

Démographie et histoire évolutive des populations de loups gris autour du détroit de Béring

Received: 29 June 2021 | Revised: 16 June 2022 | Accepted: 4 July 2022

DOI: 10.1111/mec.16613

ORIGINAL ARTICLE

MOLECULAR ECOLOGY WILEY

Demography and evolutionary history of grey wolf populations around the Bering Strait

Carolina Pacheco^{1,2,3}  | Astrid Vik Stronen^{4,5,6} | Bogumiła Jędrzejewska⁷ | Kamila Plis⁷ | Innokentiy M. Okhlopkov⁸ | Nikolay V. Mamaev⁸ | Sergei V. Drovetski⁹ | Raquel Godinho^{1,2,3} 

¹CIBIO, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, INBIO Laboratório Associado, Campus de Vairão, Universidade do Porto, Vairão, Portugal

²Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto, Porto, Portugal

³BIOPOLIS Program in Genomics, Biodiversity and Land Planning, CIBIO, Campus de Vairão, Vairão, Portugal

⁴Department of Biology, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

⁵Department of Biotechnology and Life Sciences, Insubria University, Varese, Italy

⁶Department of Chemistry and Bioscience, Aalborg University, Aalborg, Denmark

⁷Mammal Research Institute, Polish Academy of Sciences, Białowieża, Poland

⁸Institute of Biological Problems of Cryolithozone, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Yakutsk, Russia

⁹Department of Vertebrate Zoology, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, District of Columbia, USA

Résumé

Les périodes glaciaires et interglaciaires du Pléistocène ont été des facteurs importants de changement dans la répartition des espèces. Des analyses antérieures ont suggéré que les loups gris modernes (*Canis lupus*) trouvent leur origine dans une seule population Béringienne du Pléistocène supérieur qui s'est étendue vers l'Est et l'ouest, à partir d'il y a environ 25 000 ans (ya). Nous avons examiné l'histoire démographique et **phylogéographique** des populations existantes autour du détroit de Béring avec des loups provenant de deux régions intérieures de l'Extrême-Orient Russe (RFE) et d'une région côtière et de deux régions intérieures du nord-ouest de l'Amérique du Nord (NNA), génotypés pour 91 327 polymorphismes nucléotidiques simples. Nos résultats indiquent que les loups de la RFE et de la NNA ont eu un ancêtre commun jusqu'à environ 34 400 ans, ce qui suggère que ces populations ont commencé à diverger avant l'expansion de la Béringie proposée précédemment. Les populations de loups NNA de la côte et de l'intérieur ont divergé vers 16 000 ans, ce qui correspond à la date proposée pour la viabilité écologique de la route migratoire le long de la côte nord-ouest du Pacifique. Les reconstructions démographiques pour les populations RFE et NNA de l'intérieur des terres révèlent une synchronisation spatiale et temporelle, avec des tailles de population effectives historiques importantes qui ont décliné tout au long du Pléistocène, reflétant probablement l'influence des changements climatiques à grande échelle sur les continents. En revanche, les loups de la zone côtière du NNA ont affiché une taille de population effective constamment inférieure à celle des populations de l'intérieur des terres. Les différences entre l'histoire démographique des loups de l'intérieur des terres et des loups côtiers peuvent avoir été déterminées par de multiples facteurs écologiques, y compris les modèles historiques de flux de gènes, la fragmentation naturelle du paysage terrestre et les perturbations anthropiques plus récentes.

1 | INTRODUCTION

Les changements environnementaux d'origine climatique et les événements géologiques influencent considérablement les aires de répartition des espèces et les processus démographiques des populations (Hewitt, 2000). Au cours des périodes glaciaires du Pléistocène, l'expansion des nappes glaciaires, associée à une baisse globale du niveau des mers, a entraîné une augmentation substantielle de l'exposition du plateau continental, reliant des masses continentales auparavant isolées. Un exemple emblématique ayant des conséquences majeures pour les espèces holarctiques a été l'exposition du pont terrestre de Bering (BLB), étendant la région de Beringie de la Sibérie orientale (Russie) à l'ouest du Yukon (Canada ; Brigham-Grette, 2001 ; Hopkins et al., 1982). Le BLB est resté principalement libre de glace pendant les avancées glaciaires à travers ses extensions Eurasiennes et nord-Américaines, agissant pour de nombreux taxons comme un **refuge glaciaire** et comme une source et une voie importante de colonisation post-glaciaire. On en trouve des exemples parmi les plantes (Brubaker et al., 2005), les insectes (Elias & Crocker, 2008), les poissons (Campbell et al., 2015) et les mammifères (Anijalg et al., 2018 ; Heintzman et al., 2016), y compris les humains (Watson, 2017). Pourtant, l'hétérogénéité de l'habitat et du climat dans le BLB a façonné les aires de répartition des espèces et favorisé la structure des populations (Dale Guthrie, 2001 ; Elias & Crocker, 2008 ; Kuzmina et al., 2011 ; Vershinina et al., 2021). La baisse du niveau de la mer qui a mis à nu le BLB a également remodelé le littoral du Nord-Ouest Pacifique de l'Amérique du Nord, reliant plusieurs îles au continent (Baichtal, 2010 ; Shugar et al., 2014). Des études combinant la **phylogéographie** et la reconstruction d'habitats pléistocènes ont suggéré que le sud-Est de l'Alaska (SEAk) a pu abriter un **refugium** pléistocène, comme le prévoit l'hypothèse du **refugium côtier** (Carrara et al., 2007). Cette hypothèse met en évidence la diversité, la divergence et les niveaux élevés d'endémisme des taxons du SEAk, observés, par exemple, chez plusieurs espèces de mammifères [par exemple, *Martes americana* (Small et al., 2003), *Mustela erminea* (Colella et al., 2018) ou *Ursus americanus* (Puckett et al., 2015)]. Après le dernier maximum glaciaire (LGM), la côte nord-ouest du Pacifique pourrait avoir constitué une voie non glacée et viable reliant la Beringie au centre de l'Amérique du Nord (Lesnek et al., 2018).

Alors que les fluctuations climatiques historiques ont joué un rôle prédominant dans le façonnement des modèles phylogéographiques actuels, l'intensification des activités liées à l'homme au cours des derniers siècles a de plus en plus influencé les distributions, l'abondance et les interactions écologiques des espèces (Scheffers et al., 2016 ; Yackulic et al., 2011). Les activités d'utilisation des terres telles que la conversion des habitats et les prélèvements sont parmi les pressions directes les plus élevées sur les espèces (Newbold et al., 2015). La région SEAk est un exemple de la façon dont les fluctuations climatiques historiques ont produit des schémas phylogénétiques majeurs (Sawyer et al., 2019 ; Stone et al., 2002), mais les récents changements anthropiques du paysage favorisent des déplacements spatiaux à fine échelle dans les schémas d'espèces. Un exemple est l'association signalée entre les pratiques de récolte du bois et les changements locaux dans la densité de la population de cerfs à queue noire de Sitka (*Odocoileus hemionus sitkensis*) (Albert & Schoen, 2013 ; Brinkman et al., 2011).

