalité et de mortalité de la population de Yellowstone à partir de 2004 (tableau S1) ont été utilisés dans un vortex et estimé un temps de génération moyen de 4,16 ans (Miller & Lacy 2005). Depuis 2004, la taille de la population et le nombre de meutes sont stabilisés, indiquant que la capacité de charge à Yellowstone a été atteinte (Projet Yellowstone Wolf, NPS, données non publiées). L'augmentation des conflits au sein des meutes et intraspécifique, de mortalité ont été associée à une densité élevée, ce qui suggère que la capacité de charge a été socialement régulé (Projet Yellowstone Wolf, NPS, Les données non publiées). L'émigration des loups de YNP était commune tout au long de la période d'étude, et était responsable de l'établissement des nouvelles meutes en dehors du parc (USFWS et al., 2005). L'immigration de loups à YNP et en dehors n'a pas été observée (Yellowstone Wolf Project, NPS, données non publiées) ou révélé à partir

d'études génétiques à l'intérieur ou à l'extérieur du parc (vonHoldt données non publiées; voir ci-dessous).

Tendances générales de la diversité génétique

Des écarts par rapport aux attentes de Hardy-Weinberg se sont produits dans moins de 10% en moyenne des 30 loci initiaux après Correction de Bonferroni pour les tests multiples (voir le tableau S2, Matériel complémentaire). Cependant, quand l'héritage des patrons ont été examinés avec des généalogies connues de terrain, quatre loci (Pez6, Pez11, 3313 et 4027) ont constamment montré un modèle d'héritage non-mendéliens et ont été abandonnées de toutes les analyses ultérieures. Les 26 locis restants étaient polymorphe chaque année, allant de trois à 18 allèles par loci avec une richesse allélique (AR) de 6,3-9,1 allèles par loci pour le pédigrée de la population (N = 200; Tableau S3, Matériel supplémentaire). Les tests étaient insignifiants pour la présence d'allèles nuls pour l'ensemble des 26 locis (en utilisant Correction de Bonferroni pour plusieurs tests). Dix-huit sur 325 comparaisons par paires ont montré un déséquilibre de liaison significative (LD) après la correction de Bonferroni ($P < 0,05$) mais aucun des 18 couples n'étaient des locis situés sur le même chromosome, suggérant que le LD est probablement dû à la structure de population plutôt qu'en lien physique. Ainsi, nous incluons tous les 26 locis restants dans nos analyses.

Avec une augmentation de diversité allélique lorsque la seconde population fondatrice a été introduite en 1996, la diversité génétique est restée élevée et la consanguinité était proche de zéro pour toute la période d'étude. L'hétérozygotie observée a été maintenue dans le pédigrée de la population à des niveaux élevés ($H_{1995} = 0,694$; $H_{2004} = 0,725$) alors que la consanguinité (F_{IS}) n'a augmenté que légèrement au fil du temps (1995 $F_{IS} = -0,063$; 2004 $F_{IS} = -0,051$), des résultats cohérents avec l'expansion de la population ($N_{1995} = 21$, $N_{2004} = 169$, Tableau 1 et Fig. 1). L'augmentation marquée du coefficient de consanguinité observé en 1996 et 1997 était associé à l'ajout d'une portée d'un événement de consanguinité de loups logés dans le même enclos (F_{IS} de 1996 = $-0,016$; 1997 $F_{IS} = -0,012$, voir ci-dessous).

Les niveaux moyens d'hétérozygotie observé pour le pool reproductif sur l'étude de 10 ans ne sont pas significativement différents de ceux choisis dans le scénario de reproduction gérée (voir Méthodes $H_{Observed} = 0,750$, SE = $0,013$; $H_{Managed} = 0,761$, SE = $0,017$; Fig. 2A). La relation des reproducteurs est plus élevée pour les quatre premières années (1995-1998) que le scénario, et significativement plus élevée pour deux de ces années (Figure 2B). Par la suite, les valeurs sont similaires sauf pour les deux dernières années lorsque la parenté est significativement plus élevée pour la population observée (2003; $r_{Observed} = 0,017$, SE = $0,002$; $r_{Géré} = -0,009$, SE = $0,007$; 2004; $r_{Observed} = 0,010$, SE = $0,002$; $r_{Géré} = -0,009$, SE = $0,006$; Fig. 2B). Les coefficients de consanguinité (F_{IS}) signifient que les reproducteurs ont diminué dans le temps pour les deux scénarios, mais étaient souvent plus faible dans la population gérée ($F_{Observed} = 0,012$, SE = $0,023$; $F_{Managed} = -0,011$, SE = $0,022$; Fig. 2C).

