

Dispersion dans un paysage de plaine : différenciation génétique à courte distance chez les loups du sud-ouest du Manitoba, au Canada

Conserv Genet (2012) 13:359–371
DOI 10.1007/s10592-011-0290-1

RESEARCH ARTICLE

Dispersal in a plain landscape: short-distance genetic differentiation in southwestern Manitoba wolves, Canada

Astrid V. Stronen · Graham J. Forbes ·
Paul C. Paquet · Gloria Goulet · Tim Sallows ·
Marco Musiani

Résumé

Les effets de la fragmentation causée par l'homme nécessitent une étude plus approfondie dans les paysages où les barrières physiques de dispersion et les transitions écologiques naturelles peuvent être considérées comme des causes de la structure génétique des populations. Nous prédisons que la fragmentation peut réduire la dispersion à travers de tels paysages sans barrières, car la dispersion est également limitée par la perception du risque. Une fragmentation considérable a eu lieu dans la région du Parc national du Mont-Riding (PNMR) au Manitoba, au Canada, au cours des 60 dernières années. Nous examinons les données de 13 microsatellites autosomiques pour déterminer si la fragmentation est corrélée à la structure génétique de la population de loups (*Canis lupus*). Une différenciation modérée et significative entre le PNMR et un groupe génétique identifié à 30 km plus au nord ($F_{ST} = 0,053$, IC 95% [0,031-0,073]) correspond aux effets prévus de la fragmentation. Le groupe de population du PNMR représente au moins sept meutes de loups suivies hebdomadairement par radiopistage entre 2003 et 2006. Des haplotypes d'ADNmt distincts ont été identifiés dans le parc et aucune dispersion réussie de loups hors du PNMR n'a été documentée dans plusieurs études de suivi pluriannuelles depuis 1974. Les données de pistage indiquent également que certains loups pourraient être réticents à quitter le PNMR. Bien que l'influence du comportement et de l'adaptation locale nécessite une enquête, la fragmentation causée par l'homme semble avoir provoqué une structure génétique cryptique sur de fines échelles spatio-temporelles chez une espèce vagile, qui : (1) n'est pas influencée par des barrières physiques de déplacement ou des discontinuités écologiques historiques dans notre zone d'étude, et ; (2) est capable de vivre relativement près des humains. Les Grandes Plaines sont aujourd'hui un paysage intensément géré par l'homme. La détection de la structure génétique **cryptique** pourrait donc fonctionner comme un indicateur important dans la gestion de la conservation.

INTRODUCTION

On a constaté que les **barrières physiques** telles que les chaînes de montagnes limitent la dispersion et le flux génétique chez les plantes, les amphibiens et les mammifères (par exemple Taberlet et al. 1998), et réduisent la dispersion chez les espèces vagiles telles que le lynx du Canada (*Lynx canadensis*) (Rueness et al. 2003). De plus, les barrières d'origine humaine représentées par les

routes à fort trafic ont réduit le flux génétique chez les coyotes (*Canis latrans*) et les lynx roux (*Lynx rufus*) (Riley et al. 2006). Des résultats récents suggèrent également qu'une combinaison de caractéristiques paysagères à faible perméabilité peut influencer la structure génétique à petite échelle sans barrières de dispersion. Une telle structure cryptique de la population (voir Sacks et al. 2005) a été identifiée chez des espèces telles que le carcajou (*Gulo gulo*) (Cegelski et al. 2003 ; Guillot et al. 2005) et le chevreuil (*Capreolus capreolus*) (Coulon et al. 2006).

L'effet spatio-temporel de la **fragmentation** du paysage sur les mammifères vagiles en l'absence de barrières physiques de déplacement n'est pas bien compris. Cela est dû en partie au fait que la structure de la population peut être attribuée, chez les taxons vagiles, à des facteurs tels que la spécialisation du régime alimentaire, la dispersion dans l'habitat natal (préférence pour la dispersion dans un habitat familier) et le climat (Hoelzel et al. 1998 ; Carmichael et al. 2001 ; Ernest et al. 2003 ; Rueness et al. 2003 ; Sacks et al. 2004 ; Pilot et al. 2006). L'influence de la fragmentation causée par l'homme doit être étudiée plus avant dans les paysages où les barrières physiques de dispersion ne sont pas présentes et où les discontinuités écologiques naturelles (par exemple le climat, la distribution des proies, les transitions entre les montagnes et les plaines) peuvent être écartées comme causes de la structure génétique des populations. Cette influence potentielle devrait être examinée chez les organismes où l'on s'attend à ce qu'un flux génétique élevé limite l'évolution indépendante au sein des unités locales de la population, de sorte que les effets spatio-temporels à petite échelle puissent être déterminés et intégrés à la fois dans la planification théorique et dans la gestion appliquée de la conservation. Nous testons la prédiction selon laquelle la fragmentation crée une structure génétique de la population en raison de la réduction de la dispersion et de la dérive génétique subséquente, même sur de courtes distances et dans des paysages dépourvus de barrières physiques à la dispersion.

Les matrices paysagères, c'est-à-dire les zones entourant les réserves et modifiées par l'utilisation humaine, jouent un rôle essentiel dans la connectivité (Franklin 1993 ; Noss et al. 1996 ; Kramer-Schadt et al. 2004). Certaines formes d'activité humaine interrompent les déplacements de la faune sans déconnecter physiquement les habitats, et une combinaison de caractéristiques paysagères à faible perméabilité peut influencer la structure génétique à petite échelle en l'absence de barrières de dispersion (Coulon et al. 2006). Une fragmentation considérable du paysage s'est produite au cours des 60 dernières années dans la région entourant le parc national du Mont-Riding (PNMR) dans le sud-ouest du Manitoba, au Canada. **Le développement agricole a fait disparaître la couverture forestière jusqu'à la limite du PNMR** (McNamee 1993). Plusieurs espèces de mammifères ont disparu et le parc est considéré comme une « île » sauvage dans une région agricole (Carbyn 1980 ; Noss 1995). Nous examinons la structure génétique des populations de loups (*Canis lupus*), un canidé présent dans la région depuis au moins 5 000 ans (Goulet 1993). Les loups montrent une grande plasticité comportementale dans l'acquisition de nourriture (Weaver et al. 1996), et sont considérés comme étant principalement limités par la disponibilité de la nourriture (Haight et al. 1998). Ils ont des taux élevés de flux de gènes (Vilà et al. 1999) et des enregistrements de dispersion à longue distance (plusieurs centaines de km) existent dans le centre-nord des États-Unis, des paysages similaires à notre zone d'étude (Fritts 1983 ; Gese et Mech 1991 ; Wydeven et al. 1995). Les populations de loups ont également un faible nombre d'animaux reproducteurs (Mech et Boitani 2003) et la dérive génétique peut affecter les fréquences alléliques en quelques générations (Allendorf et Luikart 2007).

