Une analyse génomique révèle la consanguinité au sein d'une population insulaire de loups de l'archipel Alexander

Evolutionary Applications WILEY

Evolutionary Applications

ORIGINAL ARTICLE OPEN ACCESS

Genomic Analysis Reveals Inbreeding in an Island Population of Alexander Archipelago Wolves

Katherine E. Zarn[1] | Gretchen H. Roffler[2] | Marty Kardos[3,4] | Jeffrey M. Good[5] | Daniel Vanderpool[1] | Taylor Wilcox[1] | Michael K. Schwartz[1]

[1]National Genomics Center for Wildlife and Fish Conservation, Rocky Mountain Research Station, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Missoula, Montana, USA | [2]Division of Wildlife Conservation, Alaska Department of Fish and Game, Juneau, Alaska, USA | [3]Northwest Fisheries Science Center, National Oceanic and Atmospheric Administration, Seattle, Washington, USA | [4]Flathead Lake Biological Station, University of Montana, Polson, Montana, USA | [5]Division of Biological Sciences, University of Montana, Missoula, Montana, USA

Correspondence: Gretchen H. Roffler (gretchen.roffler@alaska.gov)

Received: 13 September 2024 | **Revised:** 7 July 2025 | **Accepted:** 28 July 2025

Funding: This work was supported by M.J. Murdock Charitable Trust. Pittman-Robertson Federal Aid in Wildlife Restoration Program, Project 14.30. State of Alaska general funds. AKW-B-R1-2020 Region 1 Operating, 14.0.

Résumé

Les populations insulaires sont exposées à un risque accru de consanguinité en raison des possibilités réduites d'accouplement avec des congénères non apparentés. Une consanguinité excessive peut entraîner une dépression consanguine (réduction de la condition physique des individus dont les parents sont apparentés). Les loups de l'archipel Alexander (*Canis lupus ligoni*) sont une sous-espèce géographiquement isolée qui vit dans la péninsule sud-est de l'Alaska, aux États-Unis, et sur la côte de la Colombie-Britannique, au Canada. Les loups du complexe de l'île Prince of Wales (POW) dans le sud-est de l'Alaska devraient avoir des niveaux de résilience plus faibles, car ils constituent une petite population insulaire qui a subi une fragmentation de son habitat et des cycles de chasse modérée à intensive. Afin de comprendre l'étendue de la structure de la population et de la consanguinité chez les loups de l'archipel Alexander, nous avons conçu un **test d'hybridation** de l'ADN pour les loups et séquencé l'ADN capturé de 58 individus prélevés dans tout le sud-est de l'Alaska entre 2002 et 2016. Les estimations de la proportion du génome dans les segments d'homozygotie (F_{ROH}), quelle que soit la longueur des segments, ont révélé que les loups du POW étaient les plus **consanguins** par rapport aux loups d'autres régions du sud-est de l'Alaska. Les loups de POW présentaient également des segments d'homozygotie plus longs (≥10 Mb) que les autres populations que nous avons évaluées, ce qui indique des accouplements plus fréquents entre des individus ayant des ancêtres communs récents (il y a 1 à 10 générations). Ce schéma indique une taille de population plus petite pour les loups de POW dans un passé récent par rapport aux autres populations du sud-est de l'Alaska. Les loups de POW présentent un degré de consanguinité similaire à celui observé chez les loups du parc national de l'Isle Royale, une population qui a subi une grave dépression consanguine.

Nos travaux démontrent l'utilité des données de capture génomique pour déduire la consanguinité individuelle, afin que des mesures de gestion proactive (par exemple, fixation d'objectifs de population et de quotas de chasse, limitation de la modification de l'habitat, etc.) puissent être envisagées pour assurer la viabilité à long terme des petites populations isolées.

Mots-clés : *Canis lupus* / surveillance génomique / populations insulaires / fragmentation du paysage / segments d'homozygotie / puce à ADN

1. INTRODUCTION

La perte d'habitat, le changement climatique et d'autres pressions anthropiques entraînent une diminution, une **fragmentation** et un **isolement** croissants des populations fauniques, ce qui peut avoir une cascade de conséquences négatives (Shaffer 1987 ; Keller et Waller 2002 ; Lobo et al. 2023). L'une de ces conséquences est l'augmentation de la consanguinité (c'est-à-dire l'accouplement entre parents). Les populations **insulaires** sont plus exposées au risque de consanguinité que leurs homologues continentales en raison de leur faible diversité génétique, de la petite taille de leur population et de leur isolement géographique, qui réduisent les possibilités d'accouplement avec des congénères non apparentés (Frankham 1998 ; Colpitts et al. 2022). La consanguinité diminue l'hétérozygotie et la variation génétique existante, ce qui **réduit** la **résilience** des populations et leur capacité à s'adapter aux changements environnementaux. Il est important de noter qu'une consanguinité prolongée ou extensive peut entraîner une **dépression consanguine** (par exemple, une réduction de la condition physique des individus dont les parents sont étroitement apparentés) et une **réduction** de la **viabilité** de la population (Keller et Waller 2002 ; Charlesworth et Willis 2009). **Par conséquent**, le développement d'outils génomiques efficaces peut aider les gestionnaires de la faune sauvage à surveiller l'ampleur de la consanguinité et à mettre en œuvre des mesures d'atténuation susceptibles de réduire la dépression consanguine avant qu'elle n'entraîne un déclin de la population et d'autres effets néfastes (par exemple, von Holdt et al. 2024).

Les loups sont des carnivores très sociables qui vivent en meutes généralement composées d'un seul mâle et d'une seule femelle reproductrice et pouvant également inclure des individus non reproducteurs (Mech et Boitani 2003). En tant que canidés territoriaux et coopératifs, des stratégies comportementales telles que la dispersion en dehors des groupes natals et le fait d'éviter de se reproduire avec des parents proches peuvent atténuer le risque de consanguinité (von Holdt et al. 2008 ; Geffen et al. 2011 ; Ausband 2022*a*). L'une de ces stratégies documentées consiste pour les femelles à rester dans leur groupe natal afin d'attendre une opportunité de reproduction avec des mâles immigrants non apparentés (Ausband 2022*b* ; Pacheco et al. 2024), bien que les deux sexes se dispersent hors de leur meute natale (Morales-González et al. 2022). **Cependant**, lorsque la dispersion est entravée par des barrières géographiques ou anthropiques, la cooccurrence et la reproduction avec des individus étroitement apparentés peuvent se produire plus fréquemment et conduire à la consanguinité et potentiellement à une dépression consanguine (Liberg et al. 2005 ; Hedrick et al. 2014).

