

# Les épidémies sélectionnent le choix du partenaire et la couleur du pelage chez les loups

## RESEARCH

Cubaynes et al., *Science* 378, 300–303 (2022) 21 October 2022

## WILDLIFE DISEASE

Science

## Disease outbreaks select for mate choice and coat color in wolves

Sarah Cubaynes<sup>1\*</sup>, Ellen E. Brandell<sup>2</sup>, Daniel R. Stahler<sup>3</sup>, Douglas W. Smith<sup>3</sup>, Emily S. Almberg<sup>4</sup>, Susanne Schindler<sup>5</sup>, Robert K. Wayne<sup>6</sup>, Andrew P. Dobson<sup>7,8</sup>, Bridgett M. vonHoldt<sup>7</sup>, Daniel R. MacNulty<sup>9</sup>, Paul C. Cross<sup>10</sup>, Peter J. Hudson<sup>2</sup>, Tim Coulson<sup>11</sup>

<sup>1</sup>CEFE, University of Montpellier, CNRS, EPHE-PSL University, IRD, 34090 Montpellier, France. <sup>2</sup>Center for Infectious Disease Dynamics, Department of Biology, Pennsylvania State University, State College, PA 16802, USA. <sup>3</sup>Yellowstone Center for Resources, Yellowstone National Park, WY 82190, USA. <sup>4</sup>Wildlife Division, Montana Fish Wildlife & Park, Bozeman, MT 59718, USA. <sup>5</sup>School of Biological Sciences, University of Bristol, Bristol BS8 1QU, UK. <sup>6</sup>Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of California, Los Angeles, Los Angeles, CA 90095, USA. <sup>7</sup>Department of Ecology and Evolutionary Biology, Princeton University, Princeton, NJ 08544, USA. <sup>8</sup>Santa Fe Institute, Santa Fe, NM 87501, USA. <sup>9</sup>Department of Wildland Resources and Ecology Center, Utah State University, Logan, UT 84322, USA. <sup>10</sup>US Geological Survey, Northern Rocky Mountain Science Center, Bozeman, MT 59715, USA. <sup>11</sup>Department of Biology, University of Oxford, Oxford OX1 3SZ, UK.

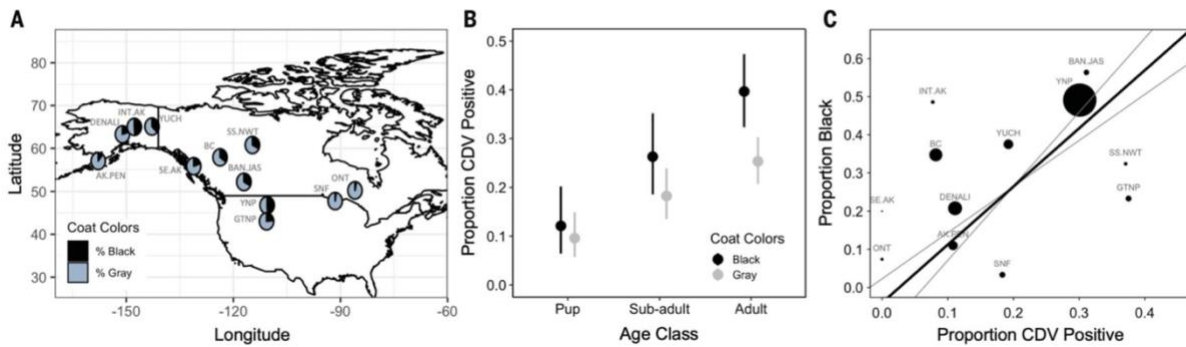
\*Corresponding author. Email: sarah.cubaynes@cefe.cnrs.fr