L'extirpation d'origine humaine a entraîné une réduction significative de l'aire de répartition des loups (Leonard et al. 2005) et leur persistance dans la matrice paysagère est sensible à la tolérance humaine (Carroll et al. 2006). Les loups dans les paysages Européens avec une longue histoire de développement humain montrent une structuration génétique sur des distances relativement courtes (<200 km) (Pilot et al. 2006). Nous examinons si la fragmentation du paysage au cours des 60 dernières années, sous la forme d'une conversion à une matrice agricole dominée par l'homme avec un réseau dense de routes (non clôturées), a réduit le flux génétique chez une espèce très mobile (le loup). Les effets des routes sur les déplacements des loups sont complexes et dépendent de facteurs tels que la gestion du prélèvement des loups, la mortalité des véhicules et la facilité de déplacement (voir par exemple Fuller et al. 2003 ; Whittington et al. 2005). Les paysages tels que notre zone d'étude ne sont cependant pas déconnectés du point de vue des loups, car ils restent faciles à parcourir et à négocier. Les loups qui vivent dans des zones protégées entourées d'une matrice peuvent néanmoins être de plus en plus isolés des populations de loups voisines. Des structurations génétiques reflétant la distribution divergente des loups gris et des loups de l'Est (proposés comme des espèces distinctes *C. lycaon* par Wilson et al. 2000) ou des loups des Grands Lacs (Kobl Müller et al. 2009 et les références qui y figurent) ont été rapportées (Wilson et al. 2009). La possibilité que des facteurs comportementaux et des adaptations locales de l'habitat influencent la distribution des différents types de loups nécessite donc une étude plus approfondie. Notre zone d'étude était néanmoins bien connectée il y a encore 60 ans. Si les adaptations locales de l'habitat favorisent actuellement un type de loup en particulier, il est peu probable qu'une telle situation se soit produite sans une fragmentation préalable du paysage causée par l'homme.

MATERIEL ET METHODES

Zone d'étude

La région est située à la transition entre l'écozone des prairies et celle des plaines boréales (Environnement Canada 1993) et comprend le parc provincial du mont Duck (1 424 km²), la forêt provinciale du mont Duck (3 760 km²) et la réserve de la biosphère du mont Riding (15 000 km²). La réserve de biosphère englobe la zone centrale protégée de 2 974 km² du PNMR et 15 zones rurales environnantes avec des gouvernements locaux. La zone comprend de nombreux lacs et étangs, des forêts de feuillus, boréales et mixtes, des prairies de fétuque scabre, ainsi que de vastes marais et zones humides (Manitoba Conservation 2004 ; Parcs Canada 2006). Les wapitis (*Cervus elaphus*), les orignaux (*Alces alces*), les castors (*Castor canadensis*) et les cerfs de Virginie (*Odocoileus virginianus*) sont abondants. Les autres mammifères importants sont le loup, l'ours noir (*Ursus americanus*), le coyote, le lynx, le renard roux (*Vulpes vulpes*) et le lièvre d'Amérique (*Lepus americanus*). Le climat régional est de type continental intérieur, avec des hivers froids et une épaisseur de neige modérée (Carbyn 1982). La saison de croissance est variable, mais elle est en moyenne de 72 jours (Parcs Canada 2004).

Le couvert forestier était presque continu entre le PNMR et les monts Duck jusque dans les années 1950, mais il n'en restait plus que 14% en 1991 et le développement intense du centre a effectivement coupé le PNMR des autres zones forestières (Walker 2001). L'agriculture est maintenant l'utilisation dominante des terres et occupe environ 58% de la superficie (35% de terres cultivées et 23% de pâturages), tandis que les terres publiques gérées (y compris les parcs) représentent 16% (Parcs Canada 2004). Le développement routier dans la région du PNMR est important, avec 30 000 km de routes à une densité de 0,7 km de route par km² (Parcs Canada 2004). La figure S1 du matériel supplémentaire montre une image satellite du PNMR et du paysage agricole

modifié par l'homme qui l'entoure. Les monts Duck sont considérés comme moins isolés que le PNMR, car des terres forestières provinciales sont situées à environ 10 km au nord-est et sont reliées à des zones relativement peu développées du centre du Manitoba. Les loups ont occupé la région du PNMR jusqu'à ce qu'une combinaison probable de chasse, de piégeage, de défrichage et d'empoisonnement entraîne une disparition locale vers 1900 (Carbyn 1980). Cependant, l'espèce a recolonisé la région dans les années 1930, probablement par dispersion à partir des zones forestières au nord du PNMR, lorsque la connectivité forestière entre les monts Duck et le PNMR était plus apparente (Fritts et Carbyn 1995). La population du parc a compté environ 70-75 individus à la fin de l'hiver au cours des cinq dernières années (données non publiées du PNMR). Les loups du PNMR ont été suivis dans le cadre de plusieurs études pluriannuelles depuis 1974 sans qu'aucune preuve de dispersion entre le parc et les zones environnantes ne soit apportée, malgré 13 000 km de suivi au sol et au total 20 ans de radiotélémétrie (Carbyn 1980 ; Paquet 1992 ; Stronen 2009). Des études sur l'ADN mitochondrial ont permis d'identifier des haplotypes distincts du PNMR qui n'ont pas été documentés en dehors du parc (Lehman et al. 1991 ; Geffen et al. 2004 ; Stronen et al. 2010). Le paysage agricole abrite un grand nombre de cerfs de Virginie et on trouve également des wapitis dans la région du PNMR. Il est donc peu probable que la disponibilité des proies limite les déplacements dans la zone entourant le parc.