Les loups de l'archipel Alexander (*Canis lupus ligoni*) du complexe de l'île Prince of Wales (POW) dans le sud-est de l'Alaska, aux États-Unis (Figure 1), constituent un excellent cas d'étude pour détecter et caractériser la consanguinité dans une petite population

géographiquement isolée qui fait l'objet de préoccupations en matière de conservation. Le complexe insulaire Prince of Wales est désigné comme unité de gestion du gibier 2 (GMU 2) et géré comme une population unique. La dispersion des loups entre les îles de la GMU 2 a été documentée grâce à des loups équipés de colliers émetteurs et GPS (Person et Ingle 1995 ; Roffler et al. 2016) et à partir de données de recapture et de données génétiques (Roffler et al. 2024). La dispersion des loups est courante et peut inclure des déplacements sur de longues distances (Mech 2020), même dans les paysages archipélagiques, car les loups sont capables de nager et d'utiliser les petites îles comme tremplins (Darimont et Paquet 2002 ; Munoz-Fuentes et al. 2010 ; Stronen et al. 2014 ; Collins et al. 2019). **Cependant**, parmi les loups équipés d'un collier émetteur et surveillés sur POW entre 1993 et 1995, 1999 et 2004, et 2012-2018 (n = 68 ; Person et Russell 2008 ; Roffler et al. 2018), aucun n'a été documenté comme ayant parcouru la distance de trois à sept kilomètres entre POW et les îles adjacentes ou les péninsules continentales d'autres GMU (Figure 1). Cet isolement géographique se reflète dans les niveaux élevés de différenciation génétique de POW par rapport à d'autres zones géographiques du sud-est de l'Alaska, documentés dans des analyses génétiques précédentes utilisant des microsatellites et des polymorphismes nucléotidiques simples (SNP ; Weckworth et al. 2005 ; Cronin et al. 2015).

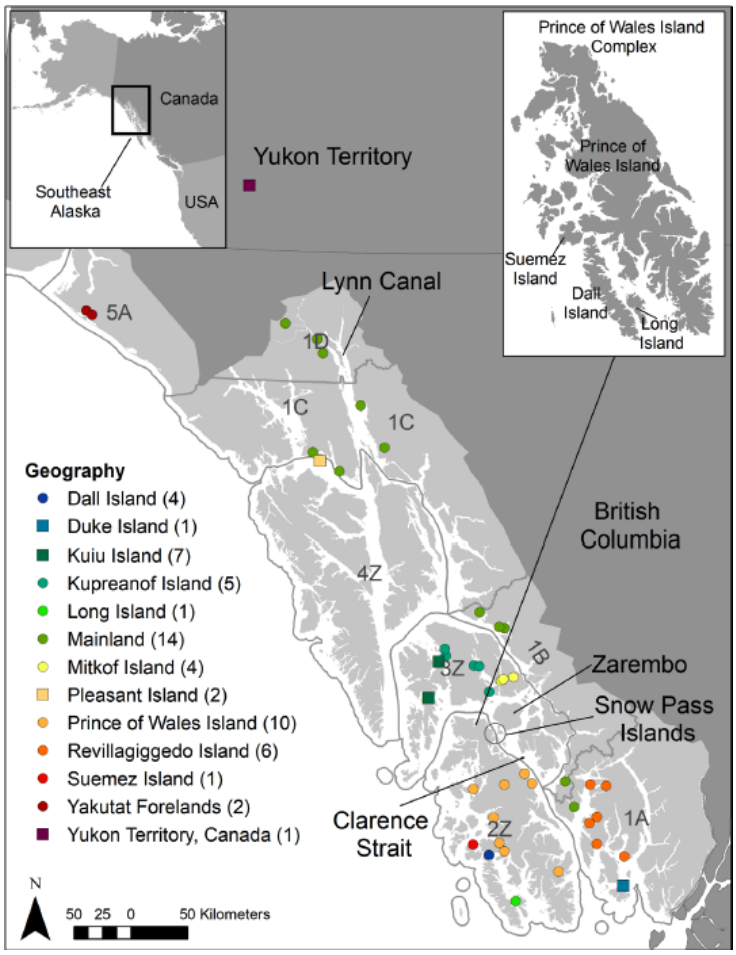

FIGURE 1. Carte du sud-est de l'Alaska, aux États-Unis, et du Canada adjacent, indiquant les emplacements et le nombre de loups inclus dans cette étude (n = 58) par lieu d'échantillonnage, unités et sous-unités de gestion du gibier (texte et contours en gris foncé) et caractéristiques géographiques mentionnées dans le texte principal. Les loups n'habitent pas les îles de l'unité de gestion du gibier (GMU) 4Z, à l'exception de Pleasant Island, qui a été administrativement transférée à la GMU 1C en 2022

Outre la présence de barrières géographiques à la migration et à la dispersion, les forêts anciennes de POW ont été fortement exploitées depuis les années 1950, ce qui a entraîné

une diminution de la quantité et de la qualité de l'habitat des loups et de leur principale proie, le cerf à queue noire de Sitka (*Odocoileus hemionus sitkensis* ; Hanley 1984 ; Albert et Schoen 2013). Les loups de POW ont également connu des périodes de chasse modérée à intensive, avec un nombre annuel de loups abattus allant de 7 à 164 depuis 1985 (Roffler et al. 2024 ; Figure SIA).

La population a été estimée chaque année, l'abondance la plus faible ayant été enregistrée en 2014 (n = 89, IC à 95% = 50-159) et la plus élevée en 2020 (n = 386, IC à 95% = 321-472) (Dorendorf 2022 ; Figure S1B). Compte tenu de l'isolement géographique, de la perte d'habitat et de la pression exercée par la chasse, nous avons cherché à comprendre si les loups de POW étaient plus consanguins que les loups d'autres régions du sud-est de l'Alaska et si la consanguinité à POW était davantage due à la démographie récente ou à long terme.

Pour évaluer la consanguinité chez les loups de POW, nous avions besoin d'une méthode suffisamment sensible pour détecter et différencier la consanguinité résultant de l'accouplement entre des individus ayant des ancêtres communs plus récents ou plus éloignés. Cela nous permettrait de comprendre si les loups de POW ont connu de faibles niveaux de consanguinité sur une longue période ou s'ils ont connu une augmentation récente de la consanguinité, peut-être en raison des pressions anthropiques exercées sur la population. Les approches de séquençage à haut débit ont considérablement amélioré la précision et l'exactitude de nombreuses approches en génomique des populations, y compris les estimations de la consanguinité individuelle à l'aide de **segments d'homozygotie** (ROH ; Kardos et al. 2015). Les **segments d'homozygotie** sont des portions du génome qui sont homozygotes et identiques par descendance (IBD) en raison d'ancêtres communs parentaux (Thompson 2013). Les ROH longues se produisent chez les descendants issus de la consanguinité entre des parents ayant des ancêtres communs plus récents et sont divisées en segments plus courts au fil des générations par des événements de recombinaison pendant la méiose. Le raccourcissement progressif des ROH au fil des générations par recombinaison signifie que la longueur des ROH peut être utilisée pour estimer le temps de coalescence des haplotypes IBD (Kardos et al. 2016).

Nous décrivons ici le développement et l'application d'une méthode de séquençage génomique ciblé à haute résolution pour déduire l'étendue et le moment de la consanguinité chez les loups POW. Pour atteindre cet objectif, nous avons prélevé des échantillons de tissus sur des loups (n = 58) chassés entre 2002 et 2016 dans tout le sud-est de l'Alaska, y compris dans la région POW et dans le Yukon adjacent, au Canada. Nous avons utilisé une capture hybride personnalisée pour cibler des dizaines de milliers de SNPs non codants. À l'aide des génotypes SNPs, nous avons évalué la **structure** génétique **spatiale** et identifié les populations au sein de la région échantillonnée. **Enfin**, nous avons effectué une analyse ROH afin d'évaluer les niveaux de consanguinité et de comparer les **histoires** probables de consanguinité au sein de ces populations putatives. Nous avons inclus des données génomiques précédemment séquencées provenant du parc national de l'Isle Royale (IRNP ; Robinson et al. 2019) afin d'établir des comparaisons avec une population insulaire de loups bien étudiée qui a subi une grave dépression consanguine.