## Résumé

Nous en savons beaucoup sur l'évolution des agents pathogènes et l'émergence de nouvelles souches de maladies, mais moins sur la résistance de l'hôte et la manière dont elle est signalée aux autres individus et ensuite maintenue. Le cline de la fréquence des loups à pelage noir (*Canis lupus*) en Amérique du Nord est supposé résulter d'une relation avec les épidémies de virus de la maladie de Carré (CDV). Nous avons testé cette hypothèse en utilisant des données transversales provenant de populations de loups d'Amérique du Nord dont la prévalence de CDV et de l'allèle qui rend le pelage noir, de données longitudinales du parc national de Yellowstone et de modélisation. Nous avons constaté que la fréquence des épidémies de CDV génère une sélection fluctuante qui se traduit par un avantage hétérozygote qui, à son tour, affecte la fréquence de l'allèle noir, le comportement d'accouplement optimal et le cline des loups noirs à travers le continent.

La variation de la couleur des animaux est fréquemment utilisée pour évaluer la qualité des compagnons potentiels et leur adaptation aux conditions environnementales (1). Chez de nombreuses espèces, la couleur covarie avec des aspects de l'environnement tels que la latitude, le climat et la présence de parasites, de ressources alimentaires et de prédateurs spécifiques. La couleur d'un individu peut signaler sa condition ou son statut immunologique (2). Pour que les signaux soient sérieux, il faut que la coloration soit corrélée aux traits associés à la condition physique. Dans ces conditions, cela peut sélectionner des stratégies particulières de choix d'accouplement, car les individus choisissent des partenaires qui maximisent la condition physique attendue de leur progéniture (3). Lorsque l'environnement varie dans l'espace, générant un cline dans les pressions de sélection, cela pourrait conduire à une variation de la coloration au niveau du paysage (4) et à une variation spatiale dans les stratégies de comportement de choix du partenaire (5).

Bien que rares à des latitudes élevées, la fréquence des loups noirs augmente le long d'un cline sud-ouest vers les zones forestières en Amérique du Nord (6), les fréquences les plus élevées à chaque latitude étant observées le long des Montagnes Rocheuses (Fig. 1A). L'absence de barrières géographiques empêchant le flux génétique, associée à des signaux moléculaires de sélection, indique que la variation régionale de la couleur du pelage est due à un cline de pressions de sélection (7).



**Fig. 1. Occurrence de la CDV et de la couleur du pelage chez les loups en Amérique du Nord.** (A) Proportion de chaque phénotype de couleur de pelage. Les lieux d'échantillonnage des loups comprenaient la péninsule d'Alaska (AK.PEN), le parc national de Denali (DENALI), l'intérieur de l'Alaska (INT.AK), la réserve nationale de Yukon Charley Rivers (YUCH), le sud-est de l'Alaska (SE.AK), la Colombie-Britannique (BC), les Territoires du Nord-Ouest South Slave (SS.NWT), les parcs nationaux Banff et Jasper (BAN.JAS), le parc national Yellowstone (YNP), le parc national Grand Teton (GTNP), l'Ontario (ONT) et la Superior National Forest (SNF). YNP et GTNP sont décalés à des fins visuelles ( $n = 1274$ ) (19). (B) Proportion de jeunes loups, de loups subadultes et de loups adultes séropositifs pour la CDV parmi  $N = 1134$  dont l'âge et le sexe sont connus, provenant des populations de loups échantillonnées en (A). Sont également indiqués les intervalles de confiance à 95% (IC 95%). (C) Relation entre la prévalence de la CDV et la proportion de loups à la robe noire. La ligne noire épaisse est une régression restreinte du grand axe pondérée par la taille de l'échantillon, et les lignes grises montrent les limites à 95% de l'estimation de la régression. Les cercles sont mis à l'échelle de la taille de l'échantillon ( $N = 1166$ )