RESULTATS

La zone d'étude pouvant être **panmictique**, nous avons testé l'équilibre de Hardy-Weinberg et l'équilibre gamétique, ainsi que l'autocorrélation spatiale des allèles, dans l'ensemble de l'échantillon. Les valeurs de l'hétérozygotie observée et attendue (H_o et H_e), de la diversité allélique et du F_{IS} sont présentées dans le Tableau 1, les valeurs significatives au niveau de 0,05 (après correction de Bonferroni) étant indiquées en gras. Vingt-quatre des 58 individus étaient des mâles et nous avons trouvé cinq allèles au locus MS41b du marqueur Y (211, 213, 217, 219 et 223). Globalement, 4/14 loci ont montré un déséquilibre de Hardy-Weinberg avec des niveaux d'hétérozygotie significativement plus bas que prévu. Aucune des 78 paires de loci ne présentait de déséquilibre gamétique après correction de Bonferroni pour les tests multiples. Les résultats de l'autocorrélation spatiale (Fig. 1) ont indiqué que la parenté était positivement corrélée jusqu'à 60 km, et que les valeurs suivantes variaient autour de zéro. Il y avait une augmentation pour 530-690 km, pour lesquels très peu d'échantillons étaient disponibles. **Les résultats ne suggèrent pas un isolement évident par la distance à une échelle géographique plus large.**

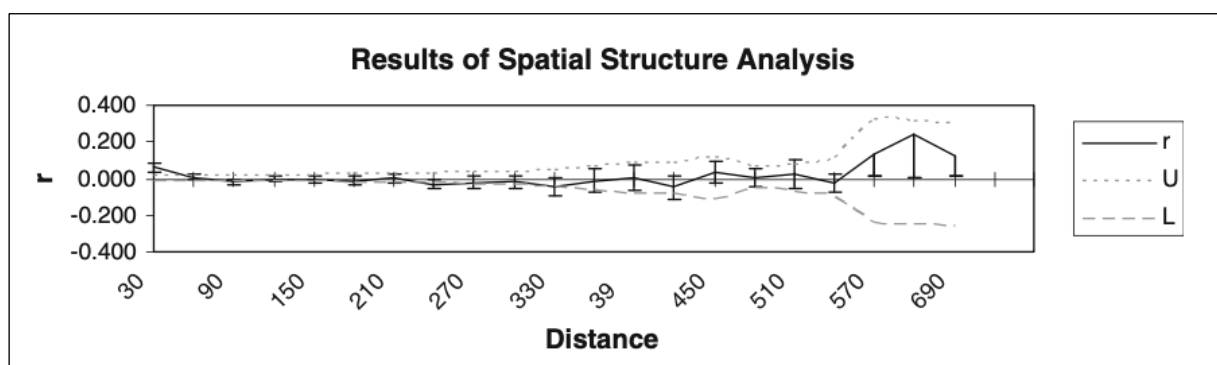


Fig. 1 Autocorrélation spatiale dans tous les échantillons de loups du sud-ouest du Manitoba, Canada. Ici, r est le coefficient d'autocorrélation (parenté), et la distance est exprimée en kilomètres. U et L sont les limites supérieures et inférieures, respectivement, de l'intervalle de confiance à 95% autour de l'hypothèse nulle d'absence de structure spatiale, tel que déterminé par 999 permutations, tandis que les barres d'erreur supérieures et inférieures montrent l'intervalle de confiance à 95% autour de r , tel que déterminé par 1 000 répliques bootstrap

Selon le test d'assignation, les individus ont été assignés à la population où ils ont été échantillonnés (Fig. 2a-c). Cependant, quelques individus semblent correspondre presque aussi bien à d'autres populations qu'à celle d'origine de l'échantillon, et représentent probablement des immigrants ou leurs descendants. Trois individus échantillonnés dans le RMNP avaient des valeurs d'assignation au RMNP qui n'étaient que légèrement supérieures à leurs valeurs pour les Duck Mountains (Fig. 2b). De même, deux individus du PNMR avaient des valeurs à peu près égales pour le PNMR et le groupe du centre du Manitoba (Fig. 2c). Les résultats de STRUCTURE ont montré que la valeur la plus élevée de $\ln P(D)$ a été observée à $K = 3$ (Fig. 3a), avec une valeur légèrement inférieure pour $K = 2$. Les résultats pour ΔK suggèrent néanmoins que le niveau le plus élevé de la structure de la population se situe à $K = 2$ (Fig. 3b). Ainsi, $K = 2$ clusters génétiques semble être le choix le plus parcimonieux (Pritchard et al. 2000 ; Evanno et al. 2005). Nous avons donc poursuivi les analyses en utilisant les clusters $K = 2$ identifiés par STRUCTURE. La Figure S2, matériel supplémentaire, montre les résultats des affectations pour $K = 3$.

Tableau 1 Diversité génétique dans 58 échantillons de loups du sud-ouest du Manitoba, Canada

Locus	# Alleles	H_o	H_e nb ^a	P value plus SE	F_{IS}	Allele size range
FH2001	9	0.655	0.765	0.195 (± 0.005)	0.144	127–152
FH2010	5	0.754	0.710	0.091 (± 0.002)	-0.063	220–236
FH2017	4	0.132	0.241	0.000 (± 0.000)	0.454	260–272
FH2054	10	0.862	0.839	0.812 (± 0.004)	-0.027	142–174
FH2088	5	0.638	0.652	0.523 (± 0.003)	0.021	108–124
FH2096	3	0.569	0.615	0.523 (± 0.002)	0.076	95–103
FH2422	13	0.737	0.766	0.040 (± 0.004)	0.034	174–242
FH3313	15	0.833	0.882	0.089 (± 0.006)	0.056	349–413
FH3725	15	0.750	0.853	0.013 (± 0.002)	0.121	132–194
PEZ06	13	0.702	0.861	0.000 (± 0.000)	0.187	164–198
PEZ08	12	0.750	0.759	0.964 (± 0.003)	0.011	213–247
PEZ15	17	0.589	0.830	0.000 (± 0.000)	0.292	204–284
PEZ19	8	0.509	0.710	0.001 (± 0.000)	0.285	186–214
Mean	9.85	0.652	0.729	0.000 (± 0.000)	0.081	

Significant values (following Bonferroni correction) in bold

^a H_e values calculated with correction for sample size bias (Nei 1978)

Nous avons calculé l'appartenance des individus aux deux clusters génétiques pour les individus avec $q_i > 0,8$ (Fig. 4) et déterminé leur distribution géographique (Fig. 5). À l'exception d'un individu échantillonné sur l'île Hecla à environ 400 km au nord-est de RMNP, tous les individus avec $q_i > 0,8$ avaient des intervalles de confiance à 90% pour q qui excluaient l'appartenance (c'est-à-dire excluaient 0%) à la population alternative. Sur les 58 individus examinés, 22 ont été assignés au cluster 1 (principalement constitué d'individus échantillonnés dans le PNMR), 27 au cluster 2 (principalement composé d'individus échantillonnés à l'extérieur du PNMR), et 9 présentaient une ascendance admixte ($q_i < 0,8$). Tous les individus affectés au cluster 1 présentaient $q_i > 0,9$. Parmi les 9 loups admixtes et l'individu de l'île Hecla, un loup avait été amplifié à 10 marqueurs, un à 11 marqueurs, quatre à 13 marqueurs et quatre à 14 marqueurs. Il n'y avait donc pas de relation claire entre le succès de l'amplification individuelle et les résultats suggérant une ascendance admixte.