Enfin, nous avons simulé la reproduction en 2004 pour

comparer des scénarii d'hétérozygoties d'une reproduction ouverte, restreinte et gérée (figure 3). L'hétérozygotie moyenne de la population observée ($H_{Observed} = 0,750$, SD = $0,013$) était supérieur à la restriction ($H_{Restricted} = 0,690$, SD = $0,019$) et la stratégie de reproduction ouverte ($H_{Open} = 0,728$ SD = $0,026$) et pas significativement différent du scénario géré ($H_{Managed} = 0,764$, SD = $0,008$). L'hétérozygotie élevée dans la population observée peut être attribuée au choix actif des loups à se reproduire avec des individus non apparentés au sein ou en dehors de leur meute natale (voir ci-dessous).

Groupes de fratrie et assignations de parenté

À partir d'analyse de fratrie, nous avons identifié 52 groupes de fratrie composés de plusieurs membres de 14 meutes. De ces groupements nous avons résolu 31 relations dyades frère-sœurs et 19 dyades demi-frères basées sur le partage d'un parent, avec seulement deux dyades étant non résolues. Tous génétiquement déduits, les regroupements de fratries étaient cohérents avec les données de terrain. Les 26 microsatellites dans notre ensemble de données ont eu une très faible probabilité globale d'identité entre frères et sœurs (PID_{sib} variait de $9,33 \times 10^{-13}$ en 1996 à $2,91 \times 10^{-12}$ en 2004). Ce résultat implique que les frères et sœurs partagent le même génotype par hasard, étaient très peu probable dans notre population.

Des données de filiation initiales (non génétiques) de terrain ont résolu 12 couples, huit paternités et 22 maternités. Les analyses génétiques ont résolu la filiation pour 200 individus, 183 assignements (91,5%) avec un niveau de confiance de 95% et 17 (8,5%) avec un niveau de confiance de 80%. Nous n'avons pas trouvé de multiple-paternité dans une portée. Le polymorphe contenu informationnel était élevé (PIC = $0,733$) et les probabilités de non-exclusion étaient de l'ordre de 10-12 pour l'ensemble des 26 locus. Parmi les 200 individus, les analyses génétiques parentales ont identifiés 126 descendants (77,3%) avec des affectations à deux parents et 37 progéniture (22,7%) ayant une famille monoparentale (28 paternités et neuf assignements de maternité). Cinq affectations de deux parents ont été résolues par reconstruction de la fratrie. Il y avait une filiation non résolue pour sept paternités avec une maternité connue (deux en raison de mâles non échantillonnés) et 15 maternités avec paternité connue (sept en raison de femelles non échantillonnées).

Relation des couples reproducteurs

Nous avons déterminé la parenté de 31 couples reproducteurs par confirmation sur le terrain et filiation génétique, et trouvé que 28 (90%) n'étaient pas liés. Cependant, seulement deux des trois événements d'accouplement associés représentent un événement naturel (voir au dessous); par conséquent, le taux naturel non apparenté des accouplements est de 93%. La relation par paire moyenne (\pm SE) les valeurs entre les couples reproducteurs étaient de $-0,026 \pm 0,03$ $-0,313$ - $0,515$, N = 31) et leur consanguinité moyenne (\pm SE) coefficient était $F = -0,005 \pm 0,007$ (plage $-0,087$ - $0,084$, N = 31; Tableau 2). Les couples reproducteurs avaient des niveaux d'hétérozygotie

moyens élevés ($H_{\text{parents}} = 0,787 \pm 0,015$) qui différait de leur progéniture ($H_{\text{pups}} = 0,741 \pm 0,014$, $N = 151$; t -test : $t = 2,12$, d.f. = 30, $P = 0,043$; Tableau 2). En outre, nous avons partitionné l'ensemble des données pour les reproducteurs connus ($N = 65$) et les non-reproducteurs ($N = 135$) et n'avons trouvé aucune différences significatives entre les groupes concernant l'hétérozygotie ($H_{\text{breeding}} = 0,749$, $SE = 0,010$; $H_{\text{nonbreeding}} = 0,727$; $SE = 0,010$; $t = 1,543$, d.f. = 164, $P = 0,125$). En conséquence, ce dernier résultat ne supporte pas un biais vers les accouplements d'individus avec une plus forte hétérozygotie que l'on trouve chez les populations de loups consanguines (Bensch et al., 2006).