La couleur du pelage chez les loups (*Canis lupus*) est déterminée par le génotype du gène *CBD103* du locus *K* (8). L'allèle ancestral de type sauvage  $k$  permet une interaction normale entre les gènes *Agouti* et *Mc1r*, ce qui entraîne une couleur de pelage grise, tandis qu'une délétion de trois nucléotides dans le gène du locus *K* fait en sorte que la protéine empêche la fonction *Agouti*, ce qui entraîne une hérédité dominante d'un pelage noir (9). Après un seul événement d'introgession dans une population de loups d'Amérique du Nord au cours des 7250 dernières années, l'allèle noir a subi un **balayage sélectif**, révélant l'une des diffusions les plus rapides d'une variante adaptative connue chez les vertébrés (10). L'homozygote  $KK$  et l'hétérozygote  $Kk$  ont un pelage noir indiscernable mais des fitness très différents (11). Par conséquent, le phénotype de la couleur du pelage n'est pas lui-même soumis à une sélection directe, mais l'allèle noir doit avoir une fonction qui affecte la fitness directement ou par des **effets pléiotropiques**, conférant un fort avantage sélectif dans certains environnements (7, 12). Comme le locus *K* code pour une protéine  $\beta$ -défensine qui joue un rôle direct dans l'immunité innée et adaptative chez les mammifères (13), nous postulons qu'il est impliqué dans l'immunité aux infections respiratoires telles que le morbillivirus responsable du virus de la maladie de Carré (CDV), un agent pathogène des carnivores (14) qui peut causer une mortalité importante chez les individus immunologiquement naïfs, en particulier les jeunes (15).

La capacité à combattre les maladies peut générer un coût de fitness en l'absence de ces menaces (16, 17). Nous avons cherché à savoir si les avantages de certains génotypes en termes de fitness dépendant de l'environnement pouvaient expliquer le cline nord-Américain dans la fréquence de la

couleur du pelage des loups. La CDV infecte la plupart des carnivores, et la fréquence des épidémies varie en fonction de la composition des communautés de carnivores (18). Pour tester la prédiction selon laquelle la couleur du pelage varie en fonction de la présence de CDV, nous avons analysé 12 populations de loups pour déterminer si la probabilité qu'un loup soit noir était prédite par la présence d'anticorps CDV (19).

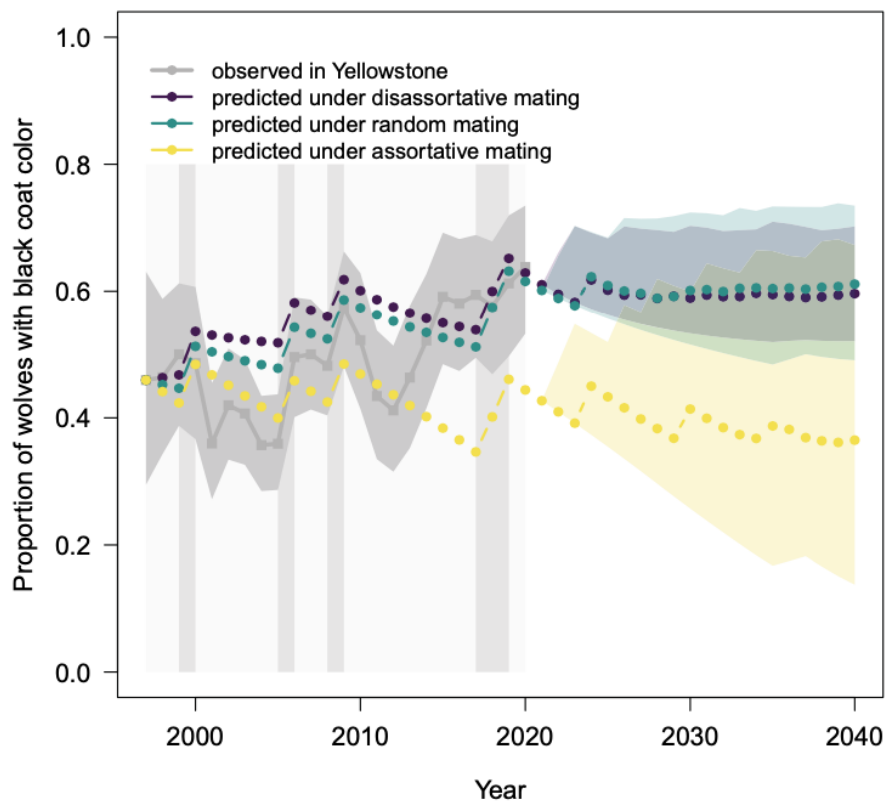
Les loups séropositifs pour la CDV sont plus susceptibles d'être noirs, surtout aux âges élevés (Fig. 1B). Nous avons construit un modèle pour évaluer les effets individuels et de population de CDV sur la probabilité qu'un loup soit noir (19). Nous avons prédit la probabilité d'être séropositif pour la CDV tout en standardisant pour l'âge et les facteurs de confusion (Fig. S2). L'effet population est la corrélation positive entre l'exposition à la maladie au niveau de la population et le fait qu'un individu soit noir ou gris (Fig. 1C). L'effet individuel permet de déterminer si un individu précédemment exposé à la CDV est plus susceptible d'être noir, peut-être parce qu'il est plus susceptible de survivre à l'infection et d'être échantillonné plus tard. Nous avons constaté que si un individu était séropositif pour la CDV, alors sa probabilité d'être noir augmentait de 25 à 32% ( $P = 0,03$ ) (Fig. S4). Ces résultats sont cohérents avec notre hypothèse selon laquelle l'exposition à la CDV est positivement associée à la fréquence de la couleur du pelage et apportent un soutien comparatif important.