Les loups gris (*Canis lupus*) font partie des rares prédateurs supérieurs qui ont survécu aux changements environnementaux rapides du Pléistocène et aux pressions anthropiques intenses des derniers siècles (Barnosky et al., 2004 ; Dufresnes et al., 2018). L'espèce a une distribution holarctique couvrant une large gamme d'environnements, de la toundra aux déserts. Sur la base des **mitogénomes**, Loog et al. (2020) ont suggéré que les populations de loups existantes trouvent

leur origine dans une expansion de la population Béringienne débutant il y a environ 25 mille ans (ka) vers l'Eurasie et plus tard, vers 15 ka, vers l'Amérique du Nord. Cette expansion a conduit au remplacement des populations indigènes de loups du Pléistocène (Loog et al., 2020). Un scénario alternatif pour l'Amérique du Nord est que les loups existant sur le continent descendent d'une expansion pré-LGM hors de la Béringie suivie d'une expansion post-LGM vers le nord à partir d'un refugium glaciaire au sud du complexe de la calotte glaciaire Laurentide/Cordilleran (Koblmüller et al., 2016 ; Meachen et al., 2020). Dans l'ensemble, les signatures mitochondriales illustrent une histoire phylogéographique complexe pour les populations nord-Américaines et Eurasiennes existantes et une grande similarité génétique entre les loups d'Alaska et de Russie orientale (Ersmark et al., 2016 ; Koblmüller et al., 2016 ; Loog et al., 2020). Les données nucléaires, cependant, montrent deux clades de loups réciproquement monophylétiques (Fan et al., 2016 ; Pilot et al., 2019 ; Sinding et al., 2018), avec des signes de mélange intercontinental entre les populations de Sibérie orientale et d'Alaska (Sinding et al., 2018), ce qui correspond à leur plus grande proximité géographique avec la zone d'origine commune. Alors que les données nucléaires ont été largement explorées pour les populations nord-Américaines, peu d'études génétiques ont porté sur les loups de l'Extrême-Orient Russe (ci-après RFE ; mais voir Talala et al., 2020 et Vorobyevskaya & Baldina, 2011), ce qui limite notre compréhension des modèles démographiques et phylogéographiques dans cette région. De même, les inférences basées sur les données mitochondriales par Loog et al. (2020) n'incluaient pas d'échantillons modernes de RFE.

Contrairement à la dichotomie mitochondriale entre les continents, un schéma cohérent est apparu en Amérique du Nord. Les données nucléaires et mitochondriales ont indiqué que les loups de la côte nord-ouest du Pacifique, y compris le SEAK, représentent un clade phylogéographique distinct des populations de l'intérieur (Carmichael et al., 2001 ; Cronin et al., 2015 ; Schweizer et al., 2016 ; Weckworth et al., 2005, 2010, 2011). On a d'abord supposé que cette différenciation représentait les restes de la colonisation de l'Amérique du Nord avant le LGM qui s'est étendue au SEAK au début de l'Holocène, tandis que les loups qui se sont étendus à partir du refugium Béringien après le LGM auraient contribué aux populations existantes du Nord-Ouest de l'Amérique du Nord (ci-après NNA) (Weckworth et al., 2010). Cependant, l'étude récente de Loog et al. (2020) comparant les mitogénomes anciens et contemporains a révélé que les loups SEAK existants sont porteurs de la même lignée d'ADNmt que les loups qui se sont étendus hors de la Béringie après le LGM. De plus, les loups SEAK présentent des niveaux de diversité génétique très faibles par rapport à leurs homologues de l'intérieur des terres, ce qui suggère soit un flux génétique réduit avec les populations de l'intérieur des terres les plus proches, soit une dérive génétique importante en raison de la petite taille de la population fondatrice (Weckworth et al., 2011). Cependant, des inférences démographiques antérieures basées sur des données microsatellites n'ont montré aucun signe de goulots d'étranglement récents ou historiques dans la population SEAK (Weckworth et al., 2005).

Dans cette étude, nous présentons une analyse démographique et génétique des populations de loups existantes des deux côtés du détroit de Béring. Notre objectif était d'évaluer la diversité génétique et les modèles de structure de ces populations et de comprendre la contribution des processus historiques et contemporains qui façonnent leur histoire démographique. Nous avons émis l'hypothèse que (1) les populations RFE et NNA ont divergé avant l'expansion hors de la Béringie (Loog et al., 2020), en accord avec l'importante hétérogénéité climatique et géomorphologique à travers la Béringie durant cette période. En outre, nous avons émis l'hypothèse que (2) la différenciation connue entre les loups NNA de l'intérieur et ceux de la côte

est plus ancienne que ce qui serait anticipé par leur lignée mitochondriale commune (Loog et al., 2020), étant donné le soutien moléculaire et écologique élevé pour la divergence (par exemple, Weckworth et al., 2011). Enfin, nous avons émis l'hypothèse que (3) les loups de RFE, et de l'intérieur du NNA ont une diversité génétique plus élevée que ceux de SEAk, qui sont géographiquement limités par et ont probablement subi des impacts négatifs des changements anthropiques récents des paysages. Pour vérifier nos hypothèses, nous avons utilisé un échantillon complet de loups provenant de populations situées autour du détroit de Béring, ainsi que des profils de polymorphisme nucléotidique unique (SNP) à l'échelle du génome, pour (a) évaluer la structure et la diversité génétique de ces populations, (b) estimer les temps de divergence entre les populations, (c) déduire les fluctuations passées et récentes de la taille effective de la population (N_e), et (d) identifier les signatures génétiques des changements démographiques récents.

2 | MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 | Échantillonnage et génotypage

Nous avons généré des données originales pour 65 loups gris provenant de deux régions de la RFE, 42 individus de Yakutia et 23 de Chukotka (Figure 1 ; Tableau S1). Les échantillons de tissus musculaires ont été prélevés sur des loups trouvés morts ou abattus légalement à des fins autres que la recherche dans la zone d'étude, où l'espèce est classée comme gibier. CIBIO/INBIO est une institution certifiée CITES (PT008). Les extraits d'ADN de ces échantillons ont été obtenus à l'aide du kit DNEASY Blood and Tissue (Qiagen). Ensuite, les échantillons ont été génotypés avec la puce CanineHD BeadChip (Illumina, Inc.) comprenant plus de 170 000 SNP à l'échelle du génome.