Le mécanisme de formation de 34 couples reproducteurs est documenté (tableau 3). Cinq couples reproducteurs était déjà établis avant leur libération, avec 29 autres paires formées dans la nature de YNP. Deux de ces paires formées naturellement (7%) étaient des individus seuls qui se sont joints en 1996 (2M et 7M Leopold, Fig 4; 35M et 30F de Thorofare pack), tandis que les 27 couples restants (93%) se sont formés dans le cadre d'un groupe. À six reprises, la vacance créée par le décès d'un mâle reproducteur dominant a été remplacée par la migration dans la meute d'un mâle sans rapport, alors qu'aucun de ces événements n'étaient documenté pour les femelles. Ces événements ont expliqué la formation de six paires à la suite d'un accouplement de la femelle dominante avec le nouveau mâle, ainsi que l'accouplement de cinq femelles subordonnées avec le nouveau mâle. Au total, nous avons documenté neuf cas de reproduction d'individus subordonnés, tous étaient des femelles liées à la femelle reproductrice dominante en tant que frères et sœurs, filles ou nièces. La meute du Pic des Druides illustre une forte structure de meute complexe, avec une reproduction multiple dans laquelle l'hétérozygotie a été maintenue par ces mécanismes (figure 4). Par exemple, un mâle immigrant (21M) a rempli un poste vacant de reproducteur en 1997 après la mort du mâle reproducteur (38M), qui s'est reproduit par la suite avec des femelles non apparentées plusieurs années jusqu'à la division de la meute en 2001. Il y avait une augmentation de l'hétérozygotie à travers le temps associé à ces années de reproductions ($H_{1997} = 0,743$, $H_{2001} = 0,778$; Fig. 4).

Nous avons confirmé génétiquement trois copulations extra-meute quand les femelles subordonnées ont formé des liaisons temporaires avec les mâles en phase d'accouplement pendant la saison de reproduction, tous dans la meute du Pic des Druides. Le premier cas s'est produit en 2002 lorsque nous avons confirmée la parenté d'au moins une portée avec un mâle dispersant de Nez Percé (214M) qui s'est accouplé temporairement avec une femelle subordonnée non marquée, mais n'a pas rejoint la meute (figure 4). Une progéniture femelle (286F) de cet appariement s'est reproduit dans la meute du Pic des Druides en 2004 avec le mâle alpha, résultant en l'un des deux événements naturels de consanguinité (voir ci-dessous, tableau 2 et figure 4). En 2003, nous avons confirmé la paternité par un mâle dispersé (302M) de la meute de Leopold qui a engendré au moins trois louveteaux avec deux différentes femelles subordonnées dans la meute du Pic des Druides avant de rejoindre la meute en

2004 (Fig. 4).

Cinq couples reproducteurs formés en dehors d'une meute établie et ont impliqué un individu disperseur, rejoint par un groupe de loups de sexe opposé. C'était le principal mécanisme pour former de nouvelles meutes dans Yellowstone après 1996 (voir ci-dessous). Quatre paires se sont formées par un individu héritant de la position de reproducteur dominant dans leur pack natal, et dans chacun de ces cas, le dominant reproducteur de sexe opposé n'était pas leur parent. Nous avons documenté un événement d'un disperseur mâle usurpant le mâle dominant depuis longtemps. Ce mâle immigrant (534M) du pack Nez Percé a forcé le mâle dominant (2M) (reproducteur de longue date) à quitter la meute (figure 5). L'élevage subséquent du nouveau mâle était associé à une augmentation d'hétérozygotie de la meute ($H_{2001} = 0,729$; $H_{2004} = 0,743$). Ces résultats démontrent une flexibilité remarquable dans les moyens par lesquels les couples se forment et révèlent une plus grande diversité des mécanismes au sein d'une seule population que précédemment documenté dans d'autres études (par exemple Rothman & Mech 1979; Hayes et al. 1991; Mech & Boitani 2003a). Cependant, malgré cette variabilité, tous les mécanismes naturellement observés évitent la reproduction entre individus très apparentés (voir ci-dessous) et étaient souvent associés à une augmentation de l'hétérozygotie des meutes.

Consanguinité

Au cours de l'étude sur 10 ans, nous avons documenté seulement trois couples significativement apparentés ($r = 0,515$, $P < 0,001$; $r = 0,227$, $P < 0,05$; $r = 0,172$, $P < 0,05$). L'un était probablement un accouplement entre une tante et un neveu (meute Crystal Creek), une seconde était entre un grand-père et sa petite-fille (meute du Pic des Druides), et le troisième concernait un accouplement avec un demi-frère (meute de Nez Percé). Le couple consanguin tante-neveu était significativement liée, mais les relations exactes n'ont pas été résolues en raison d'une ascendance inconnue. Cependant, cet appariement s'est produit dans des circonstances atténuantes, puisque le compagnon non lié de la femelle est mort avant la saison de reproduction, laissant son neveu comme le seul loup restant dans le groupe pendant la saison de reproduction en 1997, une année de disponibilité en partenaire faible. Le grand-père probable accouplé avec sa petite-fille était significativement liée, et sur le terrain les observations indiquent que le parent partagé était la mère non échantillonnée de la femelle reproductrice qui était vraisemblablement une fille du mâle reproducteur (tableau 2, figure 4). Cet appariement s'est produit immédiatement après le décès de l'ancien compagnon, le mâle reproducteur depuis longtemps, au pic de la saison de reproduction, ne laissant que les femelles apparentées comme possible partenaire. Le troisième accouplement reflète une interférence humaine concernant deux frères et sœurs de la meute de Nez Percé en 1997 pour devenir parents substituts pour 10 louveteaux orphelins de la meute de Sawtooth du nord-ouest du Montana (figure 6). Cela a entraîné le seul événement de reproduction d'une fraternité au Parc national de Yellowstone pour la