Nous présentons ensuite une analyse de la population de loups de Yellowstone à l'aide de données individuelles sur l'histoire de vie et la couleur du pelage recueillies depuis leur réintroduction en 1995-1997 (19). La population est composée d'~55% de loups gris (génotype  $k$  $k$ ) et de 45% de loups noirs (génotypes  $K$  $k$  et  $K$  $K$ ), dont seulement 5% sont homozygotes (Fig. 2). Des recherches antérieures ont révélé que les loups gris femelles ont un succès de reproduction annuel 25% plus élevé toutes les années par rapport aux femelles noires, et que les épidémies de CDV génèrent une réduction de 50% du succès de reproduction des femelles indépendamment de la couleur du pelage (20). Cependant, étant donné que très peu d'individus homozygotes noirs génotypés se sont reproduits à Yellowstone ( $n = 5$ ), la puissance statistique est insuffisante pour déterminer s'il existe une différence dans la performance de reproduction entre les génotypes noirs. Un avantage en termes de survie des hétérozygotes noirs par rapport aux deux autres génotypes, toutes années confondues, a déjà été signalé (11), mais nous ne savons pas si la couleur du pelage et l'infection par la CDV interagissent pour influencer la survie, et donc l'aptitude relative, des trois génotypes.

Nous avons utilisé des données longitudinales pour étudier la variation des taux de survie annuels par âge entre 1998 et 2020 chez les loups noirs homozygotes, les loups noirs hétérozygotes et les loups gris homozygotes exposés individuellement à la CDV au cours de cinq épidémies de CDV (19). Nous avons développé un modèle de marquage-recapture qui inclut les transitions entre les états sensible, exposé et immunisé. Nous avons également inclus des informations sur la dispersion permanente et les mortalités naturelles et non naturelles connus tout en modélisant simultanément les taux de recapture. L'identité de la meute et l'année ont été incluses comme effets aléatoires.

Reflétant les résultats de nos enquêtes à grande échelle, nos analyses ont révélé que les loups hétérozygotes noirs ont un **taux de survie supérieur** à celui des loups gris, mais uniquement chez les individus infectés par la CDV (Fig. 3). Comme l'hérédité au locus  $K$  est mendélienne, si l'avantage de survie pour l'hétérozygote exposé à la CDV compense la fertilité réduite des femelles noires, alors il peut être avantageux de s'accoupler avec un partenaire de la couleur opposée pour maximiser la probabilité de produire une descendance hétérozygote lorsque les épizooties sont

fréquentes. Nous émettons donc l'hypothèse que la sélection fluctuante, dépendant de la fréquence, due à la fréquence des épidémies de CDV, peut modifier l'aptitude relative des génotypes, entraînant un avantage d'aptitude pour les hétérozygotes lorsque les épizooties sont suffisamment fréquentes et sélectionnant la stratégie d'accouplement disassortative observée à Yellowstone (21).