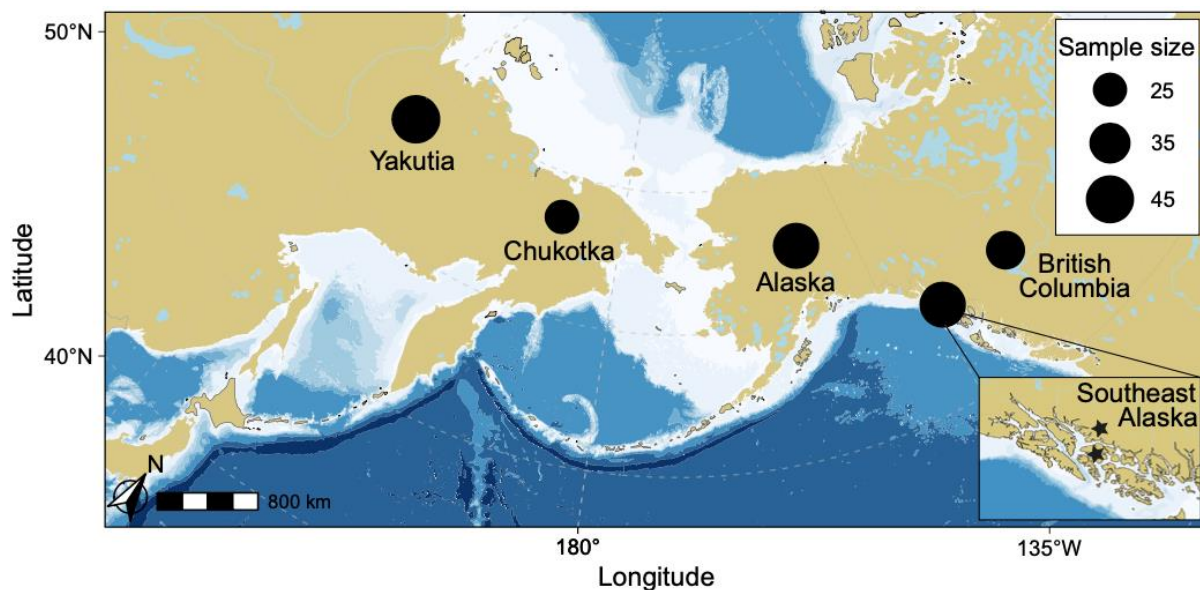


FIGURE 1. Carte du détroit de Béring et des zones contiguës en Eurasie et en Amérique du Nord montrant les emplacements géographiques approximatifs des échantillons et les tailles des échantillons des populations de loups gris utilisés dans cette étude : Yakoutie ($n = 42$) et Chukotka ($n = 23$; Extrême-Orient Russe ; RFE) ; Alaska ($n = 37$) et Colombie-Britannique ($n = 31$; Nord-Ouest de l'Amérique du Nord ; NNA). L'encart représente un agrandissement de la zone d'étude dans le sud-Est de l'Alaska ($n = 37$; NNA), où les deux étoiles représentent la région côtière et l'île Koproanof. Le bleu pâle indique les régions dont le niveau de la mer est suffisamment bas pour avoir été une terre exposée pendant le dernier maximum glaciaire (profondeur de la mer <120 m)

L'appel au génotype a été effectué à l'aide du logiciel GenomeStudio (Illumina) en suivant les directives d'Illumina (GenomeStudio, Genotyping Module version 2.0 Software Guide, 2016), et exporté au format plink (Purcell et al., 2007) avec un taux de génotypage total final de 0,961. En outre, les profils pangénomiques de 105 loups de NNA génotypés avec le même panel de SNP par

Cronin et al. (2015) et Medrano et al. (2014) ont été inclus dans notre ensemble de données. Les échantillons du NNA comprenaient deux régions intérieures, l'Alaska ($n = 37$) et la Colombie-Britannique (BC, $n = 31$), et la région côtière du SEAk ($n = 37$, région côtière plus l'île Kopyreanof, Figure 1 ; Tableau S1). Les ensembles de données ont été homogénéisés selon la méthode d'appel de SNP « TOP/BOT » (Illumina, Inc., 2006), et fusionnés à l'aide de Plink 1.9 (Purcell et al., 2007).

Les loci monomorphes et les loci pour lesquels il manquait plus de 5 % de données ont été exclus de l'ensemble final de données fusionnées. La parenté entre les individus au sein de chacune des cinq régions d'échantillonnage a été évaluée à l'aide des distances d'identité par descendance calculées dans Plink 1.9. Les individus dont la parenté par paire était supérieure à $r = 0,30$ et dont plus de 10 % des génotypes étaient manquants ont été exclus. Pour s'assurer que les loups inclus dans cette étude étaient génétiquement distincts des chiens, nous avons également réalisé une analyse en composantes principales (ACP) préliminaire à l'aide du paquet adegenet (Jombart, 2008) dans R 4.0.3 (R Core Team, 2020), incluant tous les loups utilisés dans cette étude ainsi que 36 génotypes de chiens de race mixte pour le même panel de SNP de Cronin et al. (2015) et Medrano et al. (2014) (Figure S1). L'ensemble de données final comprenait 147 loups génotypés pour 91 327 SNP autosomiques (désormais 91K).

2.2 | Structure et différenciation de la population...

2.3 | Diversité génétique des populations...

2.4 | Relations phylogénétiques et datation de divergence...

2.5 | Changements de la taille effective de la population au fil du temps...

3 | RÉSULTATS

3.1 | Dédutions relatives à la population

L'analyse de regroupement par maximum de vraisemblance basée sur 56K SNP a révélé des erreurs de validation croisée faibles et très similaires pour les modèles à trois, quatre et cinq populations. Le modèle pour $K = 3$ a séparé les populations RFE, NNA de l'intérieur et SEAk. Les modèles pour $K = 5$ ont subdivisé davantage les RFE et les NNA de l'intérieur en quatre groupes distincts, en accord avec la distribution géographique des échantillons (Figures 1 et 2a). Les résultats d'EvalAdmix ont montré que le modèle à cinq populations présentait le plus faible niveau de résidus (Figure S3). L'ACP basée sur le même ensemble de données a indiqué une distinction claire entre les continents le long du premier axe, tandis que le deuxième axe différenciait davantage les populations au sein du NNA (Figure 2b). Une ACP indépendante pour chaque continent a corroboré la différenciation entre les cinq populations, conformément à l'analyse d'admixtion (Figure 2 c, d). Malgré la répartition des échantillons dans différentes populations selon l'origine géographique, les résultats montrent une signature claire du flux génétique entre les populations voisines au sein de chaque continent, et des signes résiduels d'ascendance partagée intercontinentale. Cependant, comme les inférences génétiques en aval nécessitent l'hypothèse de populations discrètes, nous avons considéré les cinq populations les plus probables : Yakutia, Chukotka, Alaska, BC et SEAk.

Les valeurs de F_{ST} par paires les plus élevées ont été observées entre les populations RFE et SEAk, tandis que les comparaisons au sein des populations RFE et des populations NNA intérieures ont montré les valeurs les plus faibles (Tableau 1). Les estimations par paires entre les populations RFE et les populations NNA de l'intérieur sont très similaires aux valeurs observées entre les populations

NNA de l'intérieur et les populations NNA côtières. La divergence génétique moyenne entre les populations a montré les valeurs les plus élevées entre les populations RFE et NNA et, contrairement aux estimations F_{ST} , des valeurs similaires par paires entre les trois populations NNA (Tableau 1). Les statistiques de divergence moyenne telles qu'estimées par EIGENSOFT ne corrigent pas la divergence intra-population, ce qui est probablement la raison des différences observées entre ces estimations et le F_{ST} . La divergence moyenne la plus élevée au sein d'une population a été observée en Yakoutie, tandis que la plus faible a été observée pour la population SEAk (Tableau 1). Les autres populations ont montré des valeurs intermédiaires, plus proches de 1.

