

# La couleur noire du pelage des loups d'Iran est-elle la preuve d'un métissage ancestral avec des chiens ?

J Appl Genetics  
DOI 10.1007/s13353-014-0237-6

ANIMAL GENETICS • ORIGINAL PAPER

## Is black coat color in wolves of Iran an evidence of admixed ancestry with dogs?

Rasoul Khosravi • Marzieh Asadi Aghbolaghi •  
Hamid Reza Rezaei • Elham Nourani •  
Mohammad Kaboli

R. Khosravi  
Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural  
Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

H. R. Rezaei  
Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural  
Resources, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources,  
Gorgan, Iran

M. Asadi Aghbolaghi • E. Nourani • M. Kaboli (✉)  
Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural  
Resources, University of Tehran, Karaj, Iran  
e-mail: mkaboli@ut.ac.ir

### Résumé

Le mélanisme n'est pas considéré comme une caractéristique typique des loups d'Iran et on pense que les loups foncés sont issus de croisements avec des chiens. De tels individus **hybrides** peuvent être identifiés par l'utilisation combinée de marqueurs génétiques et morphologiques. Nous avons analysé deux loups noirs en utilisant un fragment de 544 paires de bases (pb) de la région de contrôle de l'ADNmt et 15 loci microsatellites en comparaison avec 28 chiens, 28 loups et quatre hybrides connus. La méthode des réseaux neuronaux artificiels (ANNs) a été appliquée aux données microsatellites pour séparer les échantillons génétiquement différenciés de loups, de chiens et d'hybrides, et pour déterminer la classe correcte des spécimens noirs. **Les affectations individuelles basées sur les ANNs ont montré que les échantillons noirs étaient génétiquement plus proches des loups.** De même, dans le réseau de voisinage des haplotypes d'ADNmt, les loups et les chiens étaient séparés, les spécimens noirs étant situés dans la branche des loups comme deux haplotypes distincts. En outre, nous avons comparé 20 caractères craniométriques des deux individus noirs avec 14 autres loups. Les résultats ont montré que les mesures craniométriques des deux loups noirs se situent dans la gamme des crânes de loups. **Nous n'avons trouvé aucune trace d'hybridation récente avec des chiens en liberté chez les deux loups noirs.** La couleur sombre du pelage pourrait être le résultat d'une combinaison naturelle d'allèles dans le gène déterminant la couleur du pelage, d'une mutation dans le locus K due à une hybridation passée avec des chiens en liberté, ou de l'effet de facteurs écologiques et de l'adaptation aux conditions d'habitat.

### INTRODUCTION

L'une des variations les plus documentées chez les loups qui occupent différents types d'habitat est le motif de couleur. Mech (1970) a décrit la couleur du pelage des loups allant du blanc, chamois, fauve, rougeâtre et gris au noir, le gris étant le pelage le plus courant (Apollonio et al. 2004). Anderson et al. (2009) ont montré que la couleur foncée chez les loups d'Amérique du Nord vivant dans des habitats forestiers est le résultat d'une sélection apparente pour l'allèle mélaniste  $K^B$  due à

une hybridation passée avec le chien domestique. De plus, de nombreux auteurs ont suggéré que des traits morphologiques anormaux chez les loups, tels que des motifs de couleur atypiques, des ergots, des proportions corporelles ou des anomalies dentaires, pourraient être des signes fiables d'hybridation avec des chiens en liberté (Boitani 1992 ; Ciucci et al. 2003). En étudiant trois échantillons hybrides, Milenković et al. (2006) ont identifié certaines malformations atypiques, telles que des dents permanentes P1 incomplètement développées, du tissu osseux spongieux dans le foramen infraorbitale, des lignes semi-circulaires de la partie postérieure du front chez les loups adultes, et une apparence atypique des crânes sutura frontalis, qui étaient inhabituelles pour les loups typiques. Anderson et al. (2002) ont trouvé une couleur de pelage noire dans une portée de sept louveteaux bâtards du nord de la Lettonie, dont les génotypes individuels ont montré que la plupart des allèles étaient communs avec les chiens. Randi et Lucchini (2002) ont analysé deux loups au pelage noir et ont découvert que l'un d'eux avait une ascendance métisse dans le pool génétique des chiens. D'autre part, Apollonio et al. (2004) ont montré que l'apparition de la couleur noire du pelage chez les loups n'est pas nécessairement le résultat d'un croisement avec des chiens en liberté et peut être due à la combinaison naturelle d'allèles de loups dans le gène qui détermine la couleur du pelage. Les résultats de ces études ont montré que la couleur du pelage chez les loups est un mécanisme complexe affecté à la fois par des facteurs écologiques et génétiques. **Diverses études ont montré que les caractéristiques écologiques sont plus importantes que les différences géographiques pour déterminer les variations génétiques et morphométriques des populations de loups** (Geffen et al. 2004 ; Carmichael et al. 2007 ; Musiani et al. 2007 ; Bennett 2010).

