

Des analyses génétiques spatiales révèlent une structure de population cryptique et des modèles de migration dans une population de loups gris (*Canis lupus*) exploitée de façon continue en Europe du Nord-Est

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

Spatial Genetic Analyses Reveal Cryptic Population Structure and Migration Patterns in a Continuously Harvested Grey Wolf (*Canis lupus*) Population in North-Eastern Europe

Maris Hindrikson¹, Jaanus Remm¹, Peep Männil², Janis Ozolins³, Egle Tammeleht¹, Urmas Saarma^{1*}

1 Department of Zoology, Institute of Ecology and Earth Sciences, University of Tartu, Tartu, Estonia, **2** Estonian Environment Information Centre, Tartu, Estonia, **3** State Forest Research Institute "Silava," Salaspils, Latvia

Citation: Hindrikson M, Remm J, Männil P, Ozolins J, Tammeleht E, et al. (2013) Spatial Genetic Analyses Reveal Cryptic Population Structure and Migration Patterns in a Continuously Harvested Grey Wolf (*Canis lupus*) Population in North-Eastern Europe. PLoS ONE 8(9): e75765. doi:10.1371/journal.pone.0075765

Résumé

La génétique spatiale est un domaine relativement nouveau de la biologie de la faune et de la conservation qui est en train de devenir un outil essentiel pour élucider la complexité des processus des populations animales et pour concevoir des stratégies efficaces de conservation et de gestion. Les développements conceptuels et méthodologiques dans ce domaine sont donc essentiels. Nous présentons ici deux nouvelles approches méthodologiques qui élargissent les possibilités analytiques de STRUCTURE et DResD. En utilisant ces approches, nous analysons la structure et les migrations dans une population de loups gris (*Canis lupus*) dans le nord-Est de l'Europe. Nous avons génotypé 16 loci microsatellites chez 166 individus échantillonnés dans la population de loups d'Estonie et de Lettonie qui subit une pression de chasse forte et continue depuis des décennies. Notre analyse a démontré que cette population de loups relativement petite est représentée par quatre groupes génétiques. Nous avons également utilisé une nouvelle approche méthodologique qui utilise l'interpolation linéaire pour tester statistiquement la séparation spatiale des groupes génétiques. Cette nouvelle méthode, qui est capable d'utiliser les résultats du programme STRUCTURE, peut être largement appliquée en génétique des populations pour révéler à la fois les zones centrales et les zones de faible importance pour les groupes génétiques. Nous avons également utilisé une méthode spatialement explicite basée sur les individus récemment développée, DResD, et l'avons appliquée pour la première fois à des données microsatellites, révélant un corridor et des barrières de migration, ainsi que plusieurs zones de contact.

INTRODUCTION

Les activités anthropiques font partie des facteurs clés qui affectent les populations d'animaux sauvages, et les plus importants d'entre eux sont peut-être la surexploitation et la destruction/fragmentation de l'habitat, qui causent une série considérable de problèmes non seulement pour la faune sauvage, mais aussi pour le développement durable en général (par exemple [1-3]). Ces facteurs jouent également un rôle important dans le façonnement des processus démographiques spatiaux des mammifères et dans la modification de la structure de leur population et de leurs schémas de distribution. Par conséquent, la compréhension des effets des activités anthropiques devient de plus en plus importante pour le développement de stratégies de

conservation et de gestion efficaces. Le domaine relativement nouveau de la génétique spatiale, ou « génétique du paysage » [4], utilise les données génétiques et spatiales des populations pour étudier les interactions entre les schémas spatiaux des populations et les facteurs écologiques, ces derniers incluant inévitablement les facteurs anthropiques.

Les espèces très mobiles telles que le loup, l'ours brun (*Ursus arctos*) et l'ours noir (*U. americanus*) constituent des espèces d'étude appropriées pour étudier les processus de population spatiaux et temporels à grande échelle chez les grands carnivores. Les analyses génétiques spatiales ont démontré, par exemple, comment les résultats des analyses de viabilité des populations de loups Mexicains (*Canis lupus baileyi*) peuvent être combinés avec des données sur l'habitat pour développer des critères quantitatifs de récupération de la connectivité des populations [5] ; elles ont également révélé d'importantes zones de **mélange** géographique pour différentes sous-populations d'ours bruns [6], des modèles phylogéographiques cryptiques d'ours bruns [7], et ont démontré les impacts des **forces** anthropogéniques sur la structure génétique spatiale des populations d'ours noirs [8]. Bien qu'une série d'approches méthodologiques aient été développées en génétique spatiale au cours de la dernière décennie (revue dans 9), le domaine bénéficierait d'autres avancées conceptuelles et méthodologiques.

De plus en plus d'éléments indiquent que la surexploitation a eu de graves conséquences pour de nombreuses populations d'animaux sauvages et a conduit un certain nombre d'espèces à l'extinction [10]. Les décisions en matière de conservation et de gestion de la faune sauvage ont traditionnellement été prises sur la base de données relatives aux facteurs démographiques affectant l'abondance et les taux de croissance des populations protégées ou gérées de manière intensive. Bien que les effets de la chasse sur les populations d'animaux sauvages soient assez bien connus [11,12], la plupart d'entre eux sont souvent ignorés par les gestionnaires. Outre la réduction de la taille et de la densité des populations, qui est généralement prise en compte, une forte pression de chasse peut également entraîner une fragmentation de la population, une augmentation de l'immigration en provenance d'autres populations, une perturbation des systèmes sociaux (par exemple [12]), et peut même augmenter le taux d'hybridation avec des espèces étroitement apparentées (par exemple [13]). Elle peut également conduire à une mortalité juvénile plus élevée et à une immigration accrue, comme cela a été démontré pour le loup gris (*Canis lupus*) [14] et le cougar (*Puma concolor*) [15]. Les changements dans l'histoire de vie des espèces soumises à la chasse suggèrent fortement que les prélèvements intensifs peuvent induire des réponses évolutives dans les populations sauvages [16,17]. Pour les espèces telles que les loups qui présentent une structure sociale basée sur la parenté, la préservation des groupes familiaux est importante du point de vue de l'évolution, car la fitness est positivement associée au maintien de la socialité [18-23]. De plus, le système d'accouplement et la socialité influencent la structure génétique à petite échelle par le biais des modèles de reproduction et de formation des meutes, et influencent la structure globale de la population en façonnant la dispersion et le flux génétique [24-26].