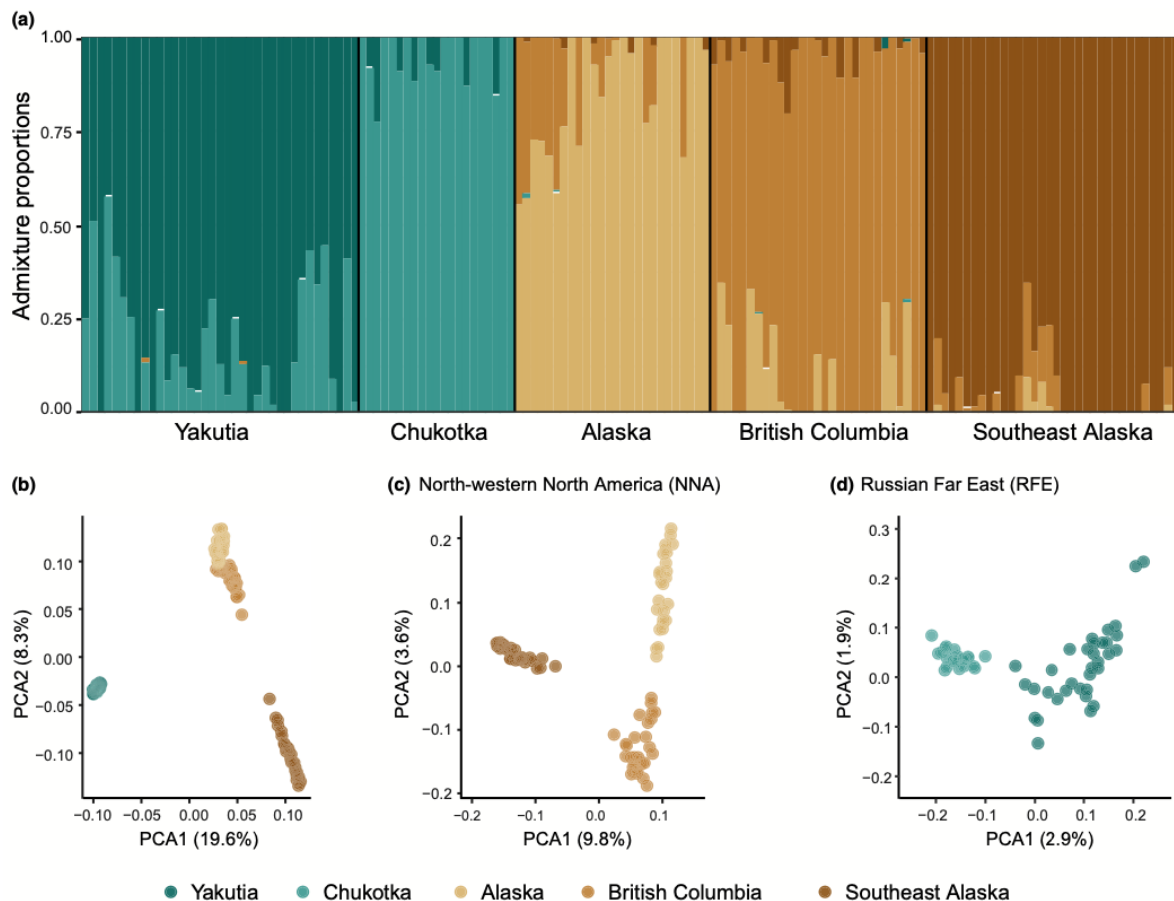


FIGURE 2. Analyses de la structure de la population de loups gris autour du détroit de Béring basées sur les SNP 56K. (a) Résultats d'admixture pour $K = 5$. (b) Analyse en composantes principales (ACP) utilisant tous les individus échantillonnés. (c) ACP utilisant uniquement les individus d'Amérique du Nord ; (d) ACP utilisant uniquement les individus de l'Extrême-Orient Russe. SNP, polymorphisme nucléotidique simple

TABLEAU 1. Différenciation génétique par paires (F_{ST}) et divergence entre les populations de loups calculées dans EIGENSOFT pour les cinq régions d'échantillonnage

	Russian Far East		North-western North America		
	Yakutia	Chukotka	Alaska	British Columbia	Southeast Alaska
Yakutia	1.28	0.04	0.15	0.14	0.24
Chukotka	1.27	1.09	0.17	0.16	0.26
Alaska	1.42	1.36	0.95	0.05	0.17
British Columbia	1.43	1.37	1.06	0.99	0.14
Southeast Alaska	1.46	1.40	1.11	1.06	0.69

3.2 | Diversité génétique

L'hétérozygotie individuelle observée varie de 0,12 à 0,31 ($\bar{x} = 0,26 \pm 0,04$ [SD] ; Figure 3a), la population de Yakoutie présentant les valeurs les plus élevées et la population de SEAk les plus faibles. Les tests de Wilcoxon-Mann-Whitney entre les paires de populations étaient significatifs ($p < 0,05$) pour toutes les populations sauf l'Alaska et la Colombie-Britannique. Les quatre populations de l'intérieur (Yakutia, Chukotka, Alaska et BC) ont montré des courbes de décroissance de LD atteignant $r^2 = 0,3$ après 25 kb, alors que la décroissance de LD du SEAk était beaucoup plus lente, atteignant seulement des valeurs de $r^2 = 0,3$ après 200 kb (Figure 3b).

Les loups SEAk ont présenté les coefficients de consanguinité moyens (FHBD) les plus élevés, significativement différents de ceux de toutes les autres populations (test de Wilcoxon-Mann-Whitney, $p < 0,05$), ainsi que la variance la plus élevée pour ce paramètre, allant de 0,15 à 0,57 ($\bar{x} = 0,30 \pm 0,10$; Figure 3c). En revanche, les quatre populations de l'intérieur des terres ont montré des niveaux très réduits de FHBD. Pour explorer l'influence de la consanguinité (mesurée par les valeurs de FHBD) sur la différenciation des populations de loups SEAk, nous avons comparé les coordonnées PCA de chaque individu à sa valeur FHBD respective en suivant Smeds et al. (2020). Certains des individus SEAk les plus divergents présentaient des valeurs FHBD élevées, mais il n'y avait pas d'association claire entre la FHBD d'un individu et sa position sur l'ACP (Figure S4). Cela suggère que la différenciation observée de la population n'est pas un résultat direct de la dérive génétique associée à des niveaux élevés de consanguinité.