Les données permettant d'évaluer la dépression consanguine ne sont actuellement pas disponibles pour les loups de l'archipel Alexander dans le sud-est de l'Alaska. **Cependant**, la

contextualisation de l'étendue de la consanguinité génomique chez les loups du sud-est de l'Alaska par rapport à celle observée chez les loups de l'IRNP fournit une base importante pour soutenir la collecte future de données et les travaux visant à évaluer le potentiel de dépression consanguine chez les loups du sud-est de l'Alaska. Il est possible que l'isolement à long terme des loups du sud-est de l'Alaska ait entraîné la **purge** d'allèles récessifs fortement délétères, ce qui a donné lieu à une population petite et isolée, mais stable, comme cela a été observé chez d'autres taxons (Robinson et al. 2023). Dans ce scénario, les niveaux élevés de consanguinité rapportés ici ne sont peut-être pas indicatifs d'une dépression consanguine et d'une source potentielle d'instabilité pour la persistance à long terme de la population. Nos résultats montrent un niveau élevé de consanguinité dans une population géographiquement isolée, fournissant des informations essentielles pour soutenir les études futures sur la dépression consanguine et faciliter la gestion et la conservation dans ce système.

2. MATERIEL et METHODES

2.1. Système d'étude

Le sud-est de l'Alaska est un vaste archipel comptant plus de 2 000 îles nommées et comprenant une étroite bande de terre ferme bordée à l'Est par les montagnes côtières fortement glaciaires (MacDonald et Cook 2007). Ces caractéristiques topographiques et l'isolement géographique ont limité le flux génétique avec les populations de loups continentales voisines (Weckworth et al. 2005 ; Pacheco et al. 2022). L'île Prince of Wales est située dans la partie sud du sud-est de l'Alaska (Figure 1) et est la quatrième plus grande île des États-Unis, avec une superficie de 6 670 km² et 1 593 km de côtes caractérisées par de nombreuses baies, criques et fjords. Le complexe de l'île Prince of Wales comprend 25 autres îles d'une superficie allant de 5 à 661 km² et des centaines d'îles plus petites. Le paysage de l'île Prince of Wales comprend des lacs, des ruisseaux, des vallées fluviales et des reliefs montagneux pouvant atteindre 1 160 m d'altitude. La végétation de l'île Prince of Wales comprend des forêts anciennes de conifères, des peuplements forestiers d'âge uniforme à différents stades de succession après déboisement et, en moindre abondance, des tourbières d'eau douce, des zones riveraines et alpines. Outre les loups, la région de POW abrite également d'autres mammifères tels que le cerf à queue noire de Sitka, le castor d'Amérique du Nord (*Castor canadensis*), la loutre de rivière d'Amérique du Nord (*Lontra canadensis*), la martre d'Amérique (*Martes americana*) et l'ours noir (*Ursus americanus*). L'exploitation intensive des forêts anciennes a entraîné une réduction de 94% des forêts contiguës à haut volume entre 1954 et 2004 dans le nord de la POW (Albert et Schoen 2013), et la vente et l'exploitation du bois des forêts anciennes se poursuivent encore aujourd'hui. Les routes construites pour l'exploitation forestière facilitent également l'accès des chasseurs et des trappeurs, ce qui favorise la chasse intensive au loup (Person et Russell 2008).

2.2. Collecte et préparation des échantillons

Les échantillons utilisés dans cette étude ont été obtenus de manière **opportuniste** dans le cadre d'un effort d'échantillonnage plus large entrepris par le Département de la pêche et de la chasse de l'Alaska (ADF&G) afin d'étudier la **structure génétique** et la **connectivité** des populations de loups dans le sud-est de l'Alaska. Des échantillons de tissus ont été prélevés entre 2002 et 2016 (Tableau S1) dans toutes les GMU du sud-est de l'Alaska où vivent des loups, y compris sur l'île Pleasant, qui faisait partie de la GMU 4Z jusqu'en 2022, date à

laquelle elle a été rattachée à la GMU 1C en raison de sa proximité géographique avec le nord du continent.

Nous avons également inclus un échantillon provenant du territoire adjacent du Yukon, au Canada, à des fins de comparaison avec les loups de l'intérieur. Les échantillons ont été prélevés conformément aux directives établies par le Comité de protection et d'utilisation des animaux (ACUC #2012-028 et #2014-15) de l'ADF&G et par l'American Society of Mammologists (Sikes et Gannon 2011), ou par le biais de prélèvements volontaires de tissus soumis à l'ADF&G par des trappeurs et des chasseurs. Nous avons extrait l'ADN des échantillons de tissus à l'aide du kit DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen) en suivant le protocole du fabricant, en remplaçant le tampon AE par un tampon TET (10 mM Tris-HCI, 1 mM EDTA, 0,05% Tween-20, pH 8,0).

2.3. Conception et optimisation de la capture

Les ressources consacrées à la conservation et à la gestion de la faune sauvage sont limitées, et nous avons cherché à développer une méthode de génotypage rentable qui maximiserait la taille de l'échantillon afin d'évaluer la consanguinité génomique et la structure génétique d'une population faisant l'objet de préoccupations en matière de conservation. Nous avons également cherché à développer une méthode qui induirait moins de biais d'évaluation que les méthodes de génotypage SNP canin disponibles dans le commerce. Les méthodes de génotypage SNP disponibles dans le commerce qui sont compatibles avec les loups sont des options potentiellement rentables, mais elles sont généralement développées à partir d'un petit nombre de chiens domestiques afin d'identifier les sites variables et dans le but de mener des études d'association entre les races et/ou d'évaluer les facteurs de risque génétiques (par exemple, Illumina CanineSNP20 Panel, Broad Institute Canine Array vI et v2, etc.). L'histoire démographique des chiens comprend d'importants goulots d'étranglement démographiques, le maintien de petites populations effectives (races) et la consanguinité, ce qui a conduit les chiens domestiques à présenter une variation génétique relativement faible par rapport aux canidés sauvages (Freedman et al. 2014 ; Marsden et al. 2016). Les chiens domestiques, en particulier les chiens de race pure, présentent également une augmentation des cas de troubles génétiques récessifs qui ne sont pas couramment observés chez les canidés sauvages (par exemple, Pedersen et al. 2015 ; Leroy 2011 ; Farrell et al. 2015 ; Oberbauer et al. 2015 ; Marsden et al. 2016 ; Axelsson et al. 2021). Les panels SNPs conçus à partir d'un petit nombre de chiens dans le but d'étudier les associations entre races et les maladies génétiques sont biaisés en faveur de l'identification des variations spécifiques aux races de chiens et aux troubles génétiques et pourraient donc comporter un biais d'évaluation important lorsqu'ils sont appliqués à des applications génétiques de population chez les loups sauvages. Nous avons développé une méthode rentable qui est moins susceptible d'entraîner un biais d'évaluation et plus susceptible de refléter la structure réelle de la population lorsqu'elle est appliquée aux populations de loups sauvages.