période de 10 ans. L'hétérozygotie de la meute de Nez Percé était initialement élevé lors de la réintroduction ($H_{1996} = 0,802$), puis réduit l'année suivante ($H_{1997} = 0,753$), mais est resté stable avec l'inclusion de loups non liés de la meute de Sawtooth ($H_{1997} = 0,790$; Fig. 6). Seulement deux d'entre eux (appartenant à la meute de Sawtooth) (70M et 72M) se sont reproduit dans la nature, avec la femelle dominante titulaire de la meute de Nez Percé (48F) qui maintiendra l'hétérozygotie au cours des années suivantes ($H_{2000} = 0,786$ à $H_{2004} = 0,813$).

En 1997, la proportion d'opportunités de reproduction avec des meutes susceptibles d'engendrer de la consanguinité était de 10%, a augmenté au cours des années suivantes avec l'accroissement de la population pour culminer en 2004 à 59%. Par conséquent, les loups de Yellowstone ont activement évité de se reproduire avec des parents proches, aucun événement de consanguinité naturelle n'a été documenté entre individus avec $r > 0,25$ malgré une augmentation des possibilités de le faire.

Formation de nouvelles meutes

La formation de nouvelles meutes impliquait toujours l'établissement de couples reproducteurs, car ils sont la base de l'unité de structure sociale du loup (Murie 1944, Mech 1970). Sept meutes se sont établis pendant la réintroduction : Joseph, Crystal Creek, Pic des Druides, Lone Star, Nez Percé, Rose Creek, et Soda Butte) avec quatre d'entre elle maintenant l'adhésion de groupe de base tout au long des 10 années d'étude (figure 1). Des 15 meutes naturellement formées au cours des années suivantes, seulement quatre (27%) résultèrent de l'appariement d'individus seuls (Bechler, Hayden, Leopold et Thorofare), avec deux de ces paires génétiquement confirmées comme n'étant pas apparentés (Léopold et Thorofare, Fig. 1). Onze (73%) nouvelles meutes se sont formées à la suite du fractionnement de la meute : Ruisseau, Biscuit, Buffalo Fork, Ruisseau Cougar, Géode Ruisseau, Gibbon Meadows, Montagne de moutons, Ruisseau Slough, Le ruisseau Specimen, le lac Swan et Tower). La division « *splitting* » de la meute est défini ici comme un groupe de loups quittant la meute ensemble pour se joindre à d'autres individus qui se dispersent, puis établissent un nouveau territoire (Mech & Boitani 2003a). Des cinq meutes formées par scission « *splitting* » (Agate Creek, Cougar Creek, Geode Creek, Sheep Mountain et Swan Lake), nous avons confirmés génétiquement qu'il s'agissait de frères ou de sœurs ou de parents avec leurs enfants rejoignant des individus non apparentés. Malgré le fait que les proches parents ont été impliqués dans la formation de nouvelles meutes, les reproducteurs se sont toujours accouplés avec des individus non apparentés prévenant ainsi la consanguinité.

L'histoire de la meute Druid Peak illustre ces tendances. Cette meute s'est rapidement développée entre 1997 et 2001, principalement en raison de plusieurs années de portées multiples et des taux élevés de survie des petits (figure 4). En conséquence, quatre nouvelles meutes (Agate Creek, Buffalo Fork, ruisseau Geode et Slough Creek) se sont formées à partir de loups des druides (en grande partie des femelles de la famille) qui ont quitté et rejoint des mâles seuls

non apparentés ou des groupes de mâles apparentés. L'hétérozygoties pour trois de ces meutes étaient élevés à leur formation, car les couples reproducteurs étaient composés d'individus non apparenté ($H_{Agate} = 0,734$, $H_{Slough} = 0,673$, $H_{Geode} = 0,787$). Contrairement à la complexité du pack des Druides, le Leopold pack était conforme à la structure traditionnelle d'un couple monogame reproducteur et leur progéniture (figure 5). Cependant, les femelles de Léopold ayant dispersé en solitaire ont conduit à deux nouvelles formations (Swan Lake et Cougar Creek) après avoir rejoint deux frères s'étant eux aussi séparé de leur meute natale. Ces meutes nouvellement formées ont eu une variation génétique élevée ($H_{Swan} = 0,757$, $H_{Cougar} = 0,691$) et ont maintenue un niveau d'hétérozygotie relativement stable tout au long de leur reproduction comme documenté en 2004 ($H_{Swan} = 0,759$, $H_{Cougar} = 0,667$). Ces résultats sont en contraste avec les observations passées que la plupart des meutes de loups se forment avec la rencontre de deux individus non apparentés (par exemple Rothman & Mech 1979, Mech & Boitani 2003a).