Trois individus admixtes ont été collectés en dehors de RMNP. Deux loups échantillonnés dans les Duck Mountains présentaient des valeurs $q_2 = 0,54$ et $q_2 = 0,60$, et un loup échantillonné à environ 25 km au nord-est du RMNP présentait une valeur $q_2 = 0,53$. Sur les six loups admixtes échantillonnés dans RMNP, trois présentaient des valeurs q suggérant une proportion relativement élevée d'ascendance du cluster 1 ($q_1 = 0,70-0,77$). Les trois autres présentaient des valeurs q_1 de

0,61, 0,44 et 0,24. Cette dernière était une femelle capturée en janvier 2004 et suivie dans le parc jusqu'en février 2009. Cette femelle et deux loups munis d'un collier, affectés au cluster 1 ont été tués par des humains en dehors des limites du parc. Les mouvements d'au moins quatre autres loups munis d'un collier, deux affectés au groupe 1 et deux pour lesquels le profilage génétique n'a pas abouti, ont montré qu'ils se déplaçaient beaucoup à l'intérieur du parc mais changeaient plusieurs fois de direction lorsqu'ils rencontraient la limite du parc (Fig. 6).

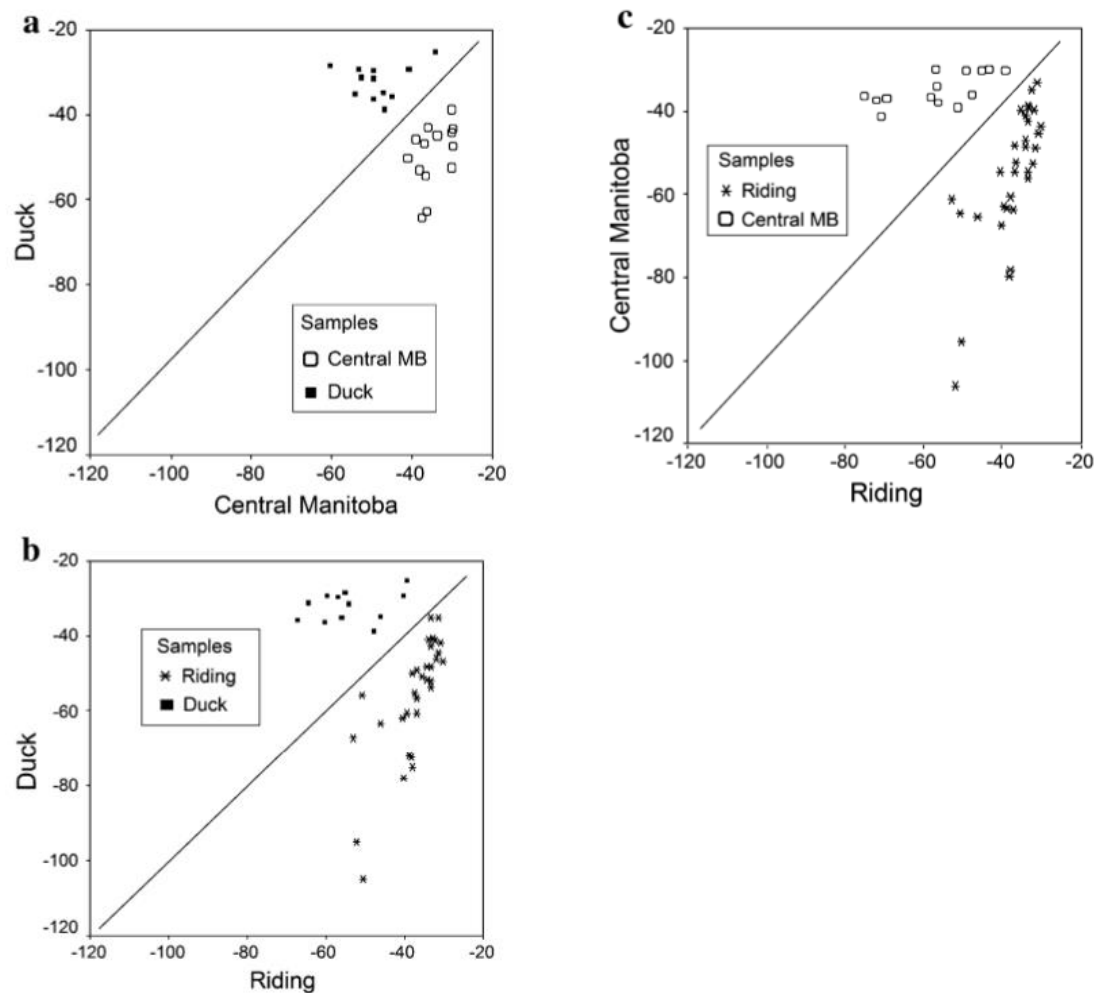


Fig. 2 a Valeurs de vraisemblance logarithmique pour les échantillons du mont Duck par rapport aux échantillons du Manitoba central en utilisant le test d'assignation (Paetkau et al. 1995 ; Waser et Strobeck 1998). Les carrés remplis sont les échantillons du mont Duck ; les carrés ouverts sont les échantillons du Manitoba central. b Valeurs de vraisemblance logarithmique pour les échantillons du mont Duck et du mont Riding en utilisant le test d'assignation (Paetkau et al. 1995 ; Waser et Strobeck 1998). Les carrés remplis sont les échantillons du mont Duck ; les étoiles sont les échantillons du mont Riding. c Valeurs de vraisemblance logarithmique pour les échantillons du Manitoba central par rapport à ceux du mont Riding en utilisant le test d'assignation (Paetkau et al. 1995 ; Waser et Strobeck 1998). Les carrés ouverts sont les échantillons du Manitoba central, les étoiles sont les échantillons du Mont-Riding.

Nous avons effectué des analyses génétiques standard pour les deux clusters génétiques identifiés par STRUCTURE (Tableau 2). Un locus du cluster 1 et deux loci du cluster 2 ont montré une hétérozygotie significativement plus faible que prévu. Cette réduction du déficit initial de Hardy-Weinberg à 4 des 14 loci soutient la présence d'un **effet Wahlund** (structure génétique sous-jacente) dans l'échantillon global. Étant donné qu'aucun groupe ne présentait de déséquilibre gamétique, nous avons conservé tous les loci pour des tests supplémentaires. Nous avons calculé les valeurs F_{ST} par paires pour la différenciation de la population en utilisant Theta (Weir and Cockerham 1984). La différenciation entre les deux clusters était modérée (Balloux et Lugon-

Moulin 2002) et significative ($F_{ST} = 0.053$ (95% CI [0.031-0.073]). Les résultats du test de BOTTLENECK avec un modèle de mutation en deux étapes représentant 5 à 30% de toutes les mutations étaient significatifs ($P = 0,034-0,047$) pour le cluster 1. Un graphique AFC montre des profils multilocus à deux dimensions d'individus identifiés selon les lieux d'échantillonnage géographiques (Fig. S3, matériel supplémentaire). Le premier axe représente la majeure partie de la variation, et les résultats de l'AFC concordent généralement avec les résultats de STRUCTURE (voir Fig. S3 pour plus de détails).