Nous avons utilisé le génome de référence du chien domestique (canFam3.1 ; Lindblad-Toh et al. 2005) pour concevoir une sonde de capture par hybridation ciblant des régions de 100 144 500-pb espacées de ≥ 19 700 nucléotides. La capture par hybridation enrichit l'ADN cible qui présente jusqu'à 40% de divergence, et bien que l'efficacité de l'enrichissement commence à diminuer à partir de 4%-10% de divergence (Paijmans et al. 2016), la divergence de séquence par paires à l'échelle du génome entre les chiens et les loups est en moyenne

d'environ 0,11% (Freedman et al. 2014), cette approche est donc bien adaptée à l'enrichissement ciblé et au séquençage génomique chez les loups. Afin d'éviter les difficultés liées au mappage des lectures, nous avons exclu les régions de séquences répétitives telles que les microsatellites, les répétitions imbriquées, les éléments courts intercalés, les éléments longs intercalés et d'autres régions répétitives que nous avons identifiées à l'aide de RepeatMasker 4.0.7 (Smit et al. 2015), Tandem Repeats Finder (Benson 1999) et WindowMasker (Morgulis et al. 2006). Ces régions **exclues** étaient déjà masquées dans le fichier de séquence du génome du chien domestique ou disponibles sur le TableBrowser de l'UCSC (https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTables). Notre conception excluait également les exons (régions du génome qui codent pour les protéines) et 100 000 paires de bases (pb) flanquant les exons afin d'éviter de cibler les SNPs sous sélection. Nous avons soumis notre conception à Roche (2024F. Hoffmann-La Roche Ltd) et, après leur criblage et leur optimisation exclusifs visant à garantir une capture efficace des régions cibles, le jeu de sondes résultant (SeqCap EZ Choice Probes) comprenait 131 816 cibles couvrant un total de 43 564 811 paires de bases dans le génome de référence. L'augmentation du nombre de cibles par rapport à la conception initiale de la capture reflète la division de certaines régions ciblées en un ou plusieurs fragments plus petits au cours du processus de criblage et d'optimisation exclusif de Roche.

Afin d'optimiser davantage la conception de la capture, nous avons préparé dix échantillons d'ADN pour le séquençage en suivant le protocole de préparation de la bibliothèque et de capture détaillé ci-dessous, puis nous avons séquencé ces échantillons sur un Illumina MiSeq (v2 Nano 150 bp paired end reads) à l'University of Montana Genomics Core (Missoula, MT, États-Unis). **En bref**, les lectures ont été traitées par suppression des doublons PC, comme détaillé ci-dessous dans la section sur le filtrage des lectures, l'appel des SNPs et le filtrage des SNPs. Après avoir supprimé les doublons PCR, nous avons utilisé Picard (v2.9.2, http://broadinstitute. github.io/picard/) CollectHsMetrics pour évaluer l'enrichissement et la couverture moyenne sur la cible. Nous avons ensuite repensé la capture, en excluant toutes les sondes pour lesquelles la couverture de lecture était trois fois supérieure ou plus à la couverture moyenne sur cible pour toutes les cibles avec une couverture 0× supérieure. De nombreuses cibles dans le séquençage d'optimisation de la capture ont renvoyé une couverture 0× en raison d'un effort de séquençage relativement faible. Nous avons exclu les cibles de couverture 0× lors du calcul de la couverture moyenne afin de nous assurer que nous ne supprimions pas plus de cibles que nécessaire avec l'étape de filtrage des cibles de couverture moyenne trois fois supérieure ou plus. La couverture élevée dans les régions exclues est probablement le résultat de lectures provenant de plusieurs paralogues mappés sur une seule région du génome de référence. Ces régions à couverture élevée ont des qualités de mappage inférieures et une hétérozygotie artificiellement gonflée. Leur suppression de la conception de la capture a donc permis d'améliorer les scores de qualité de mappage, d'obtenir des appels de génotype SNP plus précis et d'identifier plus précisément les ROH dans les analyses ultérieures. Le jeu de sondes final comprenait 136 542 cibles couvrant un total de 45 985 696 pb dans le génome de référence (Figure S2).

2.4. Préparation de la bibliothèque, capture et séquençage

Nous avons préparé les bibliothèques selon la méthode de Meyer et Kircher (2010), avec les modifications suivantes : nous avons utilisé un Covaris E220 pour fragmenter aléatoirement l'ADN à une taille moyenne de 300 pb (volume d'échantillon de 125 pL dans un microTUBE Snap-Cap AFA Fiber, puissance incidente maximale de 140 W, facteur de service de 10%, 200 cycles par rafale, temps de traitement de 55 s). Pour chaque étape de nettoyage par immobilisation réversible en phase solide après la réaction, nous avons utilisé des billes Serapure (Faircloth et Glenn 2011). Nous avons utilisé des oligonucléotides d'indexation uniques aux extrémités P7 et P5 pour chaque échantillon afin d'éviter toute contamination croisée entre les échantillons due au changement de marqueur lors des étapes d'amplification PR post-pool.

Nous avons regroupé 10 bibliothèques d'échantillons (125 ng chacune) pour chaque capture. Pour la préparation de l'hybridation, l'hybridation, la récupération et l'amplification post-capture, nous avons suivi le protocole décrit dans les chapitres cinq à sept du SeqCap EZ HyperCap Workflow User's Guide Version 2.1 (Roche), en remplaçant les oligonucléotides LM-PCR par les amorces IS5 et IS6 purifiées par HPLC développées par Meyer et Kircher (2010). Trente bibliothèques capturées ont été regroupées en concentrations équimolaires, et la bibliothèque regroupée a été diluée à une concentration totale de 10 mM et envoyée pour séquençage sur une seule voie d'un HiSeq 4000 (lectures appariées de 150 pb) à l'Université de l'Oregon Genomics and Cell Characterization Core Facility (GC3F, Eugene, OR, États-Unis).

2.5. Bio-informatique

Nous avons utilisé Trimmomatic v0.33 Bolger et al. 2014) pour supprimer les adaptateurs et éliminer les lectures de moins de 100 pb des lectures démultiplexées afin d'améliorer les scores de qualité du mappage. Les lectures non appariées ont été rejetées afin de garantir des scores de qualité de mappage élevés, et nous avons utilisé PEAR v0.9.6 (Zhang et al. 2014) pour assembler les lectures qui se chevauchaient. Les lectures appariées assemblées et non assemblées ont été alignées sur can Fam3.1 à l'aide de BWA mem v0.7.15-1140 (Li 2013). Nous avons utilisé Picard (http://broadinstitute.github.io/picard/) MergeSamFiles pour fusionner les fichiers SAM des paires de lectures non assemblées et assemblées pour chaque échantillon, MarkDuplicates pour identifier les doublons PCR, et SAMtools view (Li et al. 2009) pour supprimer les doublons PCR. Nous avons ensuite utilisé Picard CollectHsMetrics pour évaluer le facteur d'enrichissement et la couverture moyenne sur la cible.