Les loups et les chiens en liberté sont isocaryotypiques, totalement interfertiles, et il a été démontré qu'ils s'accouplent aussi bien dans la nature qu'en captivité (Wayne et al. 1995 ; Vila et Wayne 1999). Par conséquent, il est important de pouvoir détecter les individus hybrides dans une perspective de gestion (Vila et al. 2003). Les régions polymorphes de l'ADN mitochondrial (ADNmt) ont été appliquées avec succès pour examiner les relations génétiques entre les populations au sein des espèces étroitement apparentées et entre elles (Tsuda et al. 1997). Comme les marqueurs de l'ADNmt ont montré un faible taux d'hybridation loup-chien, l'utilisation de l'ADNmt seul ne peut fournir aucune information sur **l'introgession** d'hybrides issus de croisements entre une chienne et un loup mâle dans les populations de loups. Des études récentes impliquant des marqueurs nucléaires ont montré que l'hybridation se produit occasionnellement dans la nature (Anderson et al. 2002 ; Randi et Lucchini 2002). Par conséquent, l'utilisation combinée de marqueurs biparentaux et autosomiques peut être plus utile pour détecter les individus hybrides dans les populations de loups.

Le loup gris (*Canis lupus pallipes*) est l'un des carnivores les plus importants en Iran. Cette espèce a évolué pour survivre dans une variété d'habitats, des déserts arides aux habitats montagneux et aux zones boisées (Ziaie 2008). La diversité des habitats, comme les chaînes de montagnes d'Alborz et de Zagros au nord et à l'ouest, les déserts centraux, la mer Caspienne et les côtes du golfe Persique, entraîne une grande variation des traits morphologiques chez les loups (Khosravi et al. 2013). Le phénotype noir n'est pas considéré comme une caractéristique typique et n'a jamais été observé par le passé. Néanmoins, récemment, dans l'ouest de l'Iran, notamment dans les provinces de Hamadan et Zanjan, quelques individus noirs ont été observés. La présence d'un loup noir pourrait être un signe possible de croisement avec des chiens domestiques ou une combinaison naturelle d'allèles de loup (Apollonio et al. 2004).

Cette étude présente une application des marqueurs ADNmt, microsatellites et morphologiques pour décrire génétiquement et morphologiquement la présence de loups noirs dans l'ouest de l'Iran. La composition génétique de deux spécimens noirs à 15 marqueurs microsatellites a été comparée à celle attendue chez les spécimens purs et chez les hybrides. La méthode des réseaux neuronaux artificiels (ANNs) a été appliquée aux données microsatellites pour la classification et l'affectation. Les ANNs sont des approximations universelles de fonctions et ont été utilisés avec succès dans divers domaines (Ermis et al. 2007 ; Zangeneh et al. 2010 ; Azadeh et al. 2008), mais moins en écologie et en génétique des populations (Cornuet et al. 1996 ; Aurelle et al. 1999). On s'attend à ce qu'un ANN soit capable de classer des individus dans des populations appartenant à la même sous-espèce qui sont relativement similaires génétiquement.

## MATERIEL ET METHODES

### Collecte de tissus

Un total de 30 échantillons de tissus a été collecté sur des loups tués sur la route et chassés illégalement. Deux des spécimens étaient complètement sombres. L'un (W13) était une femelle adulte abattue en juillet 2010 dans la région de Bahar, province de Hamadan, dans l'ouest de l'Iran (34° 46' N ; 48° 35' E). Un autre (W16) était un mâle subadulte, abattu en septembre 2010 à Ghidar, dans la province de Zanjan (36° 40' N, 48° 30' E). Des échantillons de tissus de chiens de village et de chiens de race (28) ont été obtenus auprès de propriétaires privés, d'animaux tués sur la route et d'individus sauvages. Plus encore, des échantillons ont été obtenus pour quatre hybrides loup-chien (H38, H39, H40, H41) auprès de populations locales de l'ouest de l'Iran. Enfin, 16 crânes de loups (deux loups noirs, neuf adultes et cinq sub-adultes), provenant de musées naturels et de propriétaires privés, ont été examinés.