Relation entre les meutes et dispersion des reproducteurs

Sur la base des relations généalogiques en 2002, nous avons identifié 162 liens de parenté (55%) sur 296 meutes possibles ($r = 0,5$ et $r = 0,25$). Nous avons documenté un total de 90 (56%) liens de parenté ayant $r=0,5$ entre individus de différentes meutes et 72 (44%) liens de parenté avec $r=0,25$ YNP en 2002 (figure 7). Cette année-là, nous n'avons trouvé aucun lien avec la meute Delta de Yellowstone. Le majorité des liens de parenté (94%) entre les meutes l'étaient entre des meutes adjacentes et seulement quatre liens avec $r=0,5$ et cinq liens avec $r=0,25$ concernant deux individus de meutes non adjacentes. Par exemple, la meute Bechler a été fondée par un mâle qui était un frère et une progéniture d'individus nés dans la meute Rose Creek éloignée géographiquement (figure 7). Les liens de parenté qui s'étendent au-delà des territoires adjacents sont principalement le résultat de la dispersion de mâles devenant des reproducteurs dans de nouvelles meutes ou des meutes déjà établies. En revanche, les liens de parenté entre les meutes adjacentes reflètent en grande partie la dispersion de femelles ou de groupes de femelles apparentées, se séparant de leur meute natale. Des 90 liens de parenté avec $r=0,5$, 18 (20%) étaient des relations parents-descendants et 72 liens (80%) étaient des relations fraternelles, les deux reflétant des événements de dispersion antérieurs de leur meute natales. Un lien de parenté $r=0,5$ (1%) était dû à une copulation extra-pack.

Dans l'ensemble, nous avons documenté un fort biais de dispersion sexuel dans une meute avec un reproducteur, toutes les immigrations réussies des reproducteurs étant des mâles. Par exemple, un mâle 21M dispersé dans le pack Druid Peak en 1997 et le mâle 227M dispersés dans le pack Geode Creek en 2004 (figure 4). En revanche, nous n'avons pas documenté de femelles se dispersant dans une meute déjà établie, et se reproduire. Alternativement, les femelles sont devenues subordonnées dans leur groupe de naissance ou dominantes reproductrices grâce à la formation d'une nouvelle meute. Cependant, les femelles ont dispersé en solitaire et ont rejoint des groupes de mâles. Par exemple, en

2000, la femelle 152F dispersant de Leopold a rejoint au moins trois frères (204M, 205M, 206M) de la meute du chef Joseph pour former la meute de Swan Lake. L'année suivante, la femelle dispersant 151F de Leopold a rejoint au moins trois frères (256M, 257M, 258M) également du chef Joseph, formant la meute de Cougar Creek.

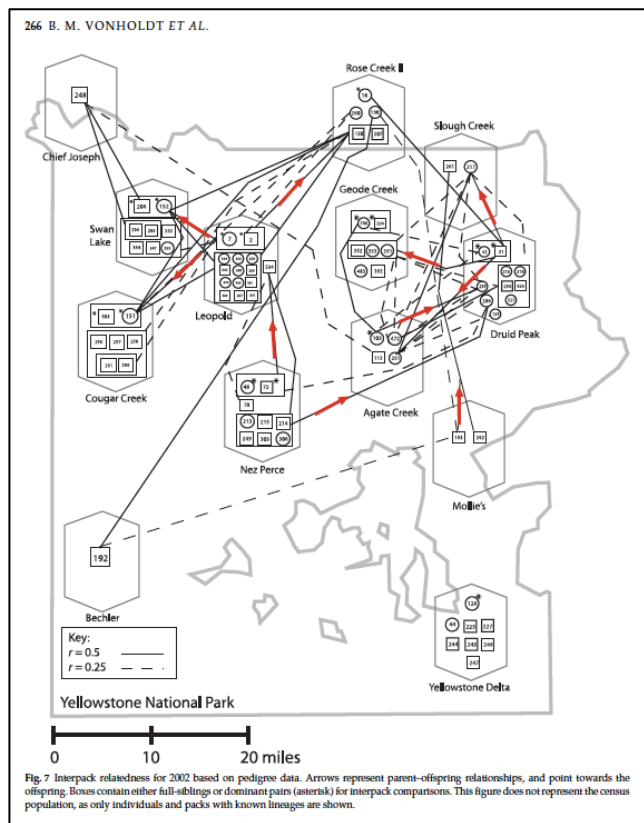


Fig. 7 Interpack relatedness for 2002 based on pedigree data. Arrows represent parent-offspring relationships, and point towards the offspring. Boxes contain either full-siblings or dominant pairs (asterisks) for interpack comparisons. This figure does not represent the census population, as only individuals and packs with known lineages are shown.