Nous avons utilisé GATK v3.8 (McKenna et al. 2010) pour identifier les SN Ps. Nous avons utilisé GATK pour réaligner les lectures autour des indels et Picard (http:// broadinstitute.github.io/picard/) pour corriger les informations de lecture après réalignement. Nous avons utilisé GATK HaplotypeCaller pour appeler les SNP bruts pour chaque individu dans les régions ciblées et une région flanquante de 250 pb autour de chaque cible. Nous avons utilisé GATK GenotypeGVCFs pour appeler les SNP à partir de tous les échantillons, SelectVariants pour filtrer les indels, et befools view (v1.16) pour filtrer les SNP par fréquence allélique et approximation z basée sur u à partir du test de somme des rangs pour les qualités de mappage (MQRankSum ; « INFO/AF > 0,01 et INFO/MQRankSum > -0,2* »), ce qui a donné un ensemble de données de référence de sites SP connus. Nous avons utilisé GATK BaseRecalibrator pour recalibrer les scores de qualité des bases à l'aide

de l'ensemble de données de référence susmentionné et des fichiers BAM réalignés et corrigés par appariement. Nous avons appelé les SNP une dernière fois à l'aide des fichiers BAM recalibrés et de GATK HaplotypeCaller et GenotypeGVCFs. Enfin, nous avons utilisé VCFtools v0. 1.16 (Danecek et al. 2011) pour filtrer les SNP par fréquence allélique mineure (-maf 0,05), qualité génotypique minimale (-minGQ 20), couverture moyenne minimale (-min-meanDP 10), données manquantes (-max-missing 0,85), proportions de Hardy-Weinberg (-hwe 0,001) et pour ne conserver que les sites bialléliques (- min-alleles 2-max-alleles 2) sur les autosomes 1-38, ce qui a donné 31 526 SNPs. Nous avons utilisé VCFtools -relatedness 2 (Danecek et al. 2011) pour rechercher et supprimer les échantillons dupliqués.

2.6. Mélange et structure de la population

Afin d'évaluer la structure génétique de la population et d'identifier les populations au sein de la région échantillonnée, nous avons utilisé 31 526 SNP résultant des méthodes d'appel et de filtrage des variants ci-dessus avec ADMIXTURE v1.3.0 (Alexander et Lange 2011) pour estimer l'ascendance individuelle d'une à dix populations ancestrales potentielles. Le nombre de populations ancestrales le mieux étayé a été indiqué par l'erreur de validation croisée minimale (en utilisant une validation croisée décuple) dans notre analyse ADMIXTURE. Nous avons utilisé la proportion la plus élevée d'ascendance individuelle pour attribuer les individus à ces populations putatives. Afin d'évaluer la différenciation génétique entre les populations identifiées par ADMIXTURE, nous avons estimé le F_{ST} par paires à l'aide de VCFtools. Nous avons utilisé un graphique d'analyse en composantes principales (ACP) dans EIGENSOFT V6.1.4 (Price et al. 2006) pour visualiser la différenciation génétique entre les individus.

2.7. Diversité nucléotidique et consanguinité

Afin de comparer la variation génétique et la consanguinité des loups du sud-est de l'Alaska à celles d'une autre population de loups insulaires faisant l'objet de préoccupations en matière de conservation, nous avons inclus les données de séquençage du **génome complet** issues d'une étude précédente portant sur 11 loups du parc national de l'Isle Royale (IRNP) (Robinson et al. 2019). Nous avons obtenu les lectures de séquence des 11 loups de l'IRNP (projet SRA PRJNA512209) et les avons alignées sur canFam3.1 comme décrit ci-dessus. Nous avons converti les fichiers SAM obtenus au format BAM, puis nous avons trié les fichiers BAM à l'aide de SAMTOOLS v1.15.1. Nous avons marqué les lectures de séquences en double à l'aide de MarkDuplicates dans GATK 4.2.0.0 et avons utilisé BEDtools v2.29 (Quinlan et Hall 2010) pour filtrer ces fichiers BAM afin que seules les lectures qui chevauchent nos cibles de capture de séquences restent. Nous avons ensuite utilisé Picard v2.23.9 pour supprimer de manière aléatoire les lectures de séquences de chacun des 11 loups IRNP afin que la profondeur de lecture moyenne à l'échelle du génome pour chaque loup IRNP soit approximativement égale à la profondeur de lecture moyenne des SNP des loups du sud-est de l'Alaska (9,7, après suppression des individus dont la profondeur de lecture moyenne était ≤5). Nous avons utilisé GATK v4.2.0.0 HaplotypeCaller et GenotypeGVCFs pour l'appel de variants sur les loups de l'IRNP et du sud-est de l'Alaska conjointement. Nous avons utilisé VCFtools 0.1.16 pour supprimer les indels, ne conserver que les SNP bialléliques dans les régions cibles de capture de séquence et supprimer les SNPs dont la profondeur de lecture moyenne était supérieure à 24 afin d'exclure les SNP susceptibles de se trouver dans des régions génomiques dupliquées (Kardos et al. 2018). Cela a donné 327 049 SNPs dans les quatre populations identifiées par ADMIXTURE (voir la section 3.1 des

résultats). Il y avait 157 306 SNPs dans POW, 238 875 dans le groupe des îles du sud et du continent (SE), 202 152 dans le groupe du nord-ouest (NW) et 187 081 dans IRNP.

Nous avons utilisé la diversité nucléotidique estimée (π) dans chaque population SE Alaska et IRNP identifiée par ADMIXTURE sur la base des probabilités génotypiques avec le programme angsd) pour tenir compte de l'incertitude génotypique (Korneliussen et al. 2014). En utilisant les données de séquences alignées de chaque population, tronquées pour n'inclure que les sites couverts par notre matrice de capture, nous avons (1) calculé les fréquences alléliques postérieures des sites en supposant que l'allèle de référence était ancestral (-doSaf 1 -GL 1), (2) utilisé les postérieures de (1) pour estimer le spectre de fréquence des sites (SFS) replié (realSFS-fold 1), (3) estimé le thêta par paires spécifique au site (realSFS saf2theta fold 1), (4) estimé le thêta par paires (tP) sur chaque chromosome (thetaStat do_stat), puis (5) obtenu la moyenne à l'échelle du génome π en divisant la somme des estimations spécifiques au chromosome de tP par le nombre total de sites nucléotidiques dans le génome avec des données.

Nous avons utilisé les probabilités génotypiques SNP à tous les SNPs comme données d'entrée pour nos analyses de consanguinité basées sur les ROH (Khan et al. 2021 ; Kardos et al. 2023). Les méthodes de détection des ROH sont décrites en détail dans les données S1. Nous avons identifié les ROH via l'analyse des probabilités génotypiques, car cette approche utilise les informations de toutes les lectures de séquences à chaque SNP chez chaque individu, y compris aux loci dont la profondeur de lecture est insuffisante pour que les génotypes appelés répondent à des critères de filtrage stricts (Nielsen et al. 2011 ; Kardos et al. 2023). **Cependant**, nous avons exclu les individus dont la profondeur de lecture moyenne à l'échelle du génome était inférieure à 5, car une couverture aussi faible peut entraîner des taux d'erreur élevés dans l'identification des ROH (Duntsch et al. 2021). Cela a donné lieu à des échantillons de 14 (POW), 29 (SE), 6 (NW) et 11 (IRNP) pour l'analyse de la consanguinité. Nous avons calculé F_{ROH} comme la proportion de 38 autosomes dans les ROH ≥ 1 Mb (F_{ROH} z1Mb) et ≥ 10 Mb (F_{ROH} 2 10Mb). Nous avons répété cette analyse après avoir égalisé le nombre de SNPs dans chaque population en réduisant aléatoirement à 157 308 SNPs dans SE, NW et IRNP afin de vérifier si la variation de la densité des SNPs entre les populations avait une forte incidence sur les résultats. Afin de garantir l'absence de résultats erronés, nous avons testé la relation entre F_{ROH} et la profondeur de lecture des séquences à l'aide de régressions linéaires en utilisant la fonction lm () dans R (R Core Team 2021). Ni $F_{ROH \geq 1Mb}$ ni $F_{ROH} \geq 10$Mb n'avaient de relation significative avec la profondeur de lecture de la séquence ($p = 0{,}34$ et $p = 0{,}1$, respectivement ; Figure S3).