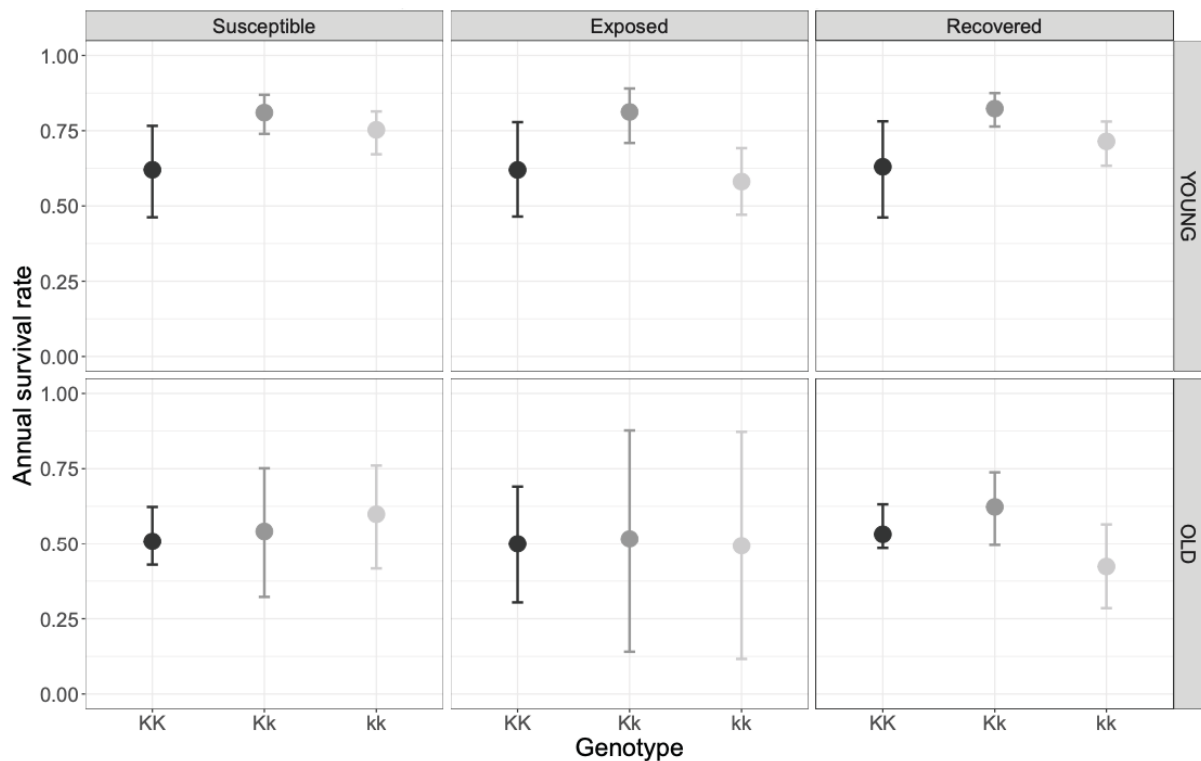
**Fig. 2. Observations et prédictions de la fréquence des loups noirs dans le parc national de Yellowstone.** Les lignes gris foncé sont des estimations ponctuelles. La zone ombrée représente les IC à 95%. Les lignes verticales grises représentent les foyers de CDV passés. Jusqu'en 2020, les lignes et points colorés et les points colorés représentent une projection d'un modèle unique tenant compte des épidémies passées de CDV pour l'accouplement aléatoire (vert), désassorti (violet) et assorti (jaune). Après 2020, les zones ombragées colorées représentent les IC à 95% estimés à partir de 500 exécutions du modèle, en supposant la même fréquence de foyers de CDV (probabilité annuelle de 0,2)

Nous avons construit un modèle stochastique, démographique et à deux sexes de la dynamique des trois génotypes (19). Nous avons utilisé une fonction d'accouplement qui nous a permis de modifier la préférence d'accouplement, de l'aléatoire à l'assortatif en passant par le désassortiment, et d'évaluer quelle stratégie de choix d'accouplement était optimale pour diverses fréquences d'épidémies.