### Analyses génétiques

#### *Extraction d'ADN*

L'ADN total a été extrait des tissus à l'aide du kit d'extraction d'ADN génomique AccuPrep® (Bioneer, Corée du Sud).

#### *Microsatellite...*

#### *Séquençage de l'ADNmt...*

#### *Analyses des données microsatellites...*

Les écarts par rapport à l'**équilibre de Hardy-Weinberg** (HWE) pour chaque locus par échantillon et l'**équilibre de liaison** (LE) entre les paires de loci en utilisant la méthode de la **chaîne de Markov** (Guo et Thompson 1992) ont été calculés séparément pour les loups et les chiens en utilisant GENEPOP 4.1 (Raymond et Rousset 1995). Les erreurs de notation, les abandons d'allèles importants et les allèles nuls ont été vérifiés à l'aide du programme Micro-Checker version 2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004). Les niveaux de significativité ont été ajustés en utilisant la méthode séquentielle de Bonferroni pour appliquer des tests multiples sur le même ensemble de données (Rice 1989).

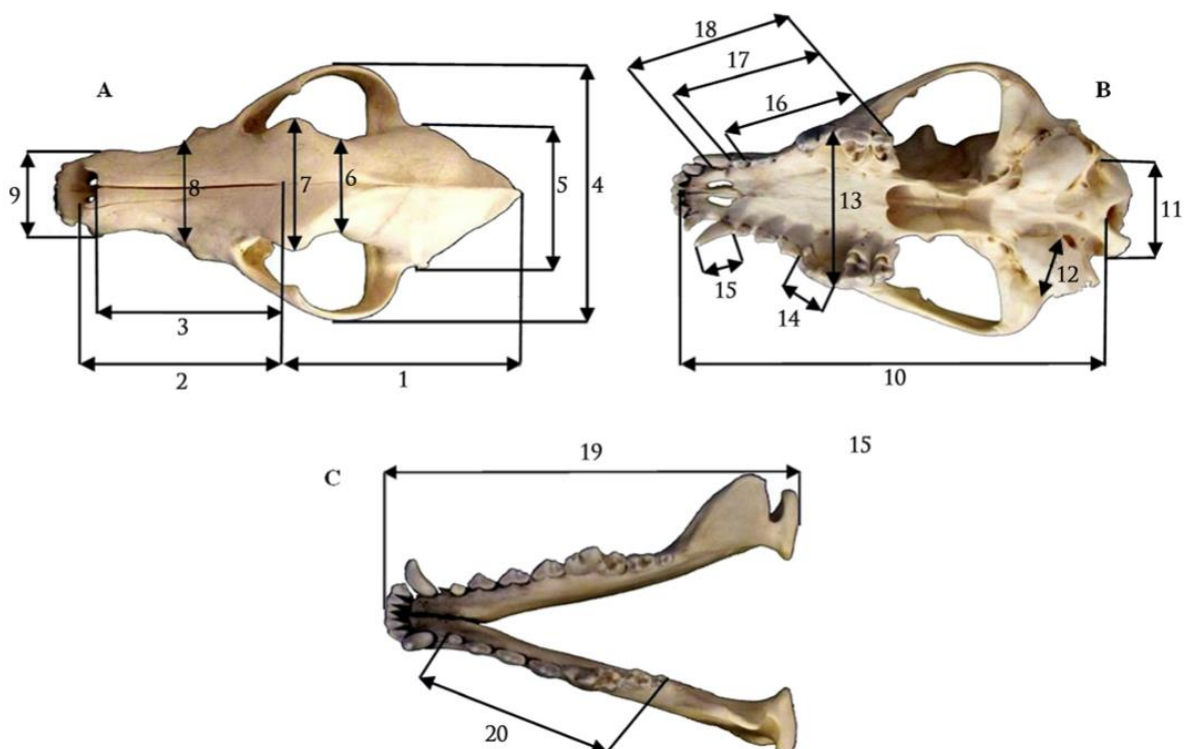
La classification des individus de différentes populations est un pré-requis pour l'étude des interactions génétiques (Aurelle et al. 1999). La structure génétique et la classification des échantillons de loups et de chiens ont été étudiées à l'aide d'ANNs. Khosravi et al. (2013) ont

montré que, bien qu'il existe de nombreux allèles partagés entre les populations de loups et de chiens, les marqueurs microsatellites sont suffisamment variables pour séparer les deux espèces.