Les loups gris sont capables de s'adapter à un large éventail de conditions écologiques. Des preuves récentes suggèrent que l'organisation sociale des loups en meutes pourrait être une des raisons expliquant le succès évolutif de l'espèce ; les meutes permettent aux loups d'utiliser efficacement un large éventail de ressources pour se nourrir et garantir une meilleure survie de leurs jeunes [27-29]. Dans des conditions naturelles, c'est-à-dire en l'absence d'une forte pression de chasse, les loups vivent généralement dans des meutes fondées sur la parenté et comprenant un couple dominant d'adultes, leur progéniture et leurs proches parents. Lorsque la progéniture atteint la

maturité, elle se disperse souvent et vit en solitaire pendant une certaine période avant de trouver un partenaire et un territoire et de produire une progéniture. **Les meutes sont généralement nomades à l'intérieur des territoires** [30]. Une forte pression de chasse peut cependant fragmenter cette structure sociale naturelle en entités plus petites [31] avec l'adoption d'individus non apparentés dans les meutes, ce qui entraîne une faible parenté [26,32] et parfois l'abandon du territoire [14] et l'hybridation avec les chiens (par exemple [13,33-35]). Bien qu'il ait été proposé que les populations de loups **compensent** l'exploitation humaine par des ajustements dans la dispersion, y compris l'immigration [36], une forte association a été trouvée entre les prélèvements humains et les taux de mortalité totale des loups en Amérique du Nord [37].

Suite aux changements d'attitude du public et à l'introduction d'une législation favorable, de nombreuses populations de loups en Europe se sont développées au cours des dernières décennies, recolonisant lentement des parties de leur ancienne aire de répartition (voir 38-40). Dans une grande partie du nord-Est de l'Europe, les populations de loups sont restées à des niveaux de population apparemment sûrs, avec des prélèvements humains réglementés. Cependant, dans certains pays, comme l'Estonie et la Lettonie, l'abondance et la densité des loups ont été considérablement réduites par une forte activité de chasse. On pense que les populations de loups d'Estonie et de Lettonie font partie de la population continue de loups de la Baltique [39] qui s'étend à travers les trois pays baltes, l'Estonie, la Lettonie et la Lituanie, et qui est reliée aux populations de l'ouest de la Russie continentale, de l'Est de la Pologne, du nord de l'Ukraine et du Belarus. Les populations Estoniennes et Lettones ont connu de graves goulots d'étranglement démographiques vers le milieu des années 1960, lorsque la taille moyenne de la population, estimée entre 1966 et 1970, était d'environ 13 individus en Lettonie et de 9 en Estonie. Les populations des deux pays ont commencé à se rétablir dans la seconde moitié des années 1970 et ont atteint leur maximum au milieu des années 1990, lorsque les tailles de population recensées en Estonie et en Lettonie étaient respectivement d'environ 700 et 900-1000 animaux. Au cours de cette période, la pression de chasse s'est également intensifiée, les prélèvements annuels constituant d'un tiers à près de la moitié du recensement de la population dans les deux pays (Figure S1). Très probablement en raison de la pression de chasse sévère, des hybrides putatifs loup-chien ont commencé à apparaître dans les deux pays, et le statut d'hybride de plusieurs individus a récemment été vérifié par analyse génétique [34,35]. Cependant, aucune étude n'a encore examiné la composition génétique et la structure de la population de loups en Estonie et en Lettonie. En outre, la population de loups en Estonie et en Lettonie sert de bon modèle pour étudier la structure et les processus de population dans une population qui a été soumise à une forte pression de chasse continue pendant une période considérable. L'étude actuelle visait donc à développer des approches génétiques spatiales pour analyser la structure de la population et les schémas de flux génétiques dans la population de loups en Estonie et en Lettonie, qui a été soumise à une forte pression de chasse pendant des décennies.

MATERIAUX ET METHODES

Échantillons

Des échantillons de tissus musculaires de loups ont été prélevés dans toute l'aire de répartition de l'espèce en Estonie ($n = 116$) et en Lettonie ($n = 50$) entre les saisons de chasse 2004/2005 et 2008/2009 (Figure 1). Tous les échantillons ont été prélevés sur des animaux récoltés légalement par des chasseurs à des fins autres que ce projet. Les échantillons ont été conservés à -20°C . L'ADN

a été extrait de 20 à 50 mg de tissu musculaire à l'aide du kit de préparation de modèles PCR High Pure (Roche).

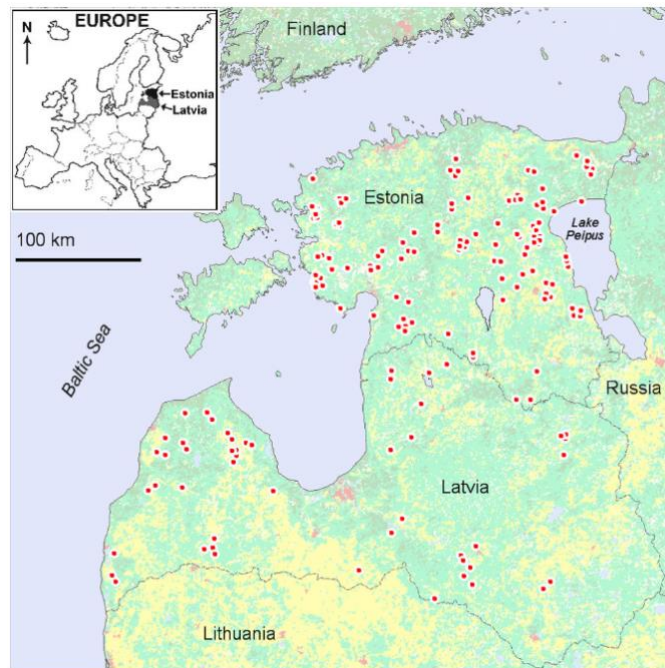


Figure 1. Lieux d'échantillonnage des loups en Estonie et en Lettonie. Les couleurs de fond indiquent les catégories de couverture terrestre MODIS : vert - forêts, jaune - habitats ouverts agricoles, rouge - habitat, bleu - plans d'eau

Analyse des microsattellites...