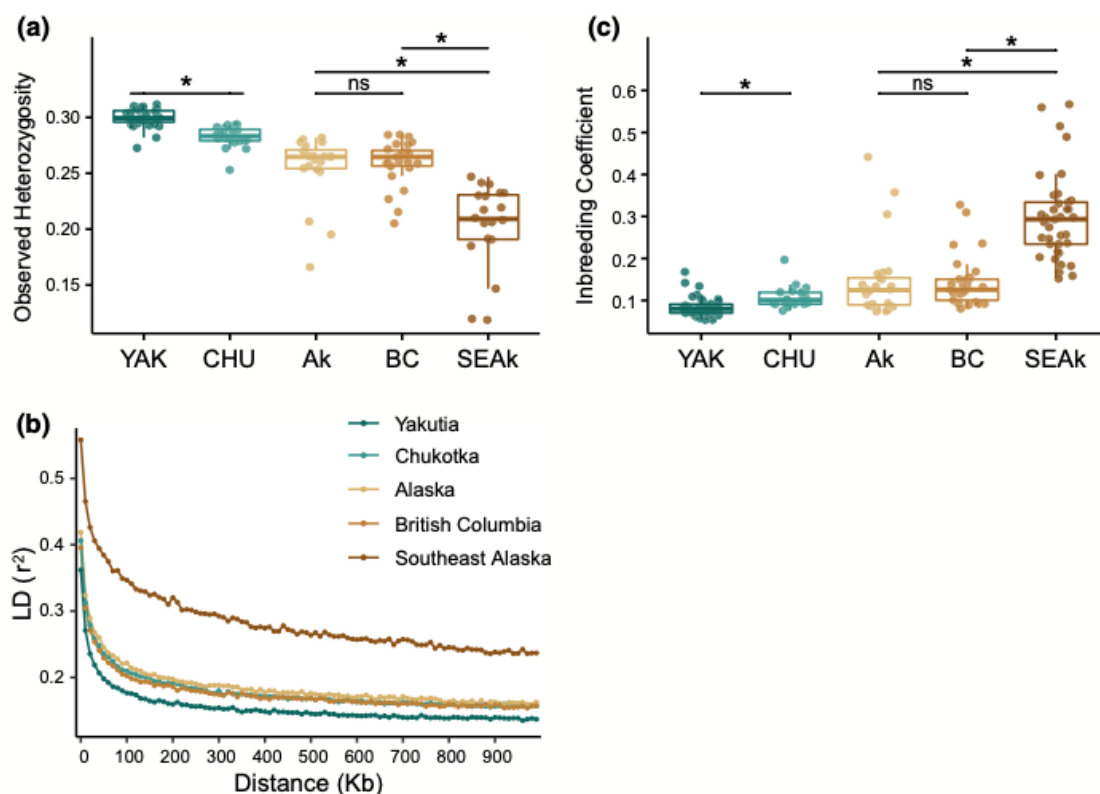


FIGURE 3. Modèles de diversité génétique pour les deux populations de l'Extrême-Orient russe (RFE) : Yakutia (YAK) et Chukotka (CHU) ; et les trois populations de loups du Nord-Ouest de l'Amérique du Nord (NNA) : Alaska (Ak), British Columbia (BC) et Southeast Alaska (SEAk). (a) Moyenne et distribution de l'hétérozygotie observée ; (b) Étendue du déséquilibre de liaison, représentée par le coefficient d'association génotypique moyen r^2 en fonction de la distance inter-SNP ; (c) Moyenne et distribution de la FHBD individuelle. La signification a été calculée en effectuant un test de Wilcoxon-Mann-Whitney : ns, non significatif, *signification à $p < 0,05$. HBD, homozygotie par descendance ; SNP, polymorphisme nucléotidique simple

3.3 | Relations phylogénétiques et temps de divergence

Les relations phylogénétiques entre les populations déduites par l'analyse bayésienne de coalescence ont montré une division primaire entre les populations NNA et RFE (Figure 4 ; Figures S5 et S6). Cette divergence a été datée d'environ 34,4 ka (95 % des plus hautes densités postérieures [HPD] 31,4-37,7), soit environ 10 ka avant le LGM. La relation entre les populations de NNA a montré une première divergence entre les populations côtières et intérieures, suivie par la divergence entre l'Alaska intérieur et la Colombie-Britannique. La divergence entre les populations de l'Alaska et de l'intérieur des terres s'est produite vers 16 ka, peu de temps après le LGM (Clark et al., 2009). Le moment de la divergence des populations continentales au sein de la NNA était très similaire à celui observé pour les populations de la RFE, se produisant autour de 10 ka, et les estimations de temps pour les deux événements ont des IC qui se chevauchent (Figure 4). Tant pour la NNA que pour la RFE, cette divergence des populations correspondait aussi largement à la transition Pléistocène-Holocène (Figure 4).

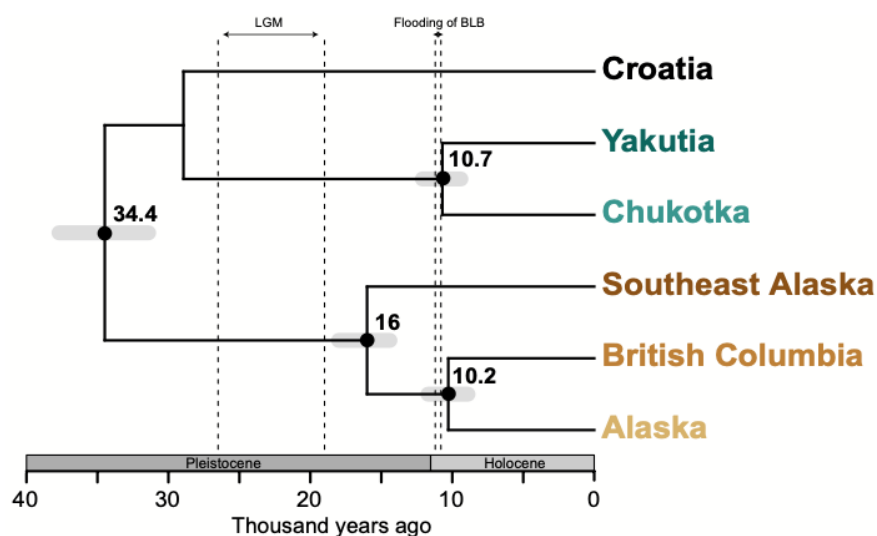


FIGURE 4. Chronogramme des populations de loups à partir de l'analyse par coalescence bayésienne des données SNP utilisant SNAPP. Les âges médians en milliers d'années sont indiqués au-dessus des nœuds, avec les densités postérieures les plus élevées (HPD) à 95 % représentées par des barres grises dans les nœuds. L'axe des x correspond au temps avant le présent en milliers d'années. Les lignes verticales en pointillés indiquent les intervalles du dernier maximum glaciaire (LGM) et le moment estimé de l'inondation du pont terrestre de Bering (BLB). SNP, polymorphisme nucléotidique simple

3.4 Histoire démographique

Pour les populations RFE et NNA de l'intérieur des terres, STAIRWAY Plot a reconstruit des processus continus de déclin démographique jusqu'au milieu de l'Holocène, passant à une tendance démographique stable avec un N_e constant entre 5 et 4 ka (Figure 5a ; Figure S7). Au cours des mille dernières années, les quatre populations de l'intérieur des terres ont montré une signature de N_e faible (Figure 5a ; Figure S7). Pour la population SEAk, le STAIRWAY Plot a déduit des valeurs de N_e constamment plus faibles par rapport aux quatre autres populations intérieures, ainsi qu'une tendance démographique stable avec un N_e constant jusqu'à environ 15 ka, lorsque la population a commencé à décliner (Figure 5a ; Figure S7).

Les résultats de l'analyse GONE ont permis d'améliorer la résolution des fluctuations les plus récentes (<1 ka) de N_e , révélant un schéma général de déclin pour toutes les populations, en particulier au cours des 300 dernières années (Figure 5b ; Figure S8). Les déductions pour les deux populations RFE ont montré qu'elles ont toutes deux subi un fort déclin il y a environ 150 ans (ya).

Pour la Yakoutie, ce déclin était plus prononcé, car cette population avait atteint une taille considérablement plus importante que celle de la Chukotka au cours des siècles précédents. Parmi les populations de NNA de l'intérieur des terres, la Colombie-Britannique a connu un déclin démographique plus récent, entre 350 et 150 ans, que l'Alaska, qui a connu un déclin entre 600 et 400 ans (Figure 5b ; Figure S8). Cependant, cette dernière a connu un déclin ultérieur vers 100 ans. Les loups du SEAk ont montré un déclin moins marqué et plus continu de leur population, qui a commencé vers 600 ans et s'est poursuivi jusqu'au début des années 1990 (Figure 5b ; Figure S8).