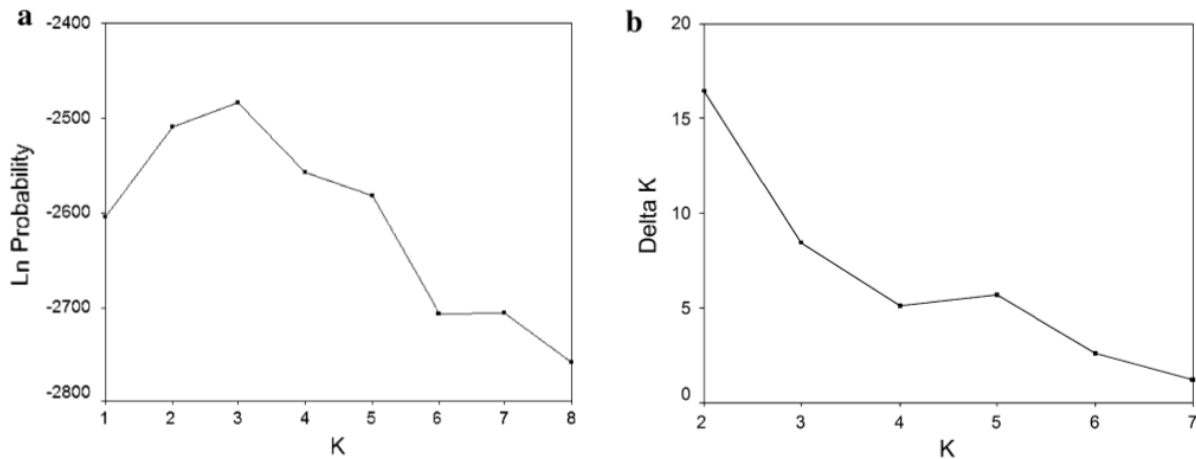


Fig. 3 a Analyses STRUCTURE du nombre de grappes de population (K) pour les loups du sud-ouest du Manitoba, Canada, montrant la probabilité Ln moyenne pour cinq séries de K = 1-8 grappes de population. **b** Analyses STRUCTURE du nombre de grappes de population (K) pour les loups du sud-ouest du Manitoba, Canada, montrant le taux de changement ΔK entre les valeurs de probabilité Ln pour K = 1-8. La valeur modale indique le niveau le plus élevé de structure pour l'ensemble de données (Evanno et al. 2005)

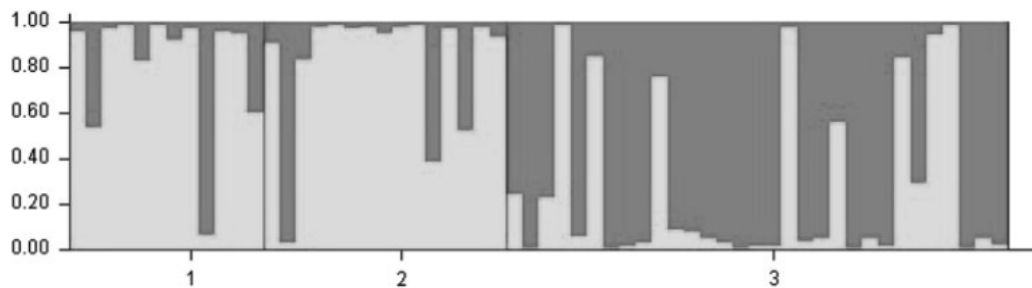


Fig. 4 Estimation de l'effectif de la population pour STRUCTURE avec K = 2 grappes de population de loups dans le sud-ouest du Manitoba, Canada. Le chiffre 1 indique les individus échantillonnés dans le parc provincial et la forêt du mont Duck, le chiffre 2 dans le centre du Manitoba (en dehors du mont Duck et du mont Riding) et le chiffre 3 dans le PNMR

DISCUSSION

Flux génétiques et structure génétique des populations déduits de l'ADN nucléaire

Une structure génétique subtile est visible et cohérente avec la fragmentation dans la zone d'étude. Les groupes génétiques sont séparés par un paysage matriciel dominé par un développement agricole intensif et un réseau dense de routes. Nos résultats semblent concorder avec ceux de Pilot et al. (2006) dans un paysage d'Europe de l'Est sans barrières physiques évidentes pour le déplacement des loups.

La diversité génétique était similaire à celle des loups des Montagnes Rocheuses Canadiennes examinée avec neuf des mêmes marqueurs, et la diversité allélique était relativement élevée (Thiessen 2007). La présence d'individus étroitement apparentés a probablement contribué aux

valeurs positives du F_{IS} et au déficit d'hétérozygotie au sein des clusters, bien que des allèles nuls, la consanguinité ou un effet Wahlund (structure supplémentaire non détectée) aient également pu affecter nos résultats (Roy et al. 1994 ; Lucchini et al. 2002 ; Pilot et al. 2006 ; Thiessen 2007). STRUCTURE suppose un équilibre de Hardy-Weinberg et un équilibre gamétique au sein de chaque cluster (Pritchard et al. 2000), ce qui peut être difficile à réaliser dans les populations de loups composées de groupes familiaux (Pilot et al. 2006 ; Thiessen 2007 ; vonHoldt et al. 2008).