Un ANN est constitué d'unités de production simples, identiques et interconnectées, appelées **neurones**. Chaque neurone est connecté aux neurones voisins par des synapses. Chaque synapse peut avoir un niveau de poids différent de la connexion (Heidari et al. 2011). Chaque neurone intègre les signaux reçus des neurones précédents et envoie un nouveau signal aux neurones suivants. Ce réseau de neurones et de synapses stocke les connaissances de manière « distribuée » : l'information est codée sous forme d'impulsion électrique dans les neurones et est stockée en modifiant le poids (c'est-à-dire la conductivité) des connexions. Un réseau multicouche feedforward classique (MLFN) se compose de trois couches : une couche d'entrée, une ou plusieurs couches cachées et une couche de sortie.

#### *Analyses morphométriques...*

Sur la base de del Zorro Rojo (2005), Milenković et al. (2006), Milenkovic et al. (2010) et Khosravi et al. (2012), 18 caractères crâniens et deux mandibules de deux crânes de loups gris ont été mesurés (Figure 1). Les mesures craniométriques ont été prises avec un pied à coulisse numérique avec une précision de 0,01 mm. Les caractères crâniens des loups noirs ont été comparés à 14 autres crânes d'adultes et de subadultes.



**Fig. 1.** Les dimensions du crâne et de la mandibule du loup utilisées dans cette étude : 1, longueur crânienne ; 2, plus grande longueur des nasaux ; 3, plus petite longueur des nasaux ; 4, largeur maximale des zygomatics ; 5, largeur crânienne ; 6, rétrécissement postorbitaire ; 7, largeur frontale ; 8, distance entre les trous de l'orbite inférieure ; 9, largeur du rostre ; 10, longueur basale ; 11, largeur maximale des condyles occipitaux ; 12, plus petit diamètre de la bulle auditive ; 13, la plus grande largeur du palatin ; 14, la longueur du carnail condyles occipitaux ; 15, la hauteur de la canine supérieure ; 16, la longueur de P2 à M2 ; 17, la longueur de la rangée de dents de la joue ; 18, la longueur de la rangée de dents supérieures ; 19, la longueur de la mandibule ; 20, la longueur de P1 à M3

## RESULTATS

### Analyse génétique

#### *Microsatellite*

Certains des loci microsatellites ont montré une déviation par rapport à l'**équilibre de Hardy-Weinberg** (HWE). L'**Équilibre de Liaison** (LE) entre les paires de loci après correction séquentielle de Bonferroni a montré que toutes les comparaisons étaient à l'LE dans les deux groupes d'échantillons (sauf une comparaison chez les chiens et deux chez les loups). L'examen des erreurs de génotypage à l'aide de Micro-Checker n'a révélé aucun signe d'abandon d'allèle important ou de marquage de bande de bégaiement à aucun des 15 loci. Un total de 187 allèles ont été marqués chez les chiens, les loups et les spécimens hybrides connus. Tous les microsatellites étaient polymorphes, montrant cinq (locus CPH22 chez les chiens) et 17 (CPH8 chez les loups) allèles par locus, avec une moyenne globale de neuf allèles par locus. Le nombre d'allèles privés variait entre les deux populations (34 chez les loups et 14 chez les chiens).