Estimations de taille de population efficaces

Nous avons calculé la taille effective de la population (N_e) à partir de ensemble des données généalogiques (tableau 1). N_e a augmenté avec l'augmentation la taille de la population après les événements fondateurs (1995 $N_e = 6$; 1996 $N_e = 13,7$; 2000 $N_e = 17,3$; 2004 $N_e = 22,1$). En utilisant le ratio de N_e à la taille de la population génotypée (N_g , voir le tableau 1), les estimations du rapport N_e/N_g n'ont pas changé de façon appréciable après les événements fondateurs (1996 $N_e/N_g = 0,30$; 1997 $N_e/N_g = 0,33$; 2000 $N_e/N_g = 0,26$; 2004 $N_e/N_g = 0,33$).

Prédiction de trajectoire génétique à long terme

Comme prévu pour une petite population isolée de taille constante ($N = 170$), nos simulations prédisent une diminution de hétérozygotie et augmentation du coefficient de consanguinité sur les 100 prochaines années (Fig. 8). Comparé à la population, l'hétérozygotie génétique en 2004 ($H_E = 0,74$), le vortex analyse de simulation prédit une diminution de 18,1% par rapport à 100 ans à 0,60. Le coefficient de consanguinité estimé augmente de -0.007-0.174. Pour une taille de population constante isolée de démographie et l'histoire de vie similaire, il est prédit qu'une taille de population d'environ 600 individus serait nécessaire pour

empêcher une diminution de l'hétérozygotie et augmenter les coefficients de consanguinité de moins de 5% sur 100 ans (tableau S3). Simuler la migration à sens unique des individus hors YNP dans le GYA indique que l'effet de 10% d'émigration par an diminue l'hétérozygotie et augmente le coefficient de consanguinité de moins de 0,5%, n'ayant donc pas d'impact significatif sur la variabilité génétique. Les résultats de la simulation prédisent également qu'une immigration de l'ordre de 12 individus par an serait nécessaire pour éviter des baisses significatives d'hétérozygotie (<1%) et augmenter le coefficient de consanguinité (Tableau S4, Matériel supplémentaire). Plus loin, basé sur les rapports N_e/N_c d'environ 0,3 pour la population YNP constante, ces résultats prédisent qu'environ quatre individus immigrants par année devenant des reproducteurs pour maintenir la diversité génétique de la population de Yellowstone.

DISCUSSION

Dynamique génétique temporelle

La diversité génétique est réduite dans les petites populations isolées à travers la dérive accrue et la consanguinité et le manque d'immigration (Taylor et al., 1994, Eldridge et al. 1999). Les études empiriques antérieures d'une population de loups gris Suédoise isolée ont constaté que l'hétérozygotie s'est réduite à un taux de 2% par génération (Bensch et al., 2006). Dans le Yellowstone, la théorie prédit une perte d'hétérozygotie d'environ $1/2N_e$ par génération et une augmentation correspondante du coefficient de consanguinité (Hartl & Clark 1997). Par conséquent, compte tenu d'une moyenne harmonique efficace d'une taille de population proche de 52 et d'un temps de génération de 4 ans (Tableau 1), on peut s'attendre à une diminution d'hétérozygotie d'environ 2,4% et d'une augmentation de même valeur du coefficients de consanguinité. Cependant, malgré une absence de flux de gènes au Yellowstone, nous n'avons trouvé aucune diminution temporelle de variabilité génétique ou d'augmentation du coefficients de consanguinité sur 10 ans ou 2,5 générations (Tableau 1). L'hétérozygotie observée au Yellowstone est similaire et dans certains cas plus élevé que les estimations précédentes pour les populations de loups gris (par exemple Forbes et Boyd 1996, 1997; Jędrzejewski et al. 2005). Les coefficients de consanguinité sont bien inférieurs aux valeurs de 0,41 trouvées chez les loups consanguins de la population Scandinave (Liberg et al., 2005, Bensch et al. 2006) ou comme Hedrick et al. (1997) qui ont trouvé dans trois lignées de loups Mexicains des taux allant de 0,184 à 0,608. **Nous suggérons que la variabilité génétique au Yellowstone reflète la grande taille de la population fondatrice et l'expansion rapide de la population** (Sugg et al., 1996, Toro et al., 2003, Alvarez et al., 2005) ainsi que des mécanismes spécifiques pour éviter la consanguinité avec les familles proches. L'évitement de la consanguinité peut améliorer la variabilité génétique au-delà de celle prédite par les modèles simples de génétiques (Hartl & Clark 1997, Keller & Waller 2002, Saccheri & Brakefield 2002; Vilà et al. 2003; Hogg et al. 2006).