Estimation des taux d'erreur...

Goulots d'étranglement de la population...

Structure de la population...

Diversité génétique et consanguinité...

Taille effective de la population...

RESULTATS

Taux d'erreur de génotypage

Aucun des 166 échantillons analysés ne comportait plus d'un locus avec des allèles manquants. Le taux d'abandon d'allèles était de 0,004, le taux de faux allèles de 0,003 et le taux des autres erreurs (erreurs doubles et complètes) $<0,001$.

Goulots d'étranglement de la population

Les distributions des fréquences alléliques ont révélé certaines preuves de goulots d'étranglement récents dans la population de loups Estonienne et Lettone. Les fréquences alléliques présentaient une distribution typique en forme de L (données non présentées), ce qui indique qu'aucun changement détectable dans la distribution n'a eu lieu et que la fréquence des allèles rares n'a pas chuté. Dans le test de signe effectué sur les 16 loci microsattellites, les signatures d'un goulot d'étranglement ont été détectées avec les modèles SMM et TPM : les populations de loups n'étaient pas en équilibre mutation-dérive sous SMM ($P < 0,0001$), avec 16 loci sur 16 présentant une déficience d'hétérozygotie ; l'équilibre mutation-dérive n'a pas non plus été identifié sous TPM ($P = 0,006$; 12 loci présentant une déficience d'hétérozygotie). Le goulot d'étranglement n'était pas statistiquement soutenu par le modèle IAM ($P = 0,045$).

Diversité génétique et taille effective de la population de loups Estonienne-Latvienne

Pour l'ensemble des 166 échantillons et des 16 loci microsatellites, l'hétérozygotie non biaisée attendue ($H_{E(mb)}$) était de 0,73 et l'hétérozygotie observée (H_O) de 0,75 (Tableau S1). Le nombre moyen d'allèles par locus (N_A) était de 8,0 et le coefficient de consanguinité était légèrement négatif ($F_{IS} = -0,04$). Aucun déséquilibre de liaison significatif n'a été trouvé lorsque les 166 échantillons ont été analysés ensemble, mais il y avait une déviation statistiquement significative de l'équilibre de Hardy-Weinberg, indiquant une déficience d'hétérozygotie.

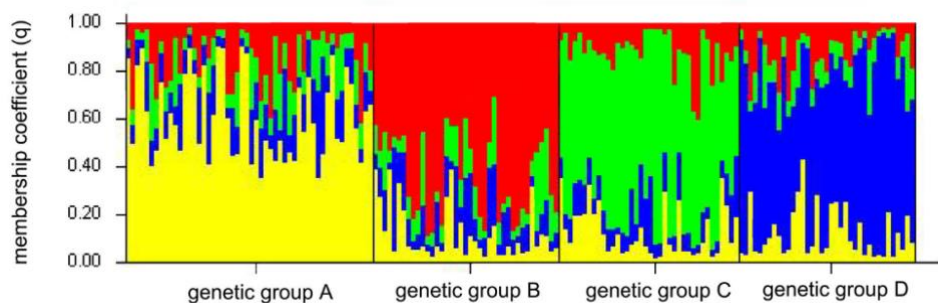


Figure 2. Analyse bayésienne de mélange des génotypes de loups d'Estonie et de Lettonie, basée sur 16 loci microsatellites autosomiques utilisant Structure v2.2, $K = 4$. Chaque barre verticale représente le coefficient d'appartenance (q) pour un loup individuel. A-D désignent quatre clusters génétiques

Détection de la structure de la population

L'analyse de cluster utilisant STRUCTURE et la méthode proposée par Evanno et al. [52] a suggéré l'existence de quatre groupes génétiques différents A-D (Figure 2, Figure S2). Tous les groupes génétiques comprenaient des individus avec un coefficient d'appartenance moyen estimé élevé pour le groupe respectif (Tableau 1). Il est bien connu que l'interprétation des résultats de STRUCTURE peut être difficile lorsque l'IBD est présent dans l'ensemble d'échantillonnage. Par conséquent, nous avons estimé l'effet des IBD et il s'est avéré faible ($R^2 = 0,059$; $p < 0,001$; Figure S3), expliquant seulement 6% de la variation. Ainsi, comme l'effet des IBD était faible, il n'y avait pas d'incompatibilité avec les hypothèses de STRUCTURE. La structuration de la population de loups d'Estonie et de Lettonie en groupes génétiques distincts a été confirmée par l'analyse FCA (Figure S4) et par l'approche d'interpolation linéaire, qui a clairement identifié les aires de répartition géographique des groupes (Figures 3, 4). Selon l'étendue des points de grille du noyau (Hyp_{1A}), trois des quatre groupes génétiques étaient géographiquement bien définis : les groupes A (couvrant 12,3% de la superficie analysée) et D (couvrant 7,9% dans deux zones centrales distinctes) étaient de souche Estonienne, tandis que le groupe B (couverture de 26,3%) était de souche Lettone. Toutefois, le groupe C était réparti sur l'ensemble de l'Estonie et de la Lettonie, la quasi-totalité de la superficie terrestre se situant dans la fourchette probable (Hyp_0) du groupe (et une zone centrale avec une couverture de seulement 0,1%). La plage crédible du groupe B (plage Hyp_{1B}) comprenait également la majorité de l'Estonie, tandis que l'ouest de la Lettonie se trouvait en dehors des plages crédibles des groupes B et D (Figures 3, 4). L'algorithme DResD a fourni des preuves claires de la variation spatiale de la divergence génétique qui est probablement liée à la résistance variable du paysage aux mouvements individuels. À chacune des trois échelles spatiales analysées, plusieurs zones sont apparues où la valeur résiduelle interpolée de la D_{LR} était significativement plus élevée ou plus faible que celle attendue à partir de la seule IBD (Figure 5). À la plus petite échelle spatiale (20-80 km ; Figure 5a), plusieurs zones de **mélange** de différents groupes sont apparues avec une distance génétique relativement élevée entre des individus par ailleurs géographiquement proches. À l'échelle moyenne (80-140 km), un territoire putatif d'une meute en expansion a été détecté dans la zone forestière du sud-ouest de l'Estonie, coïncidant avec l'une des zones centrales du groupe D

(Figure 5b). À la plus grande échelle spatiale (140-250 km), une grande zone dans la partie nord-Est de l'Estonie a été identifiée comme un couloir de migration, où les individus sont génétiquement relativement similaires sur une grande distance géographique. De plus, le Golfe de Riga coïncide avec une forte divergence entre les individus (Figure 5c).