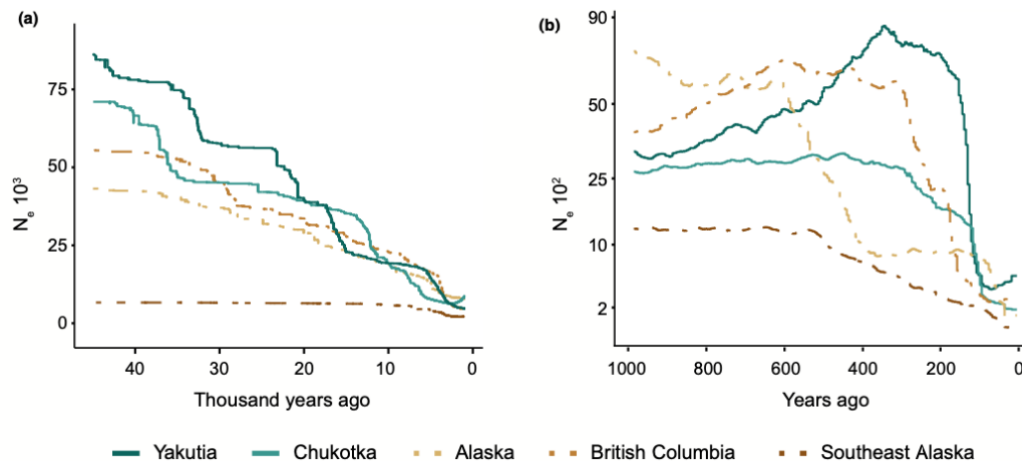


FIGURE 5. Reconstruction de l'histoire démographique de chaque population de loups avec des estimations historiques et récentes de la taille effective de la population (N_e). (a) Estimations historiques de la N_e temporelle déduites à l'aide du STAIRWAY Plot et (b) estimations récentes (<1 ka) de la N_e temporelle déduites à l'aide du gène. Les lignes indiquent la médiane des estimations de N_e , tracées du passé au présent. Les lignes pleines représentent les populations de l'Extrême-Orient Russe (RFE) et les lignes pointillées les populations du Nord-Ouest de l'Amérique du Nord (NNA). Les intervalles de confiance à 95 % associés à chaque estimation temporelle sont présentés dans les figures S7 et S8

3.5 Caractérisation des niveaux individuels de consanguinité

Afin d'explorer davantage les conséquences génétiques possibles de l'histoire démographique de ces populations, nous avons caractérisé les segments individuels observés de la DHB sur la base de la longueur des segments (Figure 6). Cette analyse a révélé des schémas similaires entre les populations voisines (Yakutia/Chukotka et Alaska/BC), et une signature très différente pour SEAk. Dans les populations RFE, la longueur moyenne des segments HBD était de $1,6 \pm 3,3$ Mb pour la Yakoutie et de $1,9 \pm 3,1$ Mb pour le Chukotka, la plupart des fragments étant inférieurs à 1 Mb (médianes de 7 et 9 kb respectivement, Figure 6a). En conséquence, les proportions individuelles de segments HBD étaient principalement associées à des classes HBD avec des taux élevés, $R_k = 256$ pour Chukotka et $R_k = 512$ pour Yakutia (Figure 6b), ce qui signifie que la plupart des segments HBD observés dans ces populations remontent à des ancêtres d'environ 128 et 256 générations pour Chukotka et Yakutia, respectivement.

En NNA, l'Alaska et la Colombie Britannique présentaient une longueur moyenne du DBC de $2,8 \pm 5,4$ Mb, mais comme pour les populations RFE, la plupart des segments étaient inférieurs à 1 Mb (médiane = 1 Mb, Figure 6a). Cependant, contrairement aux populations RFE, l'Alaska et la Colombie Britannique ont montré un plus large éventail d'événements consanguins ancestraux (Figure 6 b, c). La plupart des individus présentaient des preuves d'événements de consanguinité survenus il y a 128 générations ou plus ($R_k \geq 256$, Figure 6b), mais un petit nombre d'individus présentaient des fragments HBD plus longs traçant leur origine à des ancêtres il y a 16 générations ou moins ($R_k \leq 32$). Les loups SEAk ont présenté la plus forte proportion de segments HBD à

l'échelle du génome, ce qui reflète une longueur moyenne de segment de $4,5 \text{ Mb} \pm 2,1$ et une médiane de $2,1 \text{ Mb}$ (Figure 6a). **Contrairement aux autres populations, il y avait peu de signes d'événements de consanguinité survenus il y a plus de 64 générations** ($R_k = 128$). Au lieu de cela, tous les individus SEAk présentait une proportion élevée de segments HBD plus longs dans l'ensemble du génome, provenant d'ancêtres datant de 32 générations ou moins ($R_k \leq 64$, Figure 6 b, c).

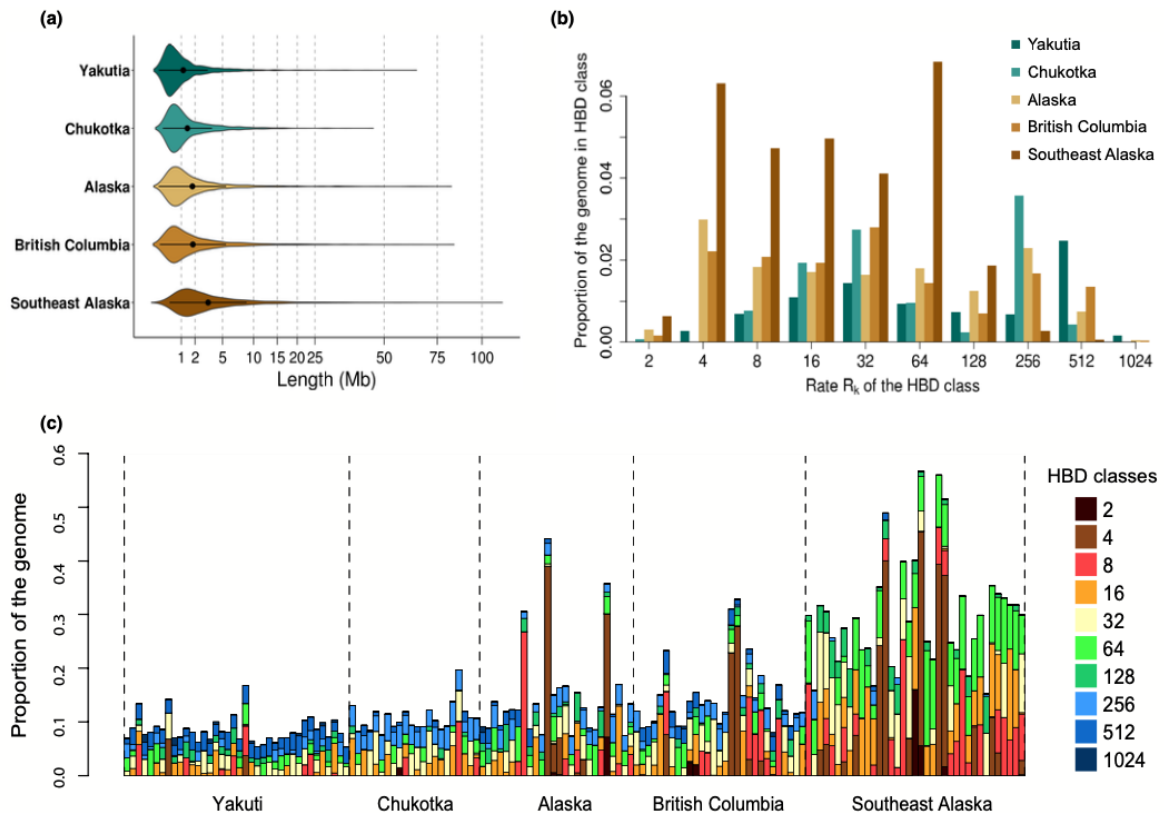


FIGURE 6. Caractérisation des niveaux de consanguinité des individus et des populations de loups gris. (a) Distribution de la longueur en Mb des segments d'homozygotie par descendance (HBD) dans chaque population. La partie intérieure de chaque diagramme violon représente la moyenne et l'écart-type de la distribution. (b) Proportion génomique de chaque population associée à différentes classes d'HBD. Chaque barre représente la proportion génomique individuelle moyenne par population associée à une classe de DBC spécifique. Le taux (R_k) d'une classe DHB est approximativement égal à deux fois le nombre de générations depuis l'ancêtre commun. Par exemple, une classe avec un R_k égal à huit correspond à des ancêtres vivants il y a environ quatre générations. (c) Partitionnement des génomes individuels dans différentes classes de DBC. Chaque barre représente un individu, et la hauteur des différentes piles représente la proportion du génome associée à chaque classe HBD. Les couleurs des barres représentent les taux (R_k) associés à chaque classe de DBC