Règles d'assemblage de la population

Nous avons identifié plusieurs facteurs régissant la préservation de la variabilité génétique importants pour le succès d'une réintroduction. Premièrement, la population fondatrice doit être grande et diverse génétiquement, une méthode préférée de translocations répétées au fil du temps (Wolf et al., 1996, 1998; Miller et al. 1999). La population fondatrice à Yellowstone a été établie à l'aide de 31 individus de différentes meutes appartenant à deux populations sources au Canada. De plus, 10 individus génétiquement distincts ont été transférés d'une population du nord-ouest du Montana au début du processus de récupération, fournissant une nouvelle variabilité génétique. Le rôle joué par la taille de la population fondatrice dans la grande diversité au YNP est unique, avec un nombre de fondateurs suffisant peu communs (Wayne et al., 1991, Hedrick et al., 1997; et al. 2005). Nos résultats confirment la perspicacité de la décision pour sélectionner une population fondatrice large et diversifiée pour la réintroduction (Forbes et Boyd 1997). Par conséquent, les programmes de « récupération » doivent mettre l'accent sur les plans d'approvisionnement des membres fondateurs pour permettre la préservation de la diversité génétique.

Deuxièmement, il est clair que, compte tenu du choix possible, les loups évitent la reproduction avec des parents proches au sein de leur meute natale ou ailleurs. Nous n'avons trouvé sur les 30 accouplements naturels, aucun cas d'appariements entre les membres de la meute au niveau de la fratrie ou d'un parent-enfant ($r = 0,5$) et seulement deux paires étaient plus éloignées ($r > 0,25$). Des accouplements incestueux ont eu lieu malgré l'augmentation des possibilités d'accouplements entre individus non apparentés. Des études génétiques antérieures sur les populations de loups naturels, ont montré que lorsqu'on leur donne le choix, les couples sont constitués d'individus éloignés (Smith et al., 1997), empêchant ainsi la perte d'hétérozygotie par consanguinité (Wright 1922, 1931; Chesser 1991a). Cependant, notre étude est unique et montre que l'évitement de la consanguinité se produit à travers une grande variété de stratégies d'accouplement et contribue au maintien d'un haut niveau de variabilité.

Promouvoir la formation de plusieurs meutes par l'introduction de paires appariées non apparentées pourrait également aider à fournir aux générations futures des opportunités pour éviter la consanguinité. En outre, des efforts pour faciliter l'immigration d'autres populations augmenteront le bassin d'individus non apparentés pour occuper des positions de reproducteurs.

Troisièmement, les couples reproducteurs peuvent utiliser une grande variété de différents mécanismes lorsque les opportunités sont disponibles. Des études antérieures ont montré que la méthode primaire de formation d'un couple reproducteur chez les loups gris implique la réunion de loups seuls (Rothman & Mech 1979; Fritts & Mech 1981; Peterson et al. 1984; Hayes et al. 1991; Bergerud et Elliott 1998; Hayes & Harestad 2000). Nous trouvons que seulement 7% des couples confirmés se sont formés ainsi (Tableau 3). Les mécanismes qui décrivent comment les couples de loups au Yellowstone se forment comprennent :

- (i) l'utilisation d'une vacance dans une meute natale ou

voisine,

- (ii) devenir un reproducteur subordonné,
- (iii) se joindre à un groupe de loups dans leur meute natale ou différente,
- (iv) l'usurpation d'un reproducteur établi.

Toutes ces méthodes ont été précédemment documenté dans d'autres populations (Mech & Boitani 2003a), mais pas dans la mesure où nous les observons dans YNP. Cette diversité peut être un artefact de la réintroduction et l'expansion rapide de la population dans un écosystème riche en proies et dépourvu de loups. Indépendamment, nous montrons que cette diversité de mécanismes de formation de paires à Yellowstone contribue au maintien d'une hétérozygotie élevée. Par exemple, nous avons trouvé qu'une place vacante reproducteur était remplie principalement par des immigrants, ce qui entraîne les femelles reproductrices subordonnées à se reproduire avec un mâle sans lien avec le précédent. La généralité de ce résultat est supportée par une étude dans la forêt primaire de Bialowieza où les successeurs des mâles reproducteurs étaient généralement des mâles immigrants, contrairement aux femelles qui ont généralement obtenu une position de reproductrice dans leur meute natale (Jedrzejewski et al. 2005). Notre étude a confirmé la filiation et l'évitement de la consanguinité dans l'un des cas les plus extrêmes de multiples reproduction documentée pour une population de loups sauvages (figure 4), où l'immigration d'un mâle sans lien de parenté (21M) Druid Peak pack en 1997, l'a conduit à se reproduire avec plusieurs femelles dans la meute pendant plusieurs années (Stahler et al., 2002).