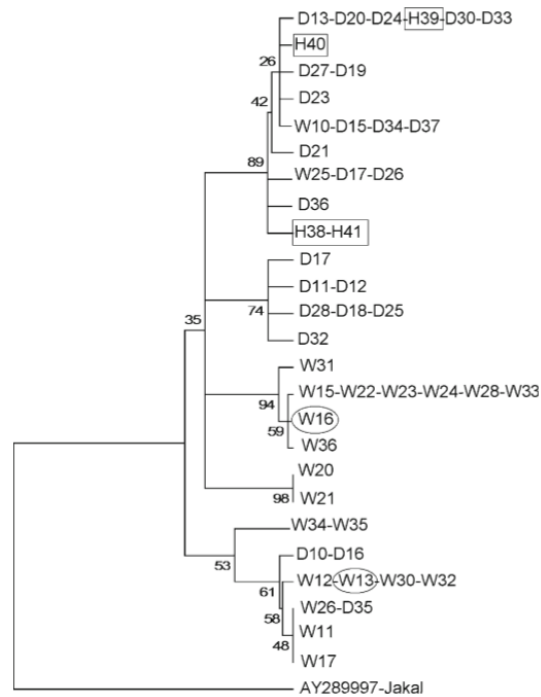
Différents MLFN comprenant différents neurones de couche cachée et différentes configurations ont été entraînés afin de trouver la meilleure prédiction de modèle pour classer les échantillons de loups, de chiens et d'hybrides. Un total de 15 configurations avec différents nombres de couches cachées (une ou deux), différents nombres de neurones pour chacune des couches cachées (2-15 pour une couche cachée et 2-12 pour deux couches cachées), et différents mécanismes de connexion inter-unités ont été conçus et testés. Par conséquent, des ANNs avec 187 entrées et trois sorties ont été entraînés pour estimer les paramètres du réseau. Les résultats du MLFN entraîné pour différents réseaux ont montré que, parmi les réseaux entraînés, le (187-8-16-3) - MLFN, un réseau ayant 187 variables d'entrée, huit et 16 neurones dans deux couches cachées, et trois neurones de sortie, a donné le modèle le mieux adapté pour classer les spécimens de loups, de chiens et d'hybrides. Le **coefficient de détermination** ( $R^2$ ) entre la sortie du modèle ANN (estimée) et la valeur réelle (observée) pour les trois sorties était de 0,90, 0,50 et 0,20, respectivement. Pour cette configuration, le MSE et le MAE pour la classe 1 étaient respectivement de 0,04 et 0,16, pour la classe 2 de 0,13 et 0,25, et pour la classe 3 de 0,14 et 0,23.

Le pourcentage d'individus correctement classés par *bold-out* était de 100% dans la comparaison globale entre les échantillons de loups et de chiens. Sur la base du meilleur réseau, les scores de W13 pour les trois classes (chiens, loups et hybrides) étaient respectivement de 0,05, 0,90 et 0,05. **Ce résultat montre que W13 a été correctement groupé dans la classe 2 (loup).** Le score de W16 pour les trois classes était de 0,20, 0,74 et 0,1, respectivement. Sur la base de ce score, W16 a également été regroupé dans la classe 2. **Ce résultat a montré que les loups noirs étaient génétiquement proches des échantillons de loups et les assignations individuelles basées sur les microsatellites autosomiques ont également indiqué que les deux loups noirs étaient situés dans le cluster des loups.**

#### *ADNmt*

Dans cette étude, 544 pb de séquences de la région de contrôle de l'ADNmt ont été obtenues pour les échantillons de loups et de chiens. Au total, 25 haplotypes ont été identifiés, dont 12 chez les chiens, dix chez les loups et trois haplotypes partagés entre les loups et les chiens. L'arbre phylogénétique, construit comme indiqué sur la Figure 2, a séparé les loups et les chiens en deux groupes distincts. **Les deux individus noirs (W13 et W16) ont été positionnés dans l'haplotype du loup.**





**Fig. 2.** Arbre phylogénétique des haplotypes d'ADNmt. Les spécimens sombres (W13 et W16) et les quatre individus probablement hybrides (H38, H39, H40, H41) sont représentés respectivement par des ellipses et des rectangles

**Tableau 1.** Valeurs minimales et maximales (mm) de 20 caractères crâniens et dentaires chez dix loups purs et deux loups noirs (femelle de Bahar dans la province de Hamadan, mâle de Ghidar dans la province de Zanjan, tous deux en Iran occidental)