4 | DISCUSSION

Le principal objectif de cette étude était de fournir une vue d'ensemble de la diversité, de la différenciation et de l'histoire démographique des populations de loups existantes autour du détroit de Béring et d'étendre nos connaissances sur les populations RFE. **En décrivant les fluctuations passées de N_e pour chaque population, nous avons trouvé un synchronisme temporel dans la démographie des populations intérieures des deux continents.** En revanche, la population côtière de SEAk a montré un modèle démographique distinct avec une taille de population constamment plus faible par rapport à ses homologues continentaux. **Les estimations du temps de divergence ont montré que les populations NNA et RFE se sont séparées avant le LGM (vers 34 ka).** L'événement de divergence le plus ancien au sein des continents correspondait à la scission entre les populations SEAk et NNA de l'intérieur des terres, datant d'environ 16 ka. **Cette estimation**

indique qu'une ancienne divergence associée à de multiples expansions hors de la Béringie a pu contribuer à la profonde différenciation entre les populations NNA de l'intérieur et de la côte. Nous avons également constaté une réduction de la diversité génétique sur un gradient géographique allant de RFE vers NNA, les loups SEAk présentant la diversité génétique la plus faible et l'homozygotie la plus élevée à l'échelle du génome, associée à un déclin récent de la taille de la population.

4.1 | Histoire de la divergence des populations et des tendances démographiques

Nos résultats montrent que les populations RFE et NNA ont partagé un ancêtre commun jusqu'à 34,4 ka (95 % HPD 31,4-37,7), et que leur divergence a suivi un déclin démographique qui a commencé vers 60 ka et a duré jusqu'au milieu de l'Holocène. Cela concorde avec notre première hypothèse selon laquelle la divergence entre les populations de loups d'Asie et d'Amérique du Nord est antérieure à l'expansion suggérée de 20 à 15 ka hors de la Béringie (Loog et al., 2020). La différence dans les estimations du temps de divergence peut suggérer l'existence d'une structure génétique dans la population Béringienne avant l'expansion, un modèle qui a également été suggéré pour la population Béringienne d'élan (*Alces alces*, Dussex et al., 2020). Ce schéma pourrait être dû à l'hétérogénéité de l'habitat et du climat entre la Béringie occidentale et la Béringie orientale à la fin du Pléistocène, qui a façonné au fil du temps les aires de répartition et les densités des espèces dans toute la Béringie (Dale Guthrie, 2001 ; Elias & Crocker, 2008 ; Kuzmina et al.) Cette hétérogénéité du paysage a également été associée à une baisse du taux de migration entre les populations de chevaux caballins (*Equus* spp.) de la Béringie occidentale et orientale au cours du Pléistocène moyen et tardif (Vershinina et al., 2021). Nos résultats semblent concorder, car les populations de RFE et de NNA intérieures présentent des tendances continues de déclin de la population dans la période avant et après le LGM. Bien que les loups soient très mobiles, une différenciation génétique des sous-populations vivant à proximité peut se produire en raison des caractéristiques de l'habitat, de la spécialisation des proies ou d'autres interactions écologiques et géographiques (Schweizer et al., 2016 ; Silva et al., 2018 ; Stronen et al., 2014). Notamment, les déductions basées sur l'analyse des isotopes stables des anciens loups Béringiens ont suggéré un certain niveau de spécialisation individuelle associé à la disponibilité locale des proies (Fox-Dobbs et al., 2008 ; Leonard et al., 2007 ; Meachen et al., 2020). Par conséquent, les fluctuations de la disponibilité des proies et de l'hétérogénéité de l'habitat pourraient avoir déclenché la diminution observée du N_e par le biais d'extinctions locales et de divergences ultérieures entre les populations ancestrales de loups RFE et NNA au sein de la Béringie. Néanmoins, il est également possible que la divergence observée entre les populations RFE et NNA résulte d'une expansion pré-LGM hors de la Béringie à travers le corridor du Yukon encore ouvert vers le centre de l'Amérique du Nord (Batchelor et al., 2019). Ce scénario est conforme aux conclusions de Koblmüller et al. (2016) basées sur les données mitochondriales, qui suggèrent que les loups nord-Américains existants descendent de loups qui ont persisté au sud des calottes glaciaires pendant le LGM. De plus, les archives fossiles du Wyoming (États-Unis) suggèrent que les loups Béringiens étaient présents dans cette région avant le LGM (Meachen et al., 2016). Nous notons cependant que cette hypothèse alternative est difficile à concilier avec les récentes découvertes de divergence mitochondriale observées chez les loups existants (Loog et al., 2020).

Après la divergence entre les continents, les loups du NNA se sont différenciés davantage en populations côtières et continentales distinctes, leur ancêtre commun datant d'environ 16 ka (95 % HPD 14,4-18). **Contrairement** à notre deuxième hypothèse, cette estimation place l'ancêtre des loups modernes dans la région côtière du SEAk après le LGM. En supposant un scénario de

divergence au sein de la Béringie, l'arrivée estimée est synchrone avec l'expansion vers l'Est de la Béringie suggérée précédemment et estimée à environ 16 ka sur la base des mitogénomes (Loog et al., 2020). Après le LGM, la route continentale entre les calottes glaciaires des Laurentides et de la Cordillère reliant la Béringie à l'Amérique du Nord continentale non glacée est devenue écologiquement viable vers 13 ka (Heintzman et al., 2016 ; Pedersen et al., 2016). Cependant, la rétraction du front oriental de la calotte glaciaire de la Cordillère a été beaucoup plus rapide, créant un corridor côtier écologiquement viable le long de la côte nord-ouest du Pacifique dès 17 ka (Darvill et al., 2018 ; Lesnek et al., 2018). Des preuves archéologiques et génétiques soutiennent l'hypothèse selon laquelle cette route côtière a été utilisée par les premiers humains migrant vers les Amériques vers 17 ka (Becerra-Valdivia & Higham, 2020 ; Moreno-Mayar et al., 2018 ; Pedersen et al., 2016). Le même schéma est également suggéré pour les premières lignées de chiens domestiqués, qui ont divergé de la lignée de Sibérie orientale vers 16 ka (da Silva Coelho et al., 2021). D'autres grands carnivores, tels que les ours bruns (*U. arctos*), pourraient également avoir utilisé cette route côtière pour atteindre la région SEAk vers 17 ka (Salis et al., 2021). Sur la base de la similitude entre notre estimation du temps de divergence pour les populations de NNA intérieures et côtières et celles décrites précédemment pour d'autres espèces, et de la concordance avec les preuves géomorphologiques d'une route côtière viable, les loups pourraient également avoir emprunté une telle route lors de leur expansion de la Béringie vers l'Amérique du Nord continentale. Néanmoins, en supposant une expansion vers le nord à partir d'un refugium méridional, le même couloir côtier non glacé aurait pu être utilisé avant l'ouverture de la route continentale entre les inlandis des Laurentides et de la Cordillère (Lesnek et al., 2018 ; Weckworth et al., 2010).