Nous avons généré des intervalles de confiance bootstrap pour la moyenne F_{ROH} dans chaque population (Efron et Tibshirani 1994). Pour chacune des quatre populations identifiées par ADMIXTURE, nous avons rééchantillonné N valeurs F_{ROH} avec remplacement (N = nombre d'individus échantillonnés) 5 000 fois, en enregistrant à chaque fois la moyenne des valeurs F_{ROH} rééchantillonnées. L'intervalle de confiance bootstrap non paramétrique à 95% a été déterminé comme étant les quantiles 0,025 et 0,975 des 5000 moyennes.

Nous avons analysé les distributions de longueur des ROH afin d'évaluer la consanguinité dans chaque population de loups en fonction de l'histoire démographique **récente** par

rapport à l'histoire démographique **ancienne**. La rupture des haplotypes par recombinaison pendant la méiose signifie que des ROH très longs sont susceptibles de provenir d'ancêtres communs récents des parents, tandis que les ROH courts proviennent probablement d'ancêtres communs dans l'histoire ancienne. Le nombre de générations (g) remontant à l'ancêtre d'où provient un ROH peut être estimé en résolvant g in $l = 100/2$ gcM, où l = la longueur de la carte génétique d'un ROH en centiMorgans, en supposant que le modèle de coalescence est constant sur l'ensemble d'un ROH (Thompson 2013).

Une abondance élevée de ROH avec un g estimé similaire suggère une taille de population effective (N_e) relativement faible pendant cette période par rapport aux populations où ces ROH sont moins fréquents (Kirin et al. 2010). Nous avons estimé g pour chaque ROH chez chaque individu, en supposant des taux de recombinaison à partir d'une carte de liaison du chien domestique (Campbell et al. 2016). Nous avons ensuite calculé la moyenne Mb dans les ROH dans chacune des six fourchettes de g (< 10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, > 50 générations) pour chaque population comme mesure de la consanguinité résultant d'ancêtres à différentes périodes historiques.

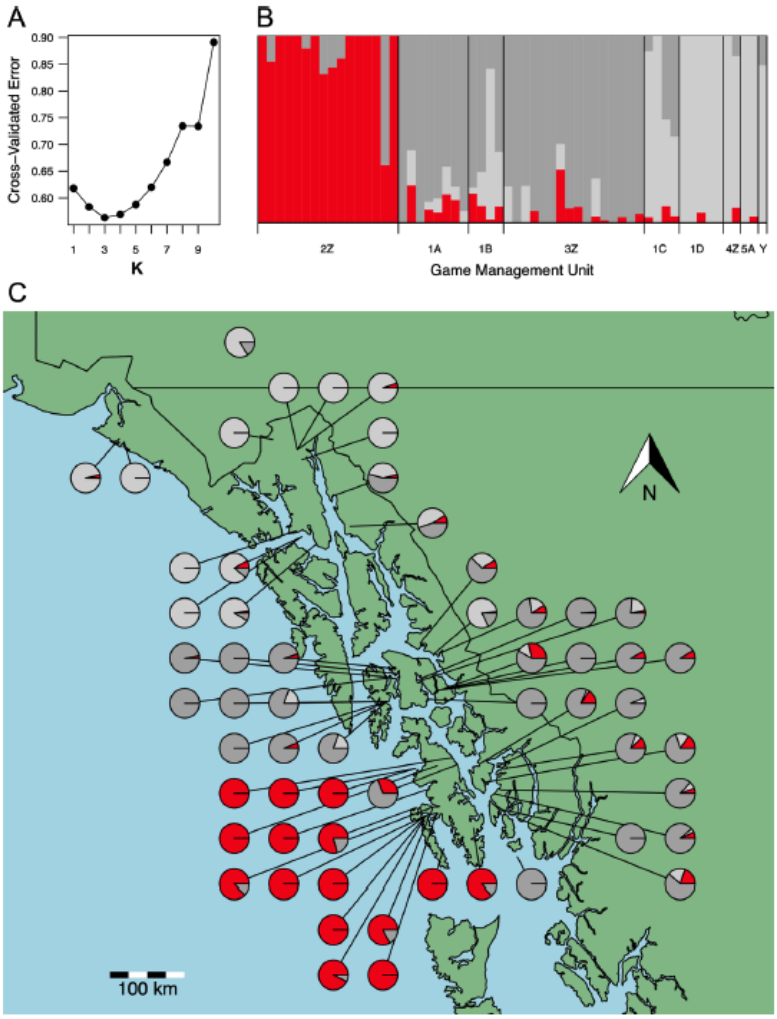

FIGURE 2. Résumé des résultats de l'analyse ADMIXTURE visant à déterminer l'appartenance de chaque loup de l'archipel Alexander échantillonné dans le sud-est de l'Alaska et le territoire du Yukon à une population particulière. (**A**) Erreurs validées par recoupement pour les populations présumées 1 à 10. (**B**) Proportion d'ascendance des loups. (**C**) Répartition spatiale des estimations des proportions ancestrales individuelles indiquées en (**A**). Les proportions ancestrales indiquées supposent trois populations ancestrales, comme l'indique l'erreur de validation croisée la plus faible (**B**)

3. RESULTATS

3.1. Mélange et structure de la population

Dans notre analyse ADMIXTURE portant sur 10 populations ancestrales potentielles, nous avons constaté que trois populations ancestrales étaient les mieux étayées (Figure 2A et Figure S4) : (**1**) l'île Prince of Wales et les îles adjacentes GMU 2 Dall, Long et Suemez (POW, n = 15) ; (**2**) les îles intérieures du sud (Kuiu, Kupreanof, Mitkof, Revilla et Duke) et le sud du continent (groupe sud-est [SE], n = 29) ; et (**3**) le nord du continent à l'ouest du canal Lynn, l'île Pleasant et le territoire du Yukon (groupe nord-ouest [NW], n = 14). L'un des loups échantillonnés sur POW a été attribué majoritairement au groupe SE et a donc probablement un ancêtre récent qui a immigré de la population SE vers POW, ce qui souligne la possibilité d'une migration naturelle à travers les plans d'eau (Figures 2B et 2C). Aucun des loups échantillonnés en dehors de POW n'a été attribué majoritairement au groupe POW, ce qui indique que la migration observée dans cette étude était unidirectionnelle. Le continent semblait être un corridor paysager facilitant le métissage, car un loup échantillonné dans le sud du continent avait une ascendance majoritairement attribuée au groupe NW, et deux loups échantillonnés dans le nord du continent avaient une ascendance majoritairement ou presque majoritairement attribuée au groupe SE (Figure 2A, C).