Tableau 1. Les coefficients d'appartenance moyens estimés des loups individuels Estoniens et Lettons dans quatre clusters génétiques

Genetic group	Average probability of membership to clusters (K = 4)			
	1	2	3	4
A	0.87	0.08	0.12	0.07
B	0.03	0.78	0.11	0.06
C	0.04	0.07	0.68	0.05
D	0.03	0.07	0.09	0.82

Le cluster principal avec le coefficient d'appartenance le plus élevé est en gras

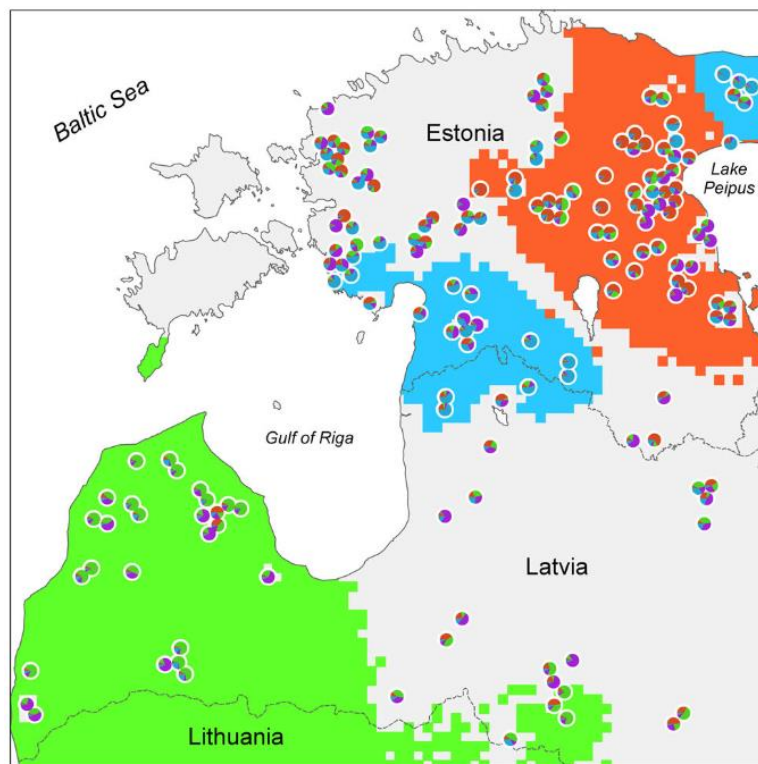


Figure 3. Aires géographiques de quatre groupes génétiques (A à D) dans la population de loups d'Estonie et de Lettonie, basées sur l'interpolation pondérée par la distance des coefficients d'appartenance à la structure. Comme déterminé par 1000 permutations bootstrap, les points de grille de couleur sombre (5×5 km) indiquent les zones centrales des groupes. Les individus sont représentés par des tartes multicolores qui reflètent le coefficient d'appartenance de chaque groupe (zoom pour voir les détails)

Diversité génétique au sein des groupes génétiques et taille effective de la population

Les 16 loci microsatellites étaient polymorphes dans tous les groupes génétiques, avec des valeurs de H_{Emb} allant de 0,51 à 0,88, et de H_o allant de 0,51 à 0,90, à l'exception du locus FH2017 dans le groupe D, où $H_{Emb} = 0,38$ et $H_o = 0,35$. Le nombre moyen d'allèles par locus (N_A) variait de 6,4 à 10,8 (Tableau S1). Les loups appartenant au groupe C présentaient également plus d'allèles par locus que tout autre groupe à 12 des 16 loci. Nous avons trouvé un déséquilibre de liaison entre certaines paires de loci dans trois des quatre groupes : après correction de Bonferroni, il y avait ($P < 0,005$) un déséquilibre de liaison entre cinq paires de loci dans le groupe A, entre une paire de

loci dans le groupe B et entre quatre paires de loci dans le groupe C. Les paires de loci avec un déséquilibre de liaison significatif étaient différentes dans les trois groupes. Le coefficient de consanguinité était négatif dans trois des quatre groupes (A, C et D) et légèrement positif dans le groupe B (Tableau S1). Dans les groupes A et D, les deux limites de confiance bootstrapped à 95% (1000 permutations) du coefficient de consanguinité étaient négatives.

Selon l'ONESAMP, la taille de population effective moyenne estimée dans l'ensemble de l'échantillon était de 151,5 (95% CL = 140,9-166,2), et l'estimation correspondante en utilisant la LDNE était de 138,0 (95% CL : paramétrique = 123,4-155,1 ; jack-knife = 125,2-159,8). Pour les différents groupes génétiques, la taille moyenne effective de la population estimée à l'aide de la méthode de calcul bayésienne approximative était de 61,8 individus (95% CL = 54,5-91,5) pour le groupe A, 45,5 (95% CL = 41,4-53,1) pour le groupe B, 23,6 (95% CL = 21,6-28,4) pour le groupe C et 42,0 (95% CL = 37,4-53,3) pour le groupe D.