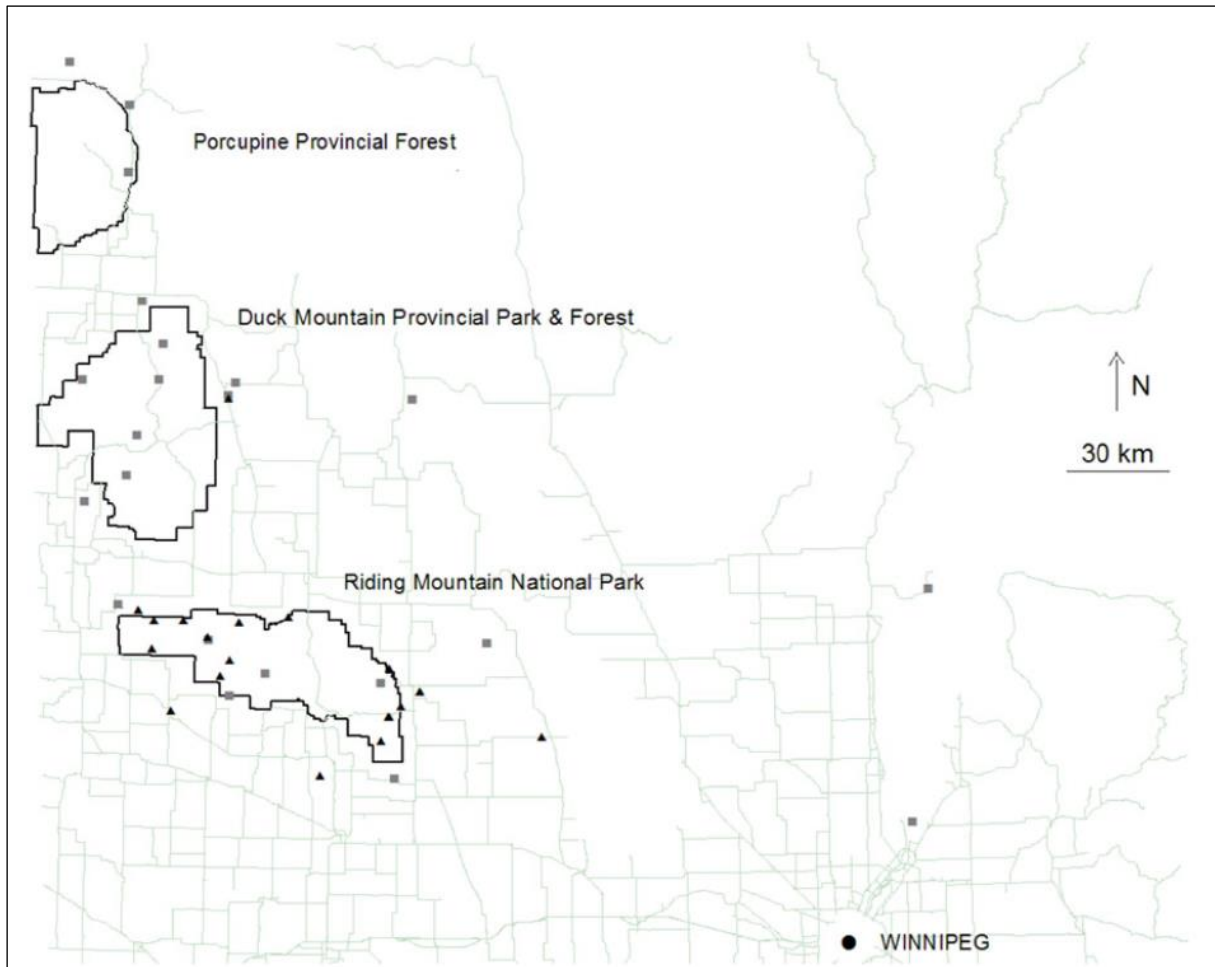


Fig. 5 Distribution géographique des individus pour $K = 2$ groupes de population de loups identifiés par STRUCTURE dans le sud-ouest du Manitoba, Canada. Le groupe 1 (triangles) comprend la plupart des individus échantillonnés dans le PNMR, tandis que le groupe 2 (carrés) comprend principalement des individus échantillonnés en dehors du PNMR. Un individu échantillonné à Sherridon (environ 600 km au nord du PNMR) et un individu échantillonné dans le parc provincial Turtle Mountain (environ 200 km au sud du PNMR), tous deux assignés au cluster 2, ont été exclus de la carte pour améliorer la résolution

Un **effet fondateur** ou un **goulot d'étranglement** a probablement affecté la population du PNMR (Carbyn 1980) et nos résultats suggèrent qu'un goulot d'étranglement a pu se produire. Cela aurait pu entraîner une structure importante dans des loci hautement variables (Hedrick 1999), en particulier si un flux génétique limité s'est produit par la suite. La dérive génétique pourrait également opérer dans l'espace et le temps pour les populations isolées et créer un effet Wahlund dans les deux dimensions (Flagstad et al. 2003). **Il peut être difficile de distinguer les contributions relatives des goulots d'étranglement et de la consanguinité à la perte d'hétérozygotie (Eppley et al. 2007), mais l'une ou l'autre de ces situations suggère un petit nombre de reproducteurs et un flux génétique limité, ce qui est cohérent avec nos résultats.**

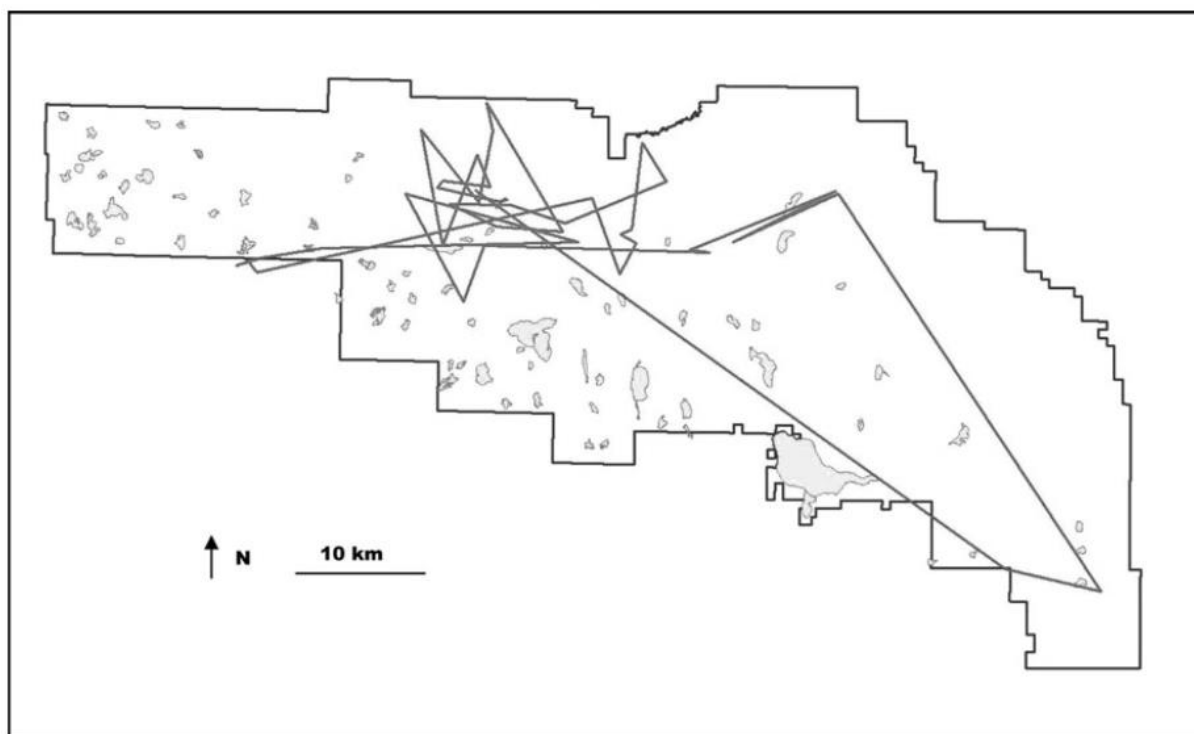


Fig. 6 Mouvements de la femelle RE254 munie d'un collier radio dans le RMNP de juillet 2004 à juillet 2005, date à laquelle le contact avec le collier a été perdu