Les inférences démographiques au cours du dernier millénaire ont révélé une tendance négative commune à toutes les populations. Pour les deux populations RFE, nous avons observé un déclin synchronisé vers 150 ans, qui coïncide avec une augmentation des enregistrements historiques de chasse et la mise en place d'un système de primes à l'échelle du pays au début du 19^{ème} siècle visant à réduire considérablement le nombre de loups (Baskin, 2016 ; Graves, 2007). En revanche, le déclin plus précoce observé pour les populations de NNA pourrait avoir été associé aux oscillations climatiques du petit âge glaciaire, une période froide inhabituelle qui a duré du début du 14^{ème} siècle au milieu du 19^{ème} siècle (Forbes et al., 2020). Au cours de cette période, l'expansion des nappes glaciaires et des glaciers ainsi que la baisse des températures ont très probablement influencé les aires de répartition des espèces, leurs déplacements et la disponibilité des ressources (par exemple, le caribou ; Gigeux et al., 2019). En outre, l'utilisation anthropique des terres, comme les pratiques de feu par les communautés autochtones, en particulier le long de la côte (Hoffman et al., 2017), et l'exploitation forestière extensive, l'agriculture et le pâturage du bétail associés à l'arrivée des Européens dans la région vers la fin des 18^{ème} et 19^{ème} siècles (Turner et al., 2013), pourraient avoir contribué directement ou indirectement aux déclinés de population observés. Cependant, la mesure dans laquelle les effets environnementaux et/ou anthropiques ont pu influencer les effectifs de loups dans les populations de NNA n'est pas claire et nécessiterait des investigations supplémentaires.

4.2 | Diversité génétique et conséquences du déclin de la population

Les loups RFE et les loups NNA intérieurs présentaient une hétérozygotie et des coefficients de consanguinité similaires, comparables aux valeurs précédemment décrites pour d'autres populations existantes en Europe de l'Est et en Amérique du Nord (Pilot et al., 2014 ; vonHoldt et al., 2011). Conformément à notre troisième hypothèse, les loups SEAk ont montré les plus faibles

niveaux de diversité génétique et des coefficients de consanguinité plus élevés, révélant une signature génétique du déclin persistant de la taille effective de la population, en particulier au cours des 64 dernières générations (environ 280 ans). La même dichotomie entre les populations intérieures et côtières a été observée pour les schémas de décroissance du DL. Les populations de l'intérieur des terres ont montré une décroissance rapide avec la distance physique, suggérant un N_e historiquement important comparable aux modèles décrits pour les populations de loups de l'Est de l'Eurasie et du nord-ouest des États-Unis (Pilot et al., 2014, 2019). En revanche, la population côtière a montré un DL beaucoup plus fort et une décroissance du DL considérablement plus lente, ce qui suggère une population petite et consanguine (Hedrick et al., 2014).

Les différences observées en matière de diversité et de DL pour les populations intérieures et côtières peuvent, au moins partiellement, résulter du paysage. Les populations de l'intérieur des terres ne sont pas isolées géographiquement, et le flux génétique entre les populations voisines au sein de chaque continent n'est pas limité, comme le suggèrent les faibles valeurs de F_{ST} par paire. Dans ces populations, la présence de flux génétiques, ainsi qu'une réduction de la persécution au cours du siècle dernier (Bragina et al., 2015 ; Hayes & Harestad, 2000 ; Mech, 1970), peuvent avoir amorti les effets d'un déclin démographique passé (Hayes & Harestad, 2000) et favorisé la stabilisation à une taille de population inférieure. En revanche, les loups SEAk côtiers habitent un paysage naturellement fragmenté, bordé à l'Est par la chaîne côtière, ce qui limite le flux génétique avec les populations voisines (Person et al., 1996 ; Schweizer et al., 2016). Au cours des dernières décennies, cette région a également connu de graves changements dus aux activités humaines telles que l'exploitation forestière et la construction de routes, réduisant l'habitat et la disponibilité des proies et limitant la connectivité dans un habitat déjà naturellement fragmenté (Albert & Schoen, 2013 ; Roffler et al., 2018). **Contrairement à d'autres populations, SEAk a révélé un déclin continu de la population, qui a commencé vers 600 ya et qui dure jusqu'à aujourd'hui.** Associé à des facteurs écologiques et de paysage, ce déclin pourrait avoir déclenché l'augmentation observée des événements de consanguinité au cours des 280 dernières années, entraînant une homozygotie accrue. De telles tendances **d'érosion génétique** et de réduction du flux génétique sont associées à un risque accru de dépression de consanguinité (Newman & Pilson, 1997 ; Roelke et al., 1993), comme décrit précédemment pour les loups Scandinaves et de l'île Royale, où la dépression de consanguinité menace la persistance de la population (Kardos et al., 2018 ; Robinson et al., 2019).

4.3 | Conclusions et perspectives d'avenir

Les grands prédateurs jouent un rôle clé dans la structuration des écosystèmes terrestres par une interaction de forces descendantes et ascendantes le long des associations trophiques. Un tel rôle a été décrit à travers les écosystèmes modernes et historiques, de la régulation de la taille des populations de mégaherbivores du Pléistocène empêchant la destruction de l'habitat associée au pâturage extensif (par exemple, Van Valkenburgh et al., 2016) à l'effet de cascade trophique de la réintroduction du loup dans le parc national de Yellowstone à la fin du 20^{ème} siècle après une absence de 70 ans (Ripple & Beschta, 2012). La mise en lumière de l'histoire démographique des populations de grands carnivores à différentes échelles temporelles et spatiales peut aider à déduire les changements évolutifs passés des espèces, des communautés et des écosystèmes et à informer les actions de conservation et de gestion.

Les évaluations des fluctuations démographiques des populations de loups gris se sont principalement concentrées sur des régions et des périodes historiques mondiales ou à grande

échelle, rendant les évaluations régionales et les périodes plus récentes difficiles à extrapoler. Nos résultats offrent une vision au niveau de la population de l'histoire évolutive des loups existants vivant autour des populations de loups NNA et RFE tout au long du Pléistocène et de l'Holocène, reflétant probablement des fluctuations climatiques anciennes à grande échelle et des facteurs anthropiques plus récents. De plus, nous avons vérifié la différenciation des loups SEAk, ce qui concorde avec la colonisation de cette région par la route côtière Pacifc Nord-Ouest post-LGM. Enfin, nous avons démontré que les loups SEAk présentent des signes d'érosion génétique associés à une consanguinité élevée et à un déclin continu de la population au cours des dernières années.

Néanmoins, des études futures, comprenant un échantillonnage géographique, temporel et génomique plus complet, seraient nécessaires pour clarifier davantage les tendances de population observées. Par exemple, un échantillonnage temporel plus large de la population de loups d'Alaska serait nécessaire pour déterminer le rôle relatif des différents facteurs qui ont pu contribuer à l'histoire démographique distincte de cette population au cours des derniers siècles. De plus, comme les données des puces SNP peuvent être affectées par le schéma de vérification utilisé pour la découverte des variantes, nous reconnaissons que l'élargissement de l'information génétique par des données sur le génome entier permettrait d'explorer davantage les modèles décrits ici en mettant en œuvre d'autres approches méthodologiques telles que les **inférences démographiques** pilotées par un modèle. Enfin, une étude détaillée de la population SEAk, comprenant des données génétiques et écologiques, serait nécessaire pour tester l'hypothèse d'une dépression consanguine et son impact sur la persistance de cette lignée évolutive écologiquement et génétiquement distincte, adaptée à l'habitat côtier unique du Nord-Ouest du Pacifique.