Measurements	Subadult male (5)		Female (9)		W13	W16
	Min	Max	Min	Max	Male	Female
1 Cranial length	100.64	130.24	121.22	140.24	110.9	139.36
2 Greatest length of the nasals	71.32	82.22	82.98	100.46	77.2	89.32
3 Least length of the nasals	64.3	72.48	72	88.9	65.9	77.56
4 Maximum zygomatic width	95.1	128	118.7	138.24	110.5	136.36
5 Cranial width	66.28	75.22	69.54	86.55	72.72	78.9
6 Postorbital constriction	33.42	43.94	40.7	51.24	38.26	48.98
7 Frontal breadth	49.9	61.98	54.62	70.34	55.36	66.88
8 Distance between holes in the under socket	38.46	47.46	45.78	55.86	45.04	49.5
9 Rostrum width	39.08	43.64	39.22	55.86	36	48.46
10 Basal length	161.54	190.12	210.86	240.24	187.96	220.1
11 Maximum width of occipital condyles	35	40.22	39	47.34	36.12	47.9
12 Least diameter of the auditory bulla	20.22	24.9	21.98	27.0	22.4	27.9
13 Greatest breadth of the palatine	32.6	41.38	36.4	42	32.1	41.74
14 Carnasil length	20.1	23.4	23.4	26.5	22.6	25.5
15 Height of the upper canine	19.14	22.2	18.64	25.3	22.64	25.2
16 Length of P2 to M2	54.72	70.14	58.36	75.24	64.1	72.76
17 Length of the cheektooth row	65	78.74	74.68	85.12	73.16	80.12
18 Length of the upper tooth row	79.4	96.2	91.62	110.2	88.34	101.84
19 Mandible length	143.72	177.86	182.56	225.16	154.56	182.18
20 Length of P1 to M3	71.66	87.44	78.58	96.26	78.3	82.82

### Analyse morphologique

À première vue, le crâne du mâle noir subadulte (W16) ressemblait à un crâne de chien typique. Nous avons observé une dent ajoutée dans la rangée de dents inférieure et une teinte générale complètement sombre de la fourrure, surtout sur la tête. La largeur du rostre (36 mm) et la plus grande largeur du palatin (32,1 mm) étaient clairement plus petites que les valeurs minimales pour les loups mâles subadultes. **Cependant, d'autres caractères craniométriques tels que la longueur du**

M2, la largeur zygomatique et la largeur postorbitaire se situaient dans la gamme des mesures du crâne de loup, ce qui suggère une relation étroite avec les échantillons de loups.

Contrairement au crâne du mâle subadulte, l'apparence du spécimen femelle noir (W13) ne s'écartait pas d'un loup typique et ne différait pas craniologiquement des loups purs de la région. Ce spécimen avait un grand crâne avec une fourrure complètement foncée, surtout sur la tête et les côtés. La largeur maximale des condyles occipitaux (47,9 mm) et le diamètre minimal de la bulle auditive (27,9 mm) étaient légèrement supérieurs aux valeurs maximales pour les loups femelles adultes. Cependant, les autres caractères craniométriques se situaient dans la fourchette des mesures pour cette espèce (Tableau 1 ; Fig. 3).

Nous n'avons pas observé de malformation typique, telle que des dents permanentes P1 incomplètement développées, du tissu osseux spongieux dans le foramen infraorbitale, des lignes semi-circulaires de la partie postérieure du front, et une apparence atypique de la sutura frontalis, chez aucun des loups noirs. Ces résultats ont montré que les deux crânes, tant au niveau de l'apparence que des paramètres craniométriques, ne s'écartaient pas des loups typiques ; ils ne peuvent donc pas être identifiés comme des hybrides.



Fig. 3. Vue latérale du crâne des loups noirs : mâle subadulte (W16 ; a) et femelle adulte (W13 ; b)

## DISCUSSION

L'existence d'hybrides loup-chien est rarement rapportée [voir Anderson et al. (2002), Randi et Lucchini (2002), Ciucci et al. (2003), et Verardi et al. (2006)]. Alors que certains traits comme l'ergot, le motif de couleur et la longue queue peuvent être considérés comme des signes d'hybridation entre loups et chiens en liberté (Apollonio et al. 2004), les traits morphologiques loup-chien ne sont pas prévisibles. Le motif de couleur est l'une des variations les plus fréquemment documentées chez les loups. Les populations de loups d'Amérique du Nord, par exemple, présentent différents motifs de couleur, allant du blanc dans les régions arctiques au pelage noir observé dans le nord-ouest des États-Unis (Brewster et Fritts 1995).