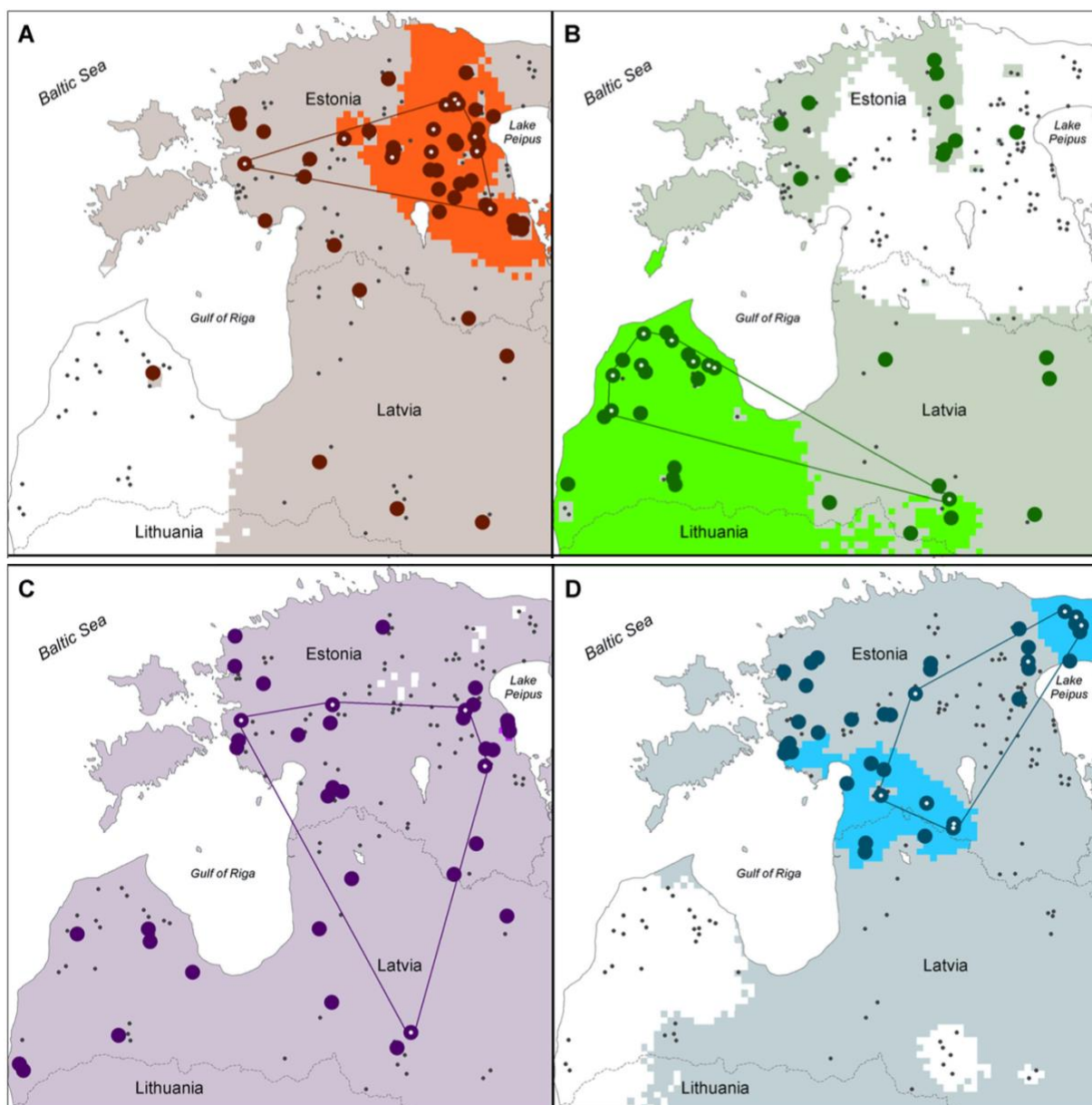


Figure 4. Aires géographiques de quatre groupes génétiques (A-D) présentées séparément. Les points de grille de couleur foncée (5×5 km) indiquent la zone centrale du groupe (comme dans la Figure 3), tandis que les zones de couleur claire représentent une probabilité de groupe quasi aléatoire, et les zones blanches sont significativement en dehors de l'aire de répartition du groupe