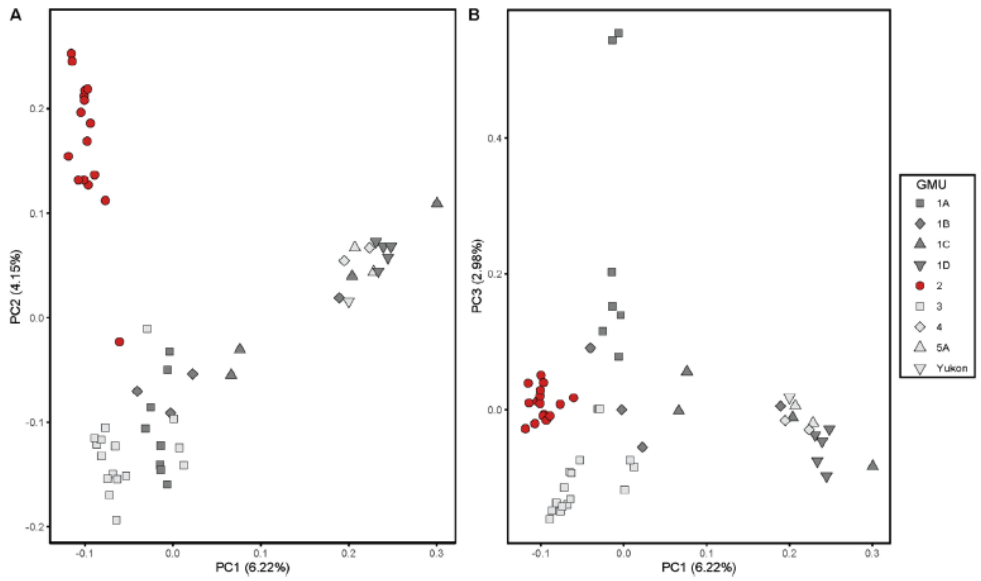

FIGURE 3. Analyse en composantes principales de 58 loups prélevés dans le sud-est de l'Alaska, aux États-Unis, et dans le territoire du Yukon, au Canada. La couleur et le symbole de chaque échantillon correspondent aux unités de gestion du gibier (GMU, illustrées à la Figure 1) et à un échantillon provenant du Yukon, comme indiqué dans la légende. Les loups ne vivent pas sur les îles de l'unité de gestion du gibier (GMU) 4Z, à l'exception de Pleasant Island, qui a été administrativement transférée à la GMU 1C en 2022. (A) PC2 par rapport à PC1, (B) PC3 par rapport à PC1

Nous avons utilisé la PC pour décrire les trois premières composantes principales (PC) dans 31 526 SNPs (Figure 3) pour les 58 individus. Reflétant les résultats observés dans l'analyse ADMIXTURE, les échantillons ont été regroupés en trois clusters, le POW constituant un cluster (cercles rouges dans la Figure 3A). Les deux autres clusters étaient composés d'un mélange d'échantillons provenant des GMUs restants. L'échantillon prélevé dans le territoire du Yukon a été regroupé avec les échantillons provenant du nord du canal Lynn, de l'île Pleasant et des avant-pays de Yakutat (GMU IC, 1D et 5A). Les loups POW ne se distinguaient pas des autres loups sur PC1 ou PC3, qui expliquaient respectivement 6,22% et 2,98% de la variation génétique observée dans tous les échantillons (Figure 3B). L'examen de la relation entre la divergence génétique et les individus (n = 2) présentant un profil de

données manquantes élevé (>0,85 proportion de données manquantes) a montré qu'ils n'étaient pas plus divergents que les autres individus du groupe auquel ils étaient affectés (Données S1). Les loups POW se sont séparés des autres loups sur PC2, qui expliquait 4,15% de la variation génétique observée dans tous les échantillons (Figure 3A). Les estimations par paires de F_{ST} étaient de 0,16 entre POW et SE, de 0,23 entre POW et NW, et de 0,20 entre les groupes SE et NW.

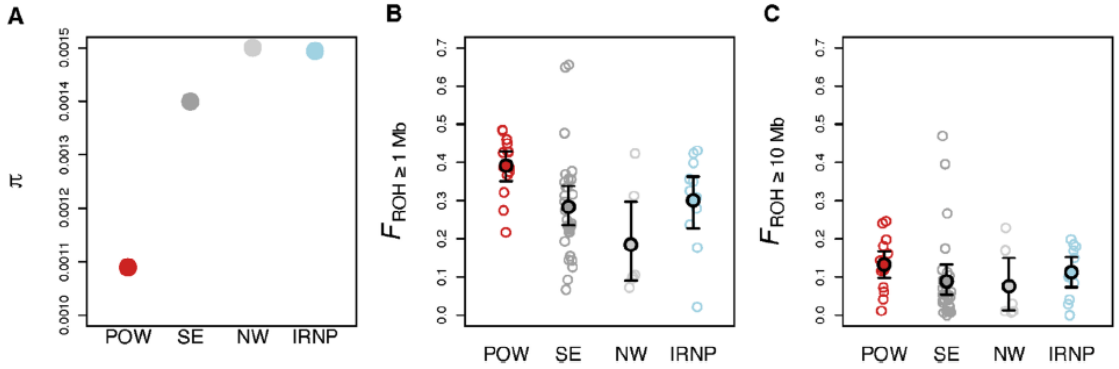

FIGURE 4. Diversité nucléotidique (π) et coefficients de consanguinité génomique pour les loups dans les populations définies par le mélange (île du Prince-de-Galles [POW ; n = 14], sud du continent et îles intérieures [SE ; n = 29], et le nord du continent et le territoire du Yukon, au Canada [NW ; n = 6]) et le parc national de l'Isle Royale, aux États-Unis (IRNP ; n = 11 ; Robinson et al. 2019) ont été inclus à des fins de comparaison. (**A**) La diversité nucléotidique a été calculée en tenant compte de toutes les régions du génome du loup couvertes par notre matrice de capture de séquences personnalisée. (**B, C**) Le FROH a été mesuré à l'aide de ROH ≥ 1 Mb (B) et ≥ 10 Mb (**C**). Les points remplis dans **B** et **C** représentent la moyenne et les barres représentent les intervalles de confiance bootstrap à 95 %

3.2. Diversité nucléotidique et consanguinité

La population POW présentait le π le plus faible et la consanguinité la plus élevée parmi les quatre populations que nous avons évaluées. Le π estimé pour les loups POW (0,00109) était inférieur de ≥20% à celui des loups IRNP (0,00149), SE (0,00140) et NW (0,00150) (Figure 4A). Le groupe POW présentait le plus haut niveau de consanguinité parmi les trois groupes de loups d'Alaska définis par ADMIXTURE et les loups de l'IRNP. La moyenne la plus élevée de $F_{ROH \geq 1Mb}$ était celle du groupe POW (moyenne = 0,39, intervalle = 0,22-0,49), suivi du groupe IRNP (moyenne = 0,30, intervalle = 0,02-0,43), puis du groupe SE (moyenne = 0,28, intervalle = 0,07-0,66) et enfin du groupe NW (moyenne = 0,18, intervalle = 0,07-0,42 ; Figure 4B). Les ROH longs ($F_{ROH \geq 10Mb}$) indiquant une consanguinité due à des ancêtres récents) étaient plus abondants chez les loups IRNP et POW que dans les groupes SE et NW, mais ces différences n'étaient pas substantielles (Figure 4C). La moyenne $F_{ROH \geq 10Mb}$ la plus élevée a été observée dans le groupe POW (moyenne = 0,13, intervalle = 0,01-0,25), suivi du groupe IRNP (moyenne = 0,11, intervalle = 0,00-0,20), puis du groupe SE (moyenne = 0,09, intervalle = 0,00-0,47) et enfin du groupe NW (moyenne = 0,08, intervalle = 0,01-0,23). La répétition de l'analyse F_{ROH} avec des nombres SNP égalisés entre les populations n'a pas eu d'incidence significative sur les résultats (Figure 5).