En Iran cependant, le mélanisme n'est pas considéré comme une caractéristique typique. Pour comprendre si deux loups noirs identifiés dans l'ouest de l'Iran étaient des hybrides ou des purs-sangs, nous les avons analysés à la fois génétiquement et morphologiquement. Les ANNs ont fourni des informations importantes sur la structure génétique et la classification des populations de loups et de chiens. Lorsque les échantillons étaient bien définis sur la base des traits morphologiques et de l'observation directe, les résultats des analyses ANNs ont montré que, lorsqu'ils sont appliqués aux données microsatellites, les réseaux neuronaux donnent des résultats fiables. Les analyses ANNs basées sur la fréquence des allèles et les procédures d'exclusion ont

montré une distinction claire entre les populations de loups et de chiens. D'après les résultats des ANNs, les individus présentant des scores intermédiaires pourraient être des hybrides, et lorsque de tels individus sont présents dans une population, le réseau est capable de les reconnaître. **Les scores de deux spécimens noirs prédits par le meilleur réseau les ont regroupés dans la population de loups avec un score élevé.** Les ANNs ont montré que les loups noirs étaient génétiquement proches des échantillons de loups et les assignations individuelles basées sur les microsatellites autosomiques ont montré que les deux loups noirs appartenait au groupe des loups.

D'après les résultats de l'analyse de l'ADNmt, bien que les loups et les chiens partagent certains haplotypes, les groupes de loups et de chiens ont pu être bien distingués. **Certains haplotypes partagés entre les deux groupes pourraient être le résultat de croisements lors de la domestication du chien ou d'une hybridation interspécifique dans les générations précédentes** (Ardalan et al. 2011). Quatre individus (H38, H39, H40, H41) identifiés comme hybrides sur la base des résultats des analyses microsatellites présentaient trois haplotypes différents et appartenaient au même haplogroupe composé de séquences de chiens et de loups. Deux échantillons, H38 et H41, partageaient un haplotype commun. Les résultats de l'analyse des marqueurs d'ADNmt, qui sont transmis par la mère, indiquent la possibilité que les hybrides aient été maternés par des chiens et paternés par des loups purs ou hybrides. D'après les observations faites dans la zone d'étude et les entretiens avec la population locale, ces quatre individus (H38, H39, H40, H41) sont le résultat d'une hybridation. Les études comportementales et génétiques montrent que l'accouplement entre les différents genres de canidés est asymétrique et diffère selon les espèces en fonction de la direction et de l'intensité du flux génétique (Vila et Wayne 1999). Comme les marqueurs ADNmt permettent de déterminer les individus hybrides, il n'est pas possible de les utiliser pour déterminer l'intensité exacte de la présence d'hybrides au sein des populations de loups dans la nature (Vila et Wayne 1999).

Les résultats de l'ADNmt étaient en concordance avec les résultats de l'analyse microsatellite. Les deux loups foncés (W13 et W16) présentaient deux haplotypes distincts et ont été placés dans deux haplogroupes distincts. Les résultats du séquençage de l'ADNmt, une méthode couramment utilisée pour retracer la **lignée maternelle** dans les populations domestiques et sauvages (Freeland 2005), ont montré que la couleur noire du pelage n'indique pas un flux génétique récent entre les loups et les chiens.

De plus, les résultats morphométriques ont montré que les loups noirs inhabituels, tant au niveau de l'apparence que des paramètres craniométriques, ne s'écartent pas des caractères typiques des loups. Nos résultats confirment l'absence d'une relation directe inévitable entre la présence de pelages plus foncés que d'habitude chez les loups et l'hybridation récente avec les chiens.

**Nos résultats confirment ceux de Randi et Lucchini (2002), qui affirment que la couleur sombre des loups Italiens pourrait avoir été favorisée par le déclin démographique passé et l'expansion après un goulot d'étranglement.** Apollonio et al. (2004) ont rapporté que 22% des loups observés et 23% de tous les loups morts dans une zone de 3 300 km<sup>2</sup> étaient complètement noirs. **Leurs analyses n'ont montré aucune preuve d'hybridation dans l'ascendance et ont suggéré que l'occurrence du phénotype noir dans cette zone pouvait provenir d'une combinaison naturelle d'allèles de loup dans les gènes déterminant la couleur du pelage, et pas nécessairement d'un croisement avec le chien domestique.**