Cette diversité de mécanismes d'accouplement peut refléter les conditions liées à la concurrence entre les meutes ou aux contraintes écologiques liées à la dispersion (Brown 1974; Stacey 1979; Emlen 1982; Goldizen et al. 2002). Par exemple, devenir un éleveur subordonné ou hériter d'une position de reproduction dominante, en plus des avantages reçus à travers la chasse en groupe et ayant déjà un territoire, peut refléter les avantages de la philopatrie dans un environnement saturé. De plus, les conflits intraspécifiques ont été la cause principale des cas de mortalité naturelle des loups de Yellowstone (Smith 2005), et les individus seuls s'exposent à un risque beaucoup plus élevé au cours d'interactions intraspécifiques, que les individus d'un groupe (Projet Yellowstone Wolf, NPS, données non publiées). La division d'une meute (*pack splitting*) peut donc refléter une stratégie moins risquée en tant que groupe plus important est plus probable qu'un singleton pour établir un territoire dans un environnement saturé (Projet Yellowstone Wolf, NPS, données non publiées). Comme chez de nombreuses espèces, la variation du comportement d'accouplement est probablement facilité par des mécanismes de choix du partenaire asymétrique, dispersion et copulations dans le couple ou en dehors (Pusey et Wolf, 1996; Smith et al., 1997; Ross, 2001; Waller 2002; Packard 2003).

Une diversité de mécanismes d'accouplement et d'évitement de consanguinité sont facilités par la réintroduction dans de grandes zones où les populations introduites peuvent s'étendre et former de nouvelles meutes

facilement. En revanche, les populations qui sont plus contraintes géographiquement peuvent avoir moins d'opportunités pour éviter la consanguinité. En captivité, la consanguinité est commune, ce qui suggère que le désir de se reproduire est plus fort que l'évitement de la consanguinité (Laikre et Ryman 1991, Kalinowski et al., 1999; 2003). De même, la petite population de loups du parc national de l'Isle Royale, au Michigan, a une diversité génétique deux fois moins élevée que les loups « continentaux », et l'hétérozygotie a diminué à chaque génération (Wayne et al., 1991, Peterson et al., 1998). Les populations Finlandaise et Suédoise sont moins importantes et s'étendent sur des zones limitées et ont des niveaux inférieurs d'hétérozygotie (Ellegren 1999, Vilà et al. 2003, Bensch et al., 2006). La population Suédoise en particulier souffre de dépression consanguine (*inbreeding depression*) (Liberg et al., 2005, Bensch et al., 2006). Toutefois, les individus de cette population semblaient s'accoupler avec des loups ayant des niveaux plus élevés d'hétérozygotie en l'absence de partenaires non apparentés (Bensch et al., 2006). En comparaison, nous n'avons trouvé aucune preuve que les reproducteurs avaient des niveaux d'hétérozygotie plus élevés que les non-reproducteurs. Cette découverte peut être plus typique des populations comme celle de Yellowstone qui ont de faibles niveaux de consanguinité et des niveaux individuels d'hétérozygotie uniformément élevés. Ces niveaux élevés de diversité génétique suggèrent qu'une réintroduction peut mieux préserver la variation à court terme à travers une variété de mécanismes, en offrant des habitats de qualité importants et offrant la possibilité pour la population de se développer rapidement. Si de telles conditions ne sont pas possibles, la migration artificielle peut être la meilleure option pour préserver la variation. Par exemple, un seul immigrant semble avoir sauvé la population de loups Suédois des taux élevés de consanguinité et de perte d'hétérozygotie (Mills et Allendorf 1996; Ellegren 1999; Vila et al. 2003; Bensch et al. 2006).

L'avenir de la recherche est nécessaire pour déterminer comment des facteurs tels que la densité de loups, la densité de proies, la dispersion et l'influence de la territorialité, la formation de couples et des meutes, influencent la diversité génétique.

Dispersion et relations entre les meutes

La dispersion Inter-pack était courante pendant la période d'étude et a contribué au maintien des tendances génétiques observées de haute hétérozygotie et faibles coefficients de consanguinité (figure 7). Tous les immigrants vérifiés génétiquement étaient des mâles, et tous se sont reproduits. D'autres études ont enregistré la présence parmi les membres de la meute d'individus adoptés non-reproducteurs (Mech & Boitani 2003a), bien qu'un seul cas d'individu adopté fut confirmé génétiquement (Lehman et al., 1992). Nous n'avons constaté aucune femelle immigrante dans un groupe pré-établi; elles étaient impliquées dans des événements de fractionnement de meute avec l'établissement d'un territoire souvent à côté de leur pack natal. Par exemple, les femelles du groupe de *Druide Pic* se sont divisées pour former les packs adjacents d'Agate Creek et Geode Creek (figure 4). Cependant, des femelles célibataires ont également rejoint des groupes de mâles, comme on le voit dans la formation du pack du lac des cygnes et de Cougar Creek. En général, les liens de parenté étaient biaisés par la proximité avec les liens de parenté majoritaire existant entre les packs voisins. On peut penser, que de tels liens de parenté peuvent favoriser la stabilité sociale et la persistance des meutes (Wayne 1996). Cependant, de tels liens n'atténuent pas les conflits inter-pack à Yellowstone, car les deux sont communs entre les meutes qui partagent des frontières territoriales (Yellowstone Wolf Project, NPS, données non publiées), et les taux globaux d'interaction inter-pack sont aussi élevés à Yellowstone qu'ailleurs, même dans les zones où les valeurs de parenté inter-pack sont faibles (Lehman et al., 1992).