Tableau 2 Hétérozygotie attendue et observée, diversité allélique et F_{IS} pour deux groupes génétiques de loups dans le sud-ouest du Manitoba, Canada

Locus	Cluster 1: Riding Mountain ($n = 22$, allelic div. 5.69)				Cluster 2: Duck Mountain–Central MB ($n = 27$, allelic div. = 9.15)			
	H_o	H_e nb	P value	F_{IS}	H_o	H_e nb	P value	F_{IS}
FH2054	0.864	0.776	0.467	-0.116	0.815	0.834	0.843	0.023
FH2001	0.773	0.785	0.975	0.017	0.630	0.674	0.431	0.068
FH2096	0.546	0.650	0.157	0.164	0.593	0.601	0.659	0.014
FH2010	0.727	0.690	0.860	-0.055	0.769	0.719	0.089	-0.072
FH2017	0.211	0.194	1.000	-0.091	0.120	0.340	0.001	0.652
PEZ08	0.706	0.724	0.676	0.025	0.826	0.785	0.907	-0.054
FH2088	0.636	0.669	0.315	0.050	0.593	0.585	0.491	-0.013
FH2422	0.762	0.713	0.465	-0.070	0.741	0.793	0.037	0.067
FH3313	0.762	0.854	0.409	0.110	0.880	0.902	0.340	0.025
PEZ06	0.667	0.806	0.002	0.177	0.815	0.850	0.084	0.042
PEZ19	0.546	0.705	0.309	0.231	0.482	0.728	0.002	0.343
PEZ15	0.476	0.675	0.060	0.300	0.692	0.875	0.008	0.212
FH3725	0.667	0.697	0.183	0.044	0.769	0.876	0.371	0.124
Total	0.642	0.688	0.092	0.068	0.671	0.736	0.000	0.089

Les individus sont groupés selon les résultats de STRUCTURE avec $K = 2$. Les valeurs d'hétérozygotie sont calculées avec une correction pour le biais de la taille de l'échantillon (Nei 1978). Les valeurs significatives (après correction de Bonferroni) sont en gras

L'autocorrélation spatiale entre les loci suggère que la parenté est initialement associée positivement à la distance. Cela peut être attendu dans les populations composées de groupes familiaux territoriaux. Aspi et al. (2006) ont trouvé que la parenté était positivement corrélée avec des distances allant jusqu'à 163 km dans une population continue de loups Finlandais, suivie d'un isolement significatif par distance à une échelle spatiale limitée. Dans l'ensemble, les résultats d'autocorrélation spatiale de notre zone d'étude ne suggèrent pas un isolement significatif par la distance.

La plupart des loups échantillonnés dans le RMNP étaient fortement affectés au cluster 1. Le comportement de plusieurs loups potentiellement dispersés (identifiés par des mouvements exploratoires en dehors de leur domaine vital habituel) suggère qu'ils sont réticents à franchir les limites du parc. Des changements dans le comportement de déplacement peuvent se produire aux limites des parcs (Paquet et al. 2010), et la possibilité que des espèces à longue durée de vie, sociales et vagiles apprennent à associer l'activité humaine et les routes à un danger (Whittington et al. 2005) nécessite une étude plus approfondie dans les paysages dépourvus de barrières physiques au déplacement.

Quatre loups échantillonnés dans le RMNP ont été affectés au groupe 2. Deux échantillons, prélevés dans les parties orientale et centrale du parc, provenaient d'animaux morts trouvés en mauvais état physique. Leur histoire est inconnue, mais tous deux étaient relativement jeunes (âgés de 1 à 3 ans), ce qui réduit la probabilité d'une dispersion efficace (reproduction dans un nouvel endroit). L'individu le plus à l'ouest était un loup muni d'un collier et suivi par radio pendant plusieurs mois dans le RMNP. Il a été exclu de la parcelle FCA en raison de son génotype très divergent. Cet individu semble avoir été un immigrant (les loups ont été munis de colliers à l'âge subadulte ou adulte) ou la progéniture d'immigrants, bien qu'un autre loup muni d'un collier dans la même meute (échantillon chevauchant dans la figure 5) ait été assigné au groupe 1. Le quatrième immigrant présumé du PNMR était un mâle en bonne condition physique trouvé mort à la limite sud du parc. La nécropsie a révélé qu'il avait été tué par d'autres loups (T. Bollinger, comm. pers.). Le génotype divergent indiqué par les résultats de la FCA est cohérent avec le fait que ce loup était un immigrant provenant de l'extérieur de la zone d'étude primaire. Il présentait l'haplotype d'ADNmt C23, qui est commun dans le PNMR et dans toute l'Amérique du Nord (Stronen et al. 2010).

La découverte d'individus mélangés à l'intérieur et à l'extérieur du parc suggère qu'une certaine dispersion et un flux génétique ont lieu dans la région. Nos données d'observation suggèrent que la femelle mélangée suivie en 2004-2009 s'est peut-être reproduite. Bien qu'il ne soit pas certain qu'elle se soit dispersée dans le PNMR avant sa capture, ou qu'elle soit née dans le PNMR d'un ou deux parents immigrants, son cas suggère qu'une dispersion efficace dans le PNMR a eu lieu récemment. Il est néanmoins important de noter qu'une dispersion réussie ne garantit pas la reproduction (Greenwood 1980 ; Riley et al. 2006). Plusieurs disperseurs putatifs (Fig. 5) ont été trouvés près de la limite du RMNP, qui est considéré comme un habitat marginal du loup avec un risque élevé de mortalité d'origine humaine (Carbyn 1980, RMNP données non publiées). Ces disperseurs présumés ont pu être incapables d'établir des territoires et de se reproduire, et ont donc pu faire la queue pour trouver un espace dans le parc. Des mécanismes comportementaux tels que le regroupement des membres de la famille et le recrutement local qui s'ensuit, observés chez les oiseaux territoriaux (Watson et al. 1994 ; Temple et al. 2006) et les mammifères (Lambin et Yoccoz 1998), pourraient également rendre l'établissement des immigrants de plus en plus difficile. La territorialité et une structure sociale avec peu d'animaux reproducteurs, combinées à une mortalité élevée causée par l'homme dans la zone entourant le PNMR, pourraient donc constituer des obstacles supplémentaires au flux génétique dans les réserves isolées.