De nombreux facteurs déterminent la couleur du pelage chez le chien, un mécanisme qui est assez complexe (Sponenberg et Rothschild 2001). Apollonio et al. (2004) ont suggéré qu'il est peu probable qu'un seul événement d'hybridation avec des chiens au cours des dernières années produise un loup noir et que la couleur noire chez les loups résulte probablement d'une combinaison d'allèles dominants. D'autre part, Anderson et al. (2009) ont comparé les gènes de loups du parc national de Yellowstone et de l'Arctique Canadien à ceux de chiens domestiques et de coyotes. Ils ont constaté que, dans chaque espèce, les individus noirs présentaient la même mutation, qui est apparue pour la première fois il y a environ 45 000 ans. **L'analyse moléculaire a montré que la mutation la plus ancienne s'est produite chez le chien, ce qui suggère qu'elle est apparue chez le chien et a ensuite été introduite chez le loup et le coyote par hybridation interspécifique.** Anderson et al. (2009) ont montré que l'allèle  $K^B$  qui code pour la couleur noire du pelage chez les loups est plus fréquent dans les meutes qui habitent les forêts que dans celles qui occupent la toundra. Ces résultats montrent que les traits sélectionnés chez les espèces domestiquées peuvent influencer la diversité morphologique de leurs parents sauvages.

Les facteurs environnementaux sont plus importants que la distance géographique pour déterminer les variations génétiques et morphométriques des populations de loups (Bennett 2010). Les gradients environnementaux tels que le type de végétation et le couvert végétal d'un habitat ou le type de proies disponibles peuvent influencer la composition génétique des populations locales de loups. Musiani et al. (2007) ont constaté que 93% des loups des populations de la toundra présentaient une coloration claire, alors que seulement 38% des loups de la forêt boréale de conifères présentaient ce type de coloration. **Ces résultats montrent que les différenciations génétiques et phénotypiques entre loups peuvent être causées par la spécialisation proie-habitat plutôt que par la distance ou les barrières topographiques.** Pilot et al. (2006) ont examiné l'effet des facteurs écologiques sur la structure génétique des loups gris d'Europe. Ils ont constaté que la différenciation génétique entre les populations locales était corrélée au climat, au type d'habitat et à la composition du régime alimentaire des loups. Ce résultat indique que les processus écologiques peuvent fortement influencer l'importance du flux génétique entre les populations. Carmichael et al. (2007) ont déclaré que la structure génétique des loups est fortement corrélée au type d'habitat et qu'elle est probablement déterminée par une dispersion basée sur l'habitat natal.

**Bien que cette étude ait montré que les deux loups noirs ne présentaient pas de signe d'hybridation dans la première ou la deuxième génération passée, ce résultat n'est pas suffisamment précis pour exclure la possibilité d'une hybridation plus ancienne.** Anderson et al. (2009) n'ont trouvé aucune preuve d'hybridation chez les loups noirs en utilisant plus de 48 000 polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) **et ont suggéré que l'hybridation a eu lieu il y a au moins des centaines d'années.**

En Iran, les loups occupent un large éventail d'habitats et ne sont absents que dans les déserts centraux et le Dasht-e-Lut. La variation des motifs de couleur pourrait être due à la grande diversité des habitats qui est causée par l'existence de deux grands plans d'eau au nord et au sud et les vastes chaînes de montagnes qui s'étendent au nord et à l'ouest. Dans l'ouest de l'Iran, en raison de l'existence de la chaîne de montagnes Zagros, la variation de la couleur peut très probablement être le résultat de traits écologiques.

En conclusion, les résultats de cette étude ont montré que le pelage noir chez les loups de l'ouest de l'Iran n'est pas nécessairement le résultat d'une pollution génétique par des gènes domestiques

au cours des dernières générations et pourrait être causé par la variation de l'habitat, l'adaptation locale et la combinaison naturelle d'allèles de loup et l'introgression de l'allèle  $K^B$  des chiens dans les loups en raison d'une hybridation passée avec des chiens en liberté. Cependant, compte tenu de l'échantillonnage limité, les résultats obtenus doivent être interprétés et généralisés avec prudence. Des investigations supplémentaires (données SNP) sont nécessaires pour évaluer une hybridation plus ancienne entre les populations de loups et de chiens en Iran.