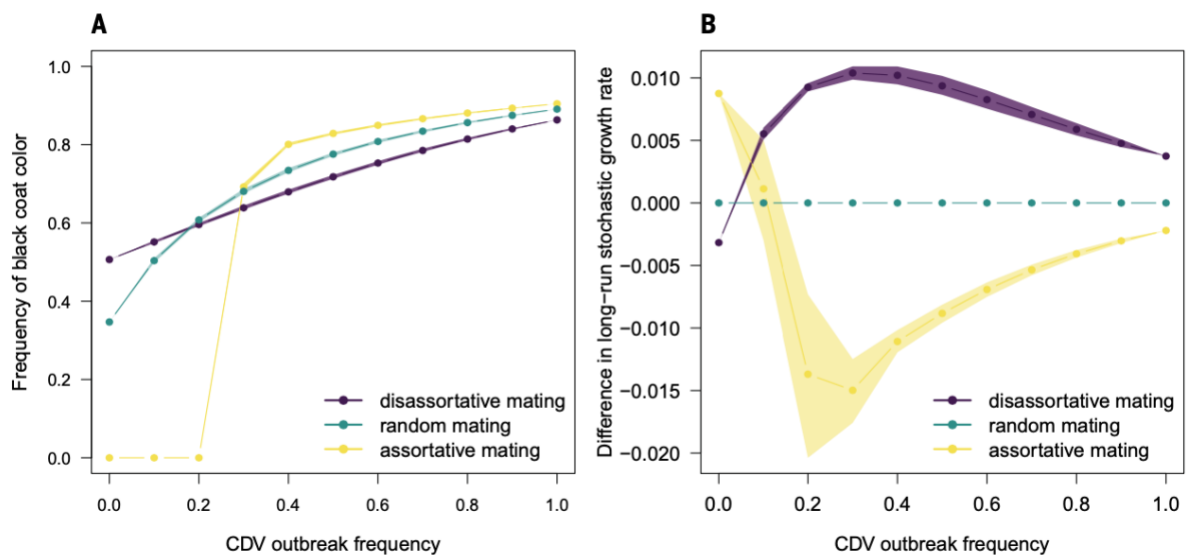
Lorsque le modèle a été paramétré avec des conditions initiales de départ égales aux fréquences de couleur du pelage observées lors de la réintroduction à Yellowstone et aux épidémies de CDV observées, les simulations ont capturé la dynamique observée de la fréquence de la couleur du pelage de manière adéquate lorsque nous avons supposé un accouplement aléatoire ou désassorti (Fig. 2). Le modèle n'a pas donné de bons résultats en cas d'accouplement assortatif, ce qui correspond à l'excès de paires noir-gris signalé à Yellowstone (21). Par conséquent, malgré sa simplicité, notre modèle rend compte de la dynamique des génotypes de couleur de pelage des loups à Yellowstone.

Notre modèle prédit que la fréquence des loups noirs dépend de la fréquence des épidémies de CDV et de la stratégie de choix du partenaire (Fig. 4A). Dans toutes les stratégies de choix du

partenaire, la fréquence des loups noirs augmente avec la fréquence des épidémies de CDV. Le taux d'augmentation était le plus élevé lorsque les loups s'accouplaient de manière assortative et le moins élevé lorsqu'ils s'accouplaient de manière disassortative. À Yellowstone, les loups s'accouplent de manière **disassortative**, mais est-ce adaptatif ?