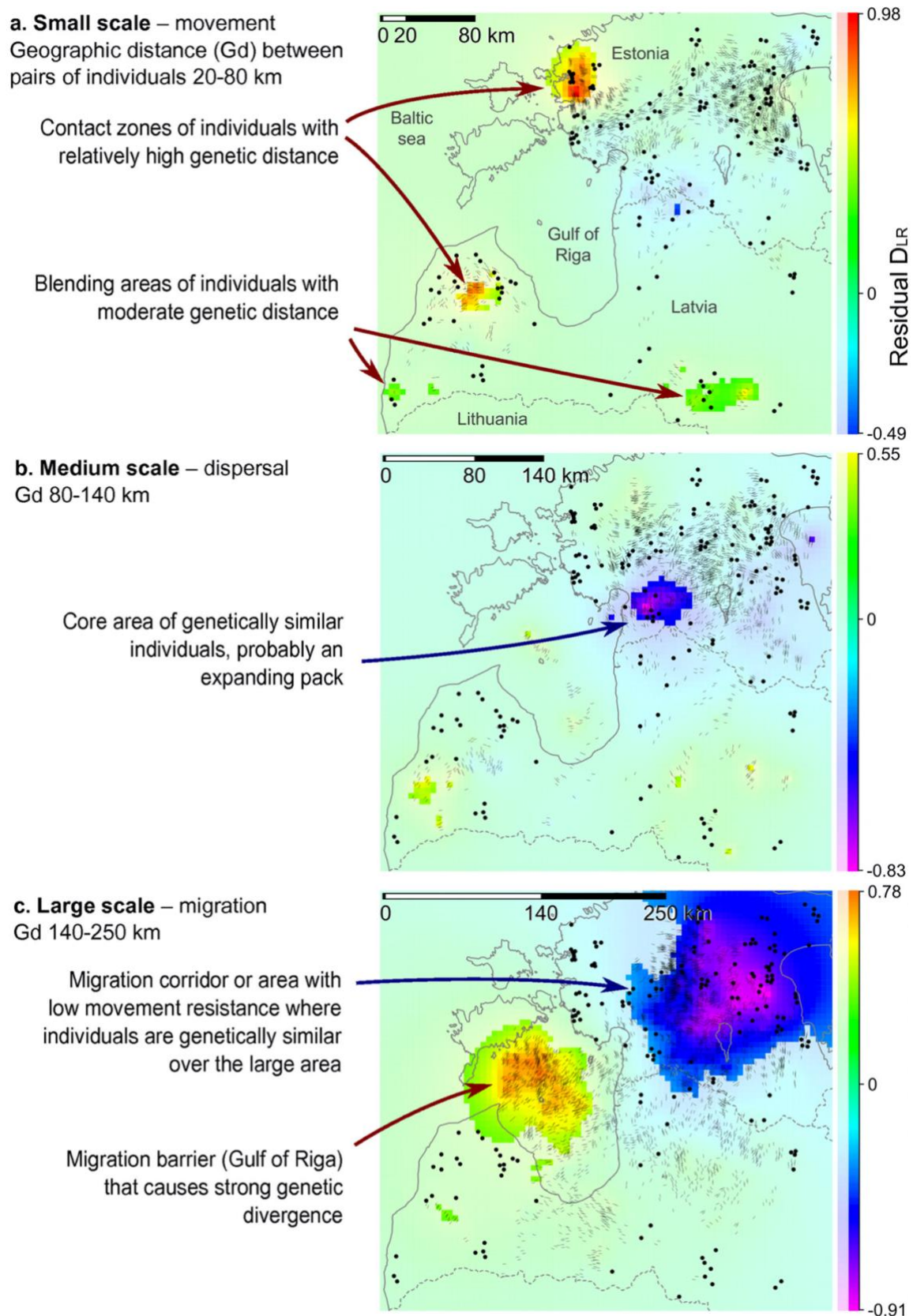


Figure 5. Distribution spatiale de la différenciation génétique entre les individus de la population de loups Estonienne-Latvienne ($n = 166$) basée sur les résultats de la procédure DResD spatialement explicite à trois échelles spatiales : (a-c) - l'indice DLR moyen (basé sur 16 loci microsatellites) entre les paires d'échantillons, corrigé pour l'isolement par la distance et interpolé à travers la zone d'étude en utilisant la pondération inverse de la distance. Les zones de couleur pleine représentent les points de grille de 5 km où la valeur testée s'écarte significativement du modèle nul (IBD seul - une valeur de 0 ; $p \leq 0,05$ selon 1000 itérations). Les points représentent les emplacements des échantillons, et les tirets indiquent les emplacements et les directions des paires d'échantillons situés dans une plage de distance particulière ; la section noire de la barre d'échelle dans le coin supérieur gauche de chaque image représente la plage de distance des paires d'échantillons incluses dans le calcul respectif

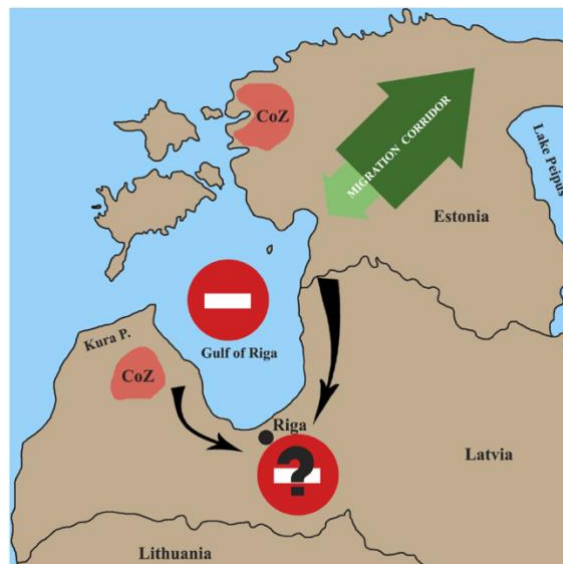


Figure 6. Représentation schématique des résultats de DResD (présentés dans la Figure 5). Les directions et la force de la migration ont été déterminées avec BayesAss (voir l'information S2), les flèches vert foncé indiquant une force de dispersion plus forte et les flèches vert clair une force de dispersion plus faible. Les signes d'interdiction rouges désignent les barrières de migration (notez que la barrière sous la forme du golfe de Riga a été clairement identifiée par l'analyse, alors que la ville de Riga et son infrastructure environnante sont proposées pour expliquer la preuve d'une barrière à cet endroit approximatif). CoZ : zones de contact pour les individus génétiquement éloignés

DISCUSSION

Goulots d'étranglement et sous-structuration de la population

La population de loups d'Estonie et de Lettonie est caractérisée par une diversité génétique relativement élevée (voir Tableau S1) malgré les goulots d'étranglement passés de la population et la forte pression de la chasse. La signature du goulot d'étranglement a également été détectée dans les données génétiques avec le programme BOTTLENECK : elle était statistiquement significative sous les modèles SMM et TPM, mais pas sous le modèle IAM. Une explication possible est que les modèles SMM et TPM correspondent mieux au processus de mutation des microsatellites dans la population de loups étudiée. Cependant, l'une des hypothèses de tous ces modèles est l'absence d'immigration et de sous-structure de la population. Comme ces hypothèses sont dans une certaine mesure violées dans cette étude, il est difficile d'avoir une certitude absolue sur les résultats de l'analyse des goulots d'étranglement, bien que l'on sache, grâce aux données démographiques, que de forts goulots d'étranglement se sont produits vers le milieu des années 1960.

La structuration des populations d'animaux sauvages due à la surexploitation et à la dégradation de l'habitat est une préoccupation croissante en matière de conservation et de gestion. Par conséquent, l'estimation de la variation génétique et du degré de structuration génétique des populations est importante pour la planification de la conservation. La découverte d'une structure de population cryptique dans la population de loups d'Estonie et de Lettonie était inattendue en raison de la grande mobilité dont fait preuve l'espèce, de la zone géographique relativement petite étudiée et de l'absence de barrières de mouvement évidentes et de spécialisation écologique. Néanmoins, l'analyse avec STRUCTURE a clairement identifié quatre groupes génétiques en Estonie et en Lettonie (Figure 2, S2, et Tableau 1). Un problème potentiel associé à l'identification des groupes génétiques est l'effet de l'IBD, qui peut produire des partitions artéfactuelles dans des populations faiblement différenciées (par exemple [72]). Cependant, nous avons évalué l'effet de l'IBD et l'avons trouvé négligeable (Figure S3), ce qui suggère que les groupes génétiques déterminés par STRUCTURE sont réalistes. De plus, la division du groupe D (Figure 4d) en deux noyaux

géographiquement distants et la présence du groupe C (Figure 4c) dans toute la zone d'étude sont incompatibles avec un modèle de structuration causé par l'IBD. En outre, nous avons utilisé l'interpolation spatiale et détecté plusieurs zones centrales de groupes génétiques où les individus ayant une forte probabilité d'appartenir à d'autres groupes génétiques étaient absents. Cette approche a démontré que les zones centrales de trois groupes (A, B et D) avaient des emplacements géographiques distincts qui ne se chevauchaient pas les uns les autres (Figure 3). Des zones situées significativement en dehors des aires de répartition des groupes génétiques ont également été enregistrées (les zones quadrillées blanches de la Figure 4). À notre connaissance, il s'agit de la première étude à utiliser une telle approche pour tester statistiquement la séparation spatiale des groupes génétiques.