Conséquences écologiques et évolutives attendues de la fragmentation du paysage

Les deux clusters génétiques que nous avons identifiés comprenaient 22 et 27 individus, et de telles tailles de groupe peuvent correspondre à l'observation de groupes familiaux de loups plus importants (Fuller et al. 2003). Sur la base de nos sites d'échantillonnage et des résultats du

radiopistage hebdomadaire, nous sommes néanmoins convaincus que le cluster RMNP ne reflète pas un grand groupe familial de loups mais une structuration spatiale cohérente avec une petite population de loups RMNP de plus en plus isolée. L'interprétation biologique des valeurs de F_{ST} est difficile et les valeurs comprises entre 0,05 et 0,15 sont généralement considérées comme modérées (Balloux et Lugon-Moulin 2002). La divergence entre les deux clusters génétiques dans notre zone d'étude est néanmoins notable par rapport aux loups des Montagnes Rocheuses Canadiennes étudiés avec neuf des mêmes marqueurs (Thiessen 2007). Thiessen a trouvé des valeurs de divergence similaires ($F_{ST} = 0,0306-0,0552$) entre quatre populations ($n = 92-129$) séparées par des distances géographiques plus importantes (>100 km). Des études antérieures ont également montré une structure génétique modérée à courte distance chez des espèces mobiles comme le carcajou, le lynx et le coyote (Cegelski et al. 2003 ; Rueness et al. 2003 ; Sacks et al. 2004 ; Guillot et al. 2005) dans des zones sans barrières évidentes. Cependant, des discontinuités écologiques historiques potentiellement combinées à la nature timide de certaines espèces et à la faible tolérance subséquente de l'homme ne peuvent être exclues.

Nos résultats concordent avec la découverte d'haplotypes d'ADNmt distincts dans la population du PNMR, qui n'ont pas été signalés en dehors du parc (Lehman et al. 1991 ; Geffen et al. 2004 ; Stronen et al. 2010). Des haplotypes d'ADNmt de loups gris et de loups orientaux ont été identifiés dans les Duck Mountains, alors que les loups orientaux semblent rares ou absents du RMNP d'après les échantillons identifiés à ce jour (Wilson et al. 2000 ; Stronen et al. 2010). Une étude de l'ADNmt incluant la région de RMNP qui a examiné 20 échantillons récents provenant de RMNP, a trouvé 19 individus avec des haplotypes de loups gris et un qui se regroupait avec les haplotypes du Nouveau Monde identifiés chez les coyotes et les loups de l'Est (Stronen et al. 2010, numéros d'accèsion GenBank HM014451- HM014467).

Il est possible que la présence de différents types de loups contribue à la différenciation génétique entre les animaux trouvés dans le RMNP et ceux présents dans les Duck Mountains et le centre du Manitoba. Nous pensons néanmoins qu'une telle situation constituerait une raison proche de la structuration de la population dans notre zone d'étude. Les espèces de proies communément utilisées par les loups de l'Est dans le parc provincial Algonquin en Ontario, comme l'orignal, le cerf et le castor (Forbes et Theberge 1996 ; Loveless 2010), sont abondantes dans le PNMR. La masse corporelle des loups du PNMR échantillonnés de 1999 à 2004 était d'environ 36 kg pour les femelles ($n = 12$) et 39 kg pour les mâles ($n = 8$) (Stronen et al. 2010). Par conséquent, il est peu probable que les loups du PNMR excluent physiquement les loups de l'Est qui immigrent. De nouveaux résultats indiquent également que les individus présentant un mélange de matériel génétique de loup de l'Est/Grands Lacs et de loup gris sont courants dans la région des Grands Lacs (Fain et al. 2010 ; Wheeldon et al. 2010 ; vonHoldt et al. 2011). Il est important de noter que nous ne pouvons pas exclure la possibilité que des différences adaptatives locales, y compris les relations prédateur-proie, puissent affecter la structure génétique des loups. Des résultats récents suggèrent également que les discontinuités d'habitat et le comportement de recherche de nourriture provoquent une différenciation génétique au sein des loups gris de la Colombie-Britannique, au Canada (Munoz-Fuentes et al. 2009). Compte tenu de la similitude de l'habitat et des espèces de proies présentes dans le PNMR et les régions avoisinantes, nous pourrions néanmoins nous attendre à ce que les individus gris-Est mélangés soient communs dans le PNMR si la dispersion dans le parc était fréquente. La question demeure donc de savoir pourquoi les loups de l'est et les loup gris-Est mélangés ne semblent pas se disperser (efficacement) dans le PNMR.

Nos résultats indiquent que la fragmentation par l'homme d'un paysage sans barrières physiques au mouvement peut réduire le flux génétique et provoquer une structure génétique cryptique de la population chez des organismes très mobiles à des échelles spatio-temporelles fines. Nous avons trouvé une structure génétique significative chez une espèce vagile, qui : (1) n'est pas influencée par des barrières ou des discontinuités écologiques historiques dans notre zone d'étude et ; (2) est capable de vivre relativement près des humains si elle fait preuve de tolérance (Fuller et al. 2003). Des facteurs écologiques ou comportementaux (y compris la distribution des proies et la dispersion en fonction de l'habitat natal) pourraient maintenant influencer le flux génétique. Cependant, il est peu probable que de telles influences potentielles se soient établies sans une fragmentation préalable. Nous pensons que nos résultats sont significatifs car ils suggèrent que la fragmentation causée par l'homme peut avoir des conséquences plus profondes sur le flux génétique qu'on ne le pensait auparavant. Cette influence peut agir relativement rapidement, ce qui semble cohérent avec les réponses rapides aux changements de paysage induits par l'homme rapportées ces dernières années (Ashley et al. 2003). Une surveillance à long terme est nécessaire pour établir si la différenciation entre les groupes de population peut s'accroître.

La tolérance humaine à l'égard des loups est souvent limitée. De nombreux résidents locaux pensent qu'il y a « trop de loups » (Stronen et al. 2007), alors que la dispersion effective dans la matrice paysagère reste faible. Nos recherches dans la région du RMNP démontrent que les deux situations peuvent se produire simultanément, ce qui a des implications importantes pour la conservation à long terme des carnivores. Les Grandes Plaines sont maintenant un paysage intensément géré par l'homme (Guertin et al. 1997) et des résultats similaires peuvent être trouvés pour d'autres espèces vagiles. La planification de la conservation des espèces à large répartition et à faible densité dans des paysages ininterrompus modifiés par le développement humain devrait donc prendre en compte des prévisions plus conservatrices du flux génétique vers des sites isolés.