**Fig. 3. Résultats de l'analyse de survie.** Effets de l'âge (en haut, jeune ; en bas, vieux), du statut de la maladie (colonnes) et du génotype du locus *K* (*KK* pour homozygote noir, *Kk* pour hétérozygote noir et *kk* pour homozygote gris) sur les taux de survie. Les médianes avec des intervalles crédibles de 80% sont affichées



**Fig. 4. Prédications du modèle en fonction de la fréquence des épidémies de CDV.** (A) Effet de la fréquence de l'épidémie de CDV et du système d'accouplement sur la fréquence des loups noirs. (B) Différence de fitness de la stratégie par rapport à l'accouplement aléatoire (vert) pour les stratégies d'accouplement assortatif (jaune) et désassortatif (violet) en fonction de la fréquence de l'épidémie de CDV. Les lignes représentent les estimations ponctuelles et les polygones ombragés représentent les IC à 95% de 500 simulations

La mortalité induite par la maladie sélectionne l'évolution du choix du partenaire, mais la stratégie stable du point de vue de l'évolution (ESS) change de part et d'autre d'un seuil de fréquence de la maladie (19). En dessous d'une fréquence d'épidémie de 0,1 ( $\approx 1$  épidémie tous les 10 ans), une stratégie d'accouplement assortative est l'ESS (Fig. 4B), tandis qu'au-dessus, une stratégie d'accouplement désassortative a une meilleure aptitude. L'accouplement aléatoire n'est jamais l'ESS. L'allèle noir est toujours éliminé en l'absence de CDV lorsque l'ESS est l'accouplement assortatif, tandis que l'accouplement désassortatif entraîne un polymorphisme stable.

Les résultats de notre **modélisation** sont cohérents avec notre hypothèse selon laquelle la fréquence des épidémies est responsable du cline observé dans la couleur du pelage en Amérique du Nord, et ils expliquent également pourquoi les loups de Yellowstone s'accouplent de manière **désassortie**. Nous nous attendrions à une stratégie d'accouplement assortative lorsque les épidémies de CDV se produisent moins d'une fois par décennie. Bien que nos résultats soient cohérents avec les observations, de récentes expériences de laboratoire mettant au défi des cultures cellulaires de loups avec une gamme d'agents pathogènes n'ont pas permis jusqu'à présent de discerner des réponses spécifiques du génotype à la CDV (22). **Bien qu'élégants, ces travaux ne peuvent pas répondre à la question que nous avons abordée car ils ne tiennent pas compte de la susceptibilité à l'infection et de la complexité des réponses immunitaires attendues chez les individus vivant en liberté** (22). En outre, des résultats génétiques ont fait état d'une sélection positive sur les gènes de la couleur du pelage, les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et les gènes de l'immunité le long d'un gradient de température et d'humidité (7), un résultat qui va dans le sens de nos conclusions.

Il est peu probable que nos résultats soient spécifiques aux loups. Chez de nombreux insectes, amphibiens, reptiles, oiseaux et mammifères non humains, la résistance aux maladies est associée à la coloration (1, 2, 12, 23), un **trait** qui peut agir comme un signal de résistance aux agents pathogènes dans le choix du partenaire (2, 3). Des découvertes récentes ont permis d'identifier des associations entre les gènes du CMH de résistance aux maladies et la coloration chez les mammifères (10, 24), les amphibiens (25), les reptiles (26) et les oiseaux (27), peut-être par le biais d'effets **pléiotropiques** ou de l'action de « **supergènes** » (1, 28). Par exemple, chez certaines espèces d'oiseaux, la coloration dépendante des caroténoïdes (23) peut conduire au choix du partenaire par le biais d'associations avec des gènes CMH résistants aux maladies qui influencent les fonctions sensorielles de l'odeur, de la vision et de l'audition (24).