L'analyse factorielle des correspondances avec GENETIX [54] a révélé trois groupes distincts et non superposés (B, C et A/D, c'est-à-dire qu'elle n'a pas été en mesure de séparer les groupes A et D l'un de l'autre), ce qui suggère que cette approche avait une sensibilité quelque peu moindre (Figure S4). Il a été proposé qu'avec une faible divergence génétique entre les groupes putatifs, les méthodes basées sur la parenté peuvent faciliter l'étude de la structuration de la population [73]. Cependant, cette approche nécessite un échantillonnage presque complet des populations cibles et n'était donc pas applicable dans cette étude.

On peut s'attendre à ce que plusieurs processus aient favorisé l'émergence de groupes génétiques distincts après un goulot d'étranglement dans la zone d'étude : (1) les groupes pourraient être formés par des individus immigrants provenant de différentes parties de la Lituanie et de la Russie ; ou (2) les groupes pourraient provenir de meutes de loups locales spatialement séparées (sans immigration significative).

Compte tenu de l'ensemble des données, le scénario le plus plausible pourrait être une combinaison de ces deux processus. Nous proposons que les trois groupes avec une distribution limitée et des noyaux distincts (A, B et D) sont susceptibles d'être apparus en raison de l'immigration d'individus « étrangers », tandis que le groupe répandu restant (C) reflète une population résiduelle d'individus locaux.

Après le grave goulot d'étranglement de la population en Estonie et en Lettonie au milieu des années 1960, l'immigration en provenance de la population de loups Russe pourrait expliquer la distribution géographique des groupes A et D, qui sont situés près de la frontière entre l'Estonie et la Russie (Figures 3, 4). La double zone centrale du groupe D pourrait être apparue au cours de la période post-bottleneck, lorsque les loups immigrants de Russie se sont dispersés plus loin vers le sud-ouest de l'Estonie (notez que les loups appartenant à ce groupe sont visibles le long de cet axe de migration putatif) (Figure 4d), tandis que la pression de chasse sévère et continue dans le centre et l'Est de l'Estonie au cours des dernières décennies a fragmenté ce groupe en deux noyaux géographiquement distants. Parallèlement, la distribution des groupes A et B est cohérente avec une immigration en Estonie depuis l'oblast de Pskov, avec une expansion ultérieure le long d'un axe sud-Est nord-ouest, et une immigration depuis la Lituanie, respectivement.

L'explication probable de la distribution homogène du groupe C est qu'il s'agit du groupe le plus ancien des quatre, et qu'il était répandu dans la zone d'étude avant le grave goulot d'étranglement de la population en Estonie et en Lettonie au milieu des années 1960. En raison de la forte pression de chasse, le groupe C n'était probablement présent qu'à faible densité pendant le goulot

d'étranglement, laissant des territoires vacants dans toute son aire de répartition. Pendant la période d'expansion de la population, les territoires vacants ont probablement été recolonisés à la fois par les loups du groupe C et par des loups immigrés d'autres groupes. Ainsi, selon notre hypothèse, le groupe C est le plus ancien et donc le groupe autochtone, tandis que les groupes A, B et D sont apparus au cours de la période post-bottleneck en raison de l'immigration.

Il s'agit bien sûr d'une hypothèse relativement simple. Compte tenu de l'interaction entre la chasse et la pression de l'immigration, la situation réelle est peut-être un peu plus complexe. Cependant, la question de savoir comment la sous-structuration de la population a été maintenue malgré le fait qu'un demi-siècle se soit écoulé depuis le goulot d'étranglement est peut-être plus facile à traiter. La différenciation entre les groupes ($F_{ST} = 0,04-0,07$, voir Tableau S2 et information S2) n'est pas importante, ce qui reflète leur proximité géographique et un certain degré de migration entre les groupes (Tableau S3). Le loup est l'une des espèces de mammifères terrestres les plus mobiles, ayant la capacité de se disperser sur de longues distances. Wabakken et al. [74] ont documenté une distance de dispersion de 1 092 km entre le sud-Est de la Norvège et le nord-Est de la Finlande. Ainsi, on pourrait s'attendre à ce que le flux génétique au sein de l'Estonie et de la Lettonie - une zone géographique relativement limitée (étendue maximale de 560 km) - soit considérable puisqu'il n'y a pas de barrières de mouvement évidentes. Pilot et al. [75] ont également démontré que les populations de loups en Europe de l'Est présentent une structure génétique spatiale non aléatoire en l'absence de barrières physiques évidentes aux mouvements, et ont suggéré que les facteurs écologiques jouent un rôle important dans la structuration de la population. Cependant, cette étude portait sur un territoire beaucoup plus vaste, et il est peu probable que la sous-structuration de la population de loups en Estonie et en Lettonie soit due à des facteurs écologiques. Parmi les autres grands carnivores, la sous-structuration des populations a également été démontrée en Europe pour le lynx Eurasien (*Lynx lynx*) [76] et pour l'ours brun [6] ; mais dans les deux cas, elle s'est produite de la même manière à des échelles beaucoup plus grandes. Le faible effet IBD observé dans cette étude (Figure S3) suggère que les loups sont capables de se mélanger dans toute la zone d'étude, ce qui laisse penser qu'en l'absence de chasse, les groupements observés fusionneraient probablement. Nous proposons que la forte pression de chasse soit le facteur le plus probable qui pourrait maintenir la sous-structuration de la population observée (voir également ci-dessous). Dans la population de loups Finlandaise, qui n'a été soumise qu'à une légère pression de chasse (en 2000-2005, environ 6-10% de la population) et qui habite un territoire un peu plus grand, aucune sous-structuration de ce type n'a été enregistrée [77]. Lorsque la structure sociale est intacte, la consanguinité est généralement évitée et les mouvements d'individus entre meutes ne permettent pas la fixation d'allèles spécifiques à la meute et la différenciation génétique en groupes distincts [29,32].

La sous-structuration de la population est-elle affectée par la chasse ?

Différentes méthodes d'estimation de la structure de la population sont basées sur l'hypothèse que les populations ne reçoivent pas d'immigrants pendant l'intervalle d'étude (par exemple [51]). Ainsi, il est important de préciser si la structuration de la population observée dans cette étude est le résultat d'une pression de chasse sévère ou d'une immigration récente importante en provenance des populations voisines. Nous soutenons ici que la chasse au loup en est la cause principale.

Tout d'abord, même si une immigration importante existe, il est fort probable qu'elle soit une conséquence de la chasse, puisque celle-ci a sans doute été le principal mécanisme responsable de la réduction de la densité de la population de loups Estonienne-Latvienne. Dans les populations de

loups établies sans chasse (ou avec une faible pression de chasse), la densité de la population est limitée par la capacité de charge de l'écosystème, et dans ces circonstances, les taux d'immigration restent faibles [30]. Cependant, sous une pression de chasse sévère, les taux d'immigration sont fortement susceptibles d'augmenter en raison de l'apparition de territoires vacants. Ainsi, même si l'immigration explique un certain degré de structure de la population, la chasse, par son effet sur les taux d'immigration, reste presque certainement la cause ultime.

En outre, il existe d'autres raisons de penser que la chasse est une cause directe plus importante que l'immigration pour le maintien de la sous-structuration de la population. En Finlande [77,78,79] et en Lituanie [80], où la pression de chasse est faible et l'immigration modérée, aucune structuration de la population n'a été observée. Par conséquent, sur la base de la seule immigration, on pourrait s'attendre à ce que le territoire beaucoup plus petit de l'Estonie et de la Lettonie ne présente aucune structuration de la population. Si une immigration importante était en cours, on pourrait s'attendre à détecter des groupes génétiques près des zones frontalières avec la Lituanie et la Russie. Cependant, nous n'avons pas détecté de tels groupes ou même des allèles rares (données non présentées) près des frontières de nos zones d'étude. Dans le groupe D, le taux de migration plus élevé de la zone centrale du sud-ouest vers le nord-Est soutient l'idée que l'immigration en provenance de Russie a récemment été faible (Figure S5, Figure 6). De plus, on s'attendrait à voir (avec l'analyse DResD) un regroupement d'individus avec une distance génétique relativement élevée près des zones frontalières si l'immigration récente était importante. Cependant, de telles zones n'ont été détectées que loin des zones frontalières (Figures 5, 6). La seule indication qu'un faible niveau d'immigration récente ait pu se produire provient des zones de mélange d'individus présentant une distance génétique modérée dans les parties sud et Est de la Lettonie, près de la frontière avec la Lituanie (Figure 5a). En effet, une immigration à petite échelle à partir des zones voisines est susceptible de se produire, en particulier vers la Lettonie, car il n'y a pas de barrière de mouvement évidente. Cependant, ce schéma pourrait également être dû à des processus de migration induits par la chasse à l'intérieur de la zone d'étude, et il est peu probable que le taux d'immigration actuel, et très probablement faible, soit capable de maintenir la sous-structure de population observée.

Les méthodes Interpolation et DResD

Nous proposons une méthode d'interpolation linéaire itérative intégrant des permutations bootstrap pour déterminer si les groupes génétiques sont distincts dans l'espace. La méthode permet aux utilisateurs d'examiner plus en détail les résultats de STRUCTURE afin de révéler à la fois les zones centrales et les zones de faible importance pour les groupes génétiques et, à ce titre, elle représente une nouvelle approche de génétique spatiale. Nous avons utilisé cette approche pour démontrer que trois des groupes génétiques détectés ont des zones centrales qui ne se chevauchent pas géographiquement (Figure 3).

La procédure DResD est une approche individuelle et spatialement explicite récemment développée pour identifier les corridors et les barrières de migration [7]. Il s'agit d'un outil d'analyse des données génétiques dans un contexte géographique qui est applicable à toutes les données qui produisent des matrices de distance génétique, y compris les données de séquence, les microsatellites, les polymorphismes de longueur de fragment amplifié (AFLP) et les polymorphismes de nucléotide simple (SNP). Nous considérons que la procédure DResD offre plusieurs avantages dans l'analyse de la génétique du paysage : elle utilise une approche géographiquement explicite basée sur l'individu, traite la composition génétique de la population

comme une variable spatiale continue et tient compte de l'effet de l'IBD dans les calculs. Cette étude est la première utilisation de la procédure DResD pour l'analyse de données microsatellites et elle fournit de bonnes preuves de la capacité de la procédure DResD à détecter les zones de transition et de contact, et à révéler les zones à forte et faible résistance au mouvement (corridors et barrières de migration) à différentes échelles spatiales (Figures 5, 6). À petite échelle, les zones de contact pour les individus génétiquement éloignés ont indiqué des zones où des territoires de loups de différents groupes génétiques sont présents (Figure 5a). À l'échelle géographique moyenne, on a trouvé une zone contenant des individus étroitement apparentés qui représentait très probablement le territoire d'une meute en expansion (Figure 5b). À une échelle plus grande, l'analyse a révélé une zone de migration putative et a identifié le Golfe de Riga comme une **barrière de mouvement efficace** (Figure 5c). Les loups pourraient hypothétiquement se déplacer autour du golfe, mais l'analyse montre qu'ils ne le font pas, ce qui suggère que la ville de Riga et ses infrastructures environnantes agissent également comme une barrière (Figure 6). Utilisée en conjonction avec les autres analyses, y compris l'approche par interpolation, elle fournit des détails importants sur la sous-structure et les processus de population.