Lorsque la coloration est génétiquement déterminée et que la résistance aux maladies est héritable et associée à la coloration, la préférence pour un partenaire d'une couleur spécifique améliorera la valeur adaptative en maximisant les chances de produire une descendance résistante dans des environnements où les agents pathogènes sont assez fréquents et virulents. Lorsque l'environnement varie dans l'espace et dans le temps, des stratégies d'accouplement alternatives pourraient expliquer le maintien du polymorphisme de la couleur (5) par une sélection négative dépendant de la fréquence, comme cela est montré ici pour les loups. Les sous-produits colorés accidentels des gènes de la réponse immunitaire peuvent par la suite être des moteurs très répandus des comportements d'accouplement observés chez un large éventail d'espèces animales. Il est possible que nous ayons considérablement sous-estimé le rôle des agents pathogènes dans la génération de la diversité des traits morphologiques et comportementaux observés dans la nature (25, 29).

La CDV nécessite une **forte densité** de population pour persister, et comme les loups vivent à de faibles densités, la CDV ne peut pas être endémique au sein d'une population (18). Au contraire, il a besoin d'une large communauté de carnivores pour persister et d'une transmission intermittente par contagion aux loups. La communauté, l'espèce ou la population réservoir n'est pas bien connue pour la CDV en Amérique du Nord, mais nous montrons que la prévalence de la CDV est positivement associée à la densité humaine (Fig. S4) (19). La CDV a probablement évolué à partir d'épidémies de rougeole humaine qui ont décimé les populations indigènes d'Amérique du Sud lorsque le virus s'est répandu dans la population abondante de chiens et a évolué en CDV avant d'être trouvé en Amérique du Nord dans les années 1760 (30). Les loups possèdent les gènes de la couleur noire du pelage parce qu'ils se sont reproduits avec les chiens des peuples des Premières Nations, et cette introgression s'est produite entre 1598 et 7248 ans (10). Il est donc probable que d'autres agents pathogènes ou mécanismes aient contribué à la propagation rapide de l'allèle noir.

Aucune de nos analyses, à elle seule, n'apporte un soutien concluant à l'hypothèse selon laquelle la fréquence des loups noirs en Amérique du Nord est déterminée par la fréquence des épidémies de CDV, mais chaque ligne de preuve distincte et complémentaire apporte un soutien. Ces résultats sont importants parce que, **premièrement**, ils révèlent comment la fréquence des épidémies impose une sélection sur la **fonction immunitaire**, générant un avantage hétérozygote seulement dans certains environnements, similaire à ce qui est observé avec la drépanocytose chez les humains. En l'absence de CDV dans l'environnement, l'allèle  $K$  dominant chez les loups devrait être perdu car une stratégie d'accouplement assortative serait sélectionnée, la fréquence des épidémies de CDV déterminant la fréquence de l'allèle  $k$  dérivé. Nous apportons la preuve que la variation de la fréquence des épidémies de CDV a généré le cline de la couleur du pelage des loups observé en Amérique du Nord. La variation de la couleur du pelage, un modèle phénotypique marqué qui a longtemps laissé les chercheurs perplexes, est un **biproduit** accidentel de la variation génétique au locus  $K$ . Le **deuxième** élément de preuve est que la sélection sexuelle a opéré sur cet indice accessoire pour modéliser le comportement des loups, les loups de Yellowstone s'accouplant de manière disassortative pour maximiser leur aptitude. Cela montre non seulement comment les effets d'un agent pathogène influencent la sélection pour la résistance, mais aussi comment cela est signalé entre les hôtes et donc le mécanisme de comportement de choix d'accouplement qui aboutit à la diversité des hôtes. Enfin, les résultats de notre étude montrent la véritable valeur du couplage d'études géographiquement restreintes, intensives, à long terme et basées sur des individus de populations sauvages avec des échantillons transversaux à l'échelle du continent provenant de plusieurs populations. Nous avons été en mesure de relier les résultats statistiques entre ces formes disparates de données en utilisant une modélisation de la population explicitement évolutive. Ce faisant, nous avons appris que le maintien de la variation génétique, morphologique et comportementale au sein des populations d'un carnivore charismatique et entre elles est le résultat d'une sélection dépendante de la fréquence, fluctuante et déterminée par l'environnement.