Les distributions des temps de coalescence estimés pour les haplotypes comprenant des ROH suggèrent que les loups POW présentaient le plus haut degré de consanguinité en raison de la petite taille de leur population, tant récemment que dans le passé lointain (Figure 5). Plus précisément, les loups POW présentaient le plus grand nombre de ROH provenant d'ancêtres des 10 dernières générations et dans toutes les périodes historiques plus anciennes (Figure 5). Les loups du groupe IRNP présentaient une abondance de ROH avec un temps de coalescence < 10 générations qui n'était que légèrement inférieure à celle des POW (Figure

5). **Cependant**, les loups de l'IRNP avaient en moyenne moins de Mb dans les ROH avec des temps de coalescence historiques profonds par rapport aux loups de l'Alaska SE et POW, ce qui peut refléter la colonisation récente de l'île Royale et la grande *Ne* de la population source continentale (Hedrick et al. 2014).

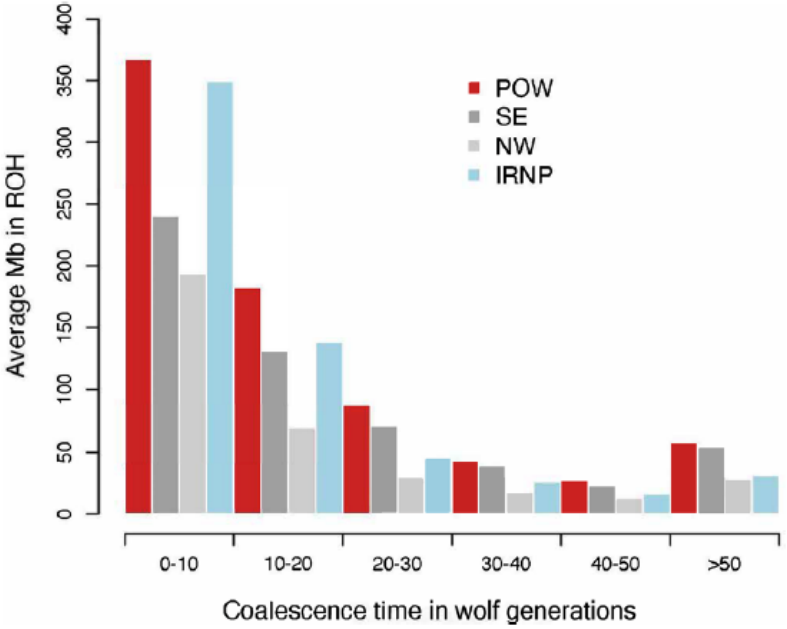

FIGURE 5. Consanguinité des loups issue d'ancêtres vivant à différentes périodes historiques estimées. Les valeurs sur l'axe des y correspondent à la moyenne en Mb couverte dans les segments d'homozygotie (ROH) avec un temps de coalescence estimé donné (générations de loups) comme indiqué sur l'axe des x. Les données obtenues avec ADMIXTURE (île du Prince-de-Galles [POW ; *n* = 14], sud du continent et îles intérieures [SE ; *n* = 29], nord du continent et territoire du Yukon, Canada [NW ; *n* = 6]) sont présentées, ainsi que celles du parc national de l'Isle Royale, États-Unis (IRNP ; *n* = 11 ; Robinson et al. 2019) a été inclus à des fins de comparaison.

4. DISCUSSION

L'objectif de ce travail était d'évaluer la structure de la population et la consanguinité individuelle chez les loups de l'archipel Alexander, dans le sud-est de l'Alaska, en mettant particulièrement l'accent sur le complexe de l'île Prince of Wales (POW), car celui-ci est géographiquement isolé, a déjà été identifié comme une population menacée (U.S. Fish and Wildlife Service 2023) et le maintien de cette population est une priorité en matière de gestion (article 8, section 4 de la Constitution de l'Alaska ; Wolf Technical Committee 2017). Nous avons mis au point une méthode de génotypage SNP robuste et rentable pour évaluer la structure génomique de la population et la consanguinité individuelle chez les loups afin de répondre à ces questions. Par rapport aux autres populations du sud-est de l'Alaska et aux loups du parc national de l'île Royale (IRNP), les loups de POW présentaient une faible variation génétique et des estimations de consanguinité **élevées**, ce qui suggère que des travaux futurs visant à comprendre si la population présente une dépression consanguine sont nécessaires pour garantir des mesures de gestion appropriées et la persistance à long terme de la population.

4.1. Mélange et structure de la population

Nos analyses de la structure génétique de la population ont révélé trois populations distinctes dans la zone d'échantillonnage. Ce résultat est cohérent avec les caractéristiques géographiques (par exemple, les îles, les montagnes, les fjords) qui contribuent à la fragmentation de l'habitat et à une résistance accrue à la dispersion dans certaines zones de l'archipel, et d'autres caractéristiques (par exemple, le continent, les corridors fluviaux de

faible altitude, les canaux d'eau peu profonds et étroits) qui servent de régions de connectivité génétique. Le groupe POW s'est distingué le plus facilement des loups d'autres régions du sud-est de l'Alaska grâce aux analyses PCA et ADMIXTURE, ce qui correspond aux recherches précédentes (Weckworth et al. 2005 ; Cronin et al. 2015). Le groupe sud-est (SE) comprenait cinq îles principales et le sud du continent. **Contrairement** au complexe insulaire POW, qui est séparé des autres groupes d'îles par de larges étendues d'eau telles que le détroit de Clarence (Figure 1), les îles du groupe SE ont plusieurs passages étroits de moins d'un kilomètre, qui sont moins profonds et ont des courants plus faibles, et qui constituent donc moins un obstacle à la migration des loups entre les îles et le continent. Il a été démontré que des barrières aquatiques de 2 à 7 km limitent le flux génétique des ours bruns entre les îles du sud-est de l'Alaska (Paetkau et al. 1998) et on peut s'attendre à des schémas similaires pour les loups. Le groupe nord-ouest (NW) était entièrement composé de loups du nord du continent et comprenait le loup du Yukon, probablement relié à la population côtière de l'Alaska par plusieurs vallées fluviales qui s'étendent à l'intérieur du territoire du Yukon et de la Colombie-Britannique. Le continent du sud-est de la péninsule de l'Alaska semble offrir une zone de **connectivité** géographique, car le mélange des populations SE et NW était évident dans les attributions d'ascendance individuelles (Figure 2B, C).

Bien qu'aucun déplacement de loups entre POW et d'autres GMU, y compris les îles et les unités continentales, n'ait été documenté, les données de recapture génétique des loups échantillonnés sur les îles de Snow Pass au nord-est de POW, ainsi que sur POW et d'autres îles du complexe, indiquent qu'une dispersion a eu lieu (Roffler et al. 2024). Les îles de Snow Pass et Zarembo pourraient constituer une voie potentielle pour les loups qui migrent vers ou depuis le continent ou d'autres groupes d'îles du sud en **nageant** entre les îles (distance la plus longue en ligne droite = 2,7 km ; Figure 1). Ce **corridor relais** a peut-être été emprunté par l'immigrant ou la progéniture d'un immigrant du groupe SE que nous avons identifié sur POW à l'aide des données génomiques de cette étude, ce qui prouve que les loups peuvent se déplacer entre d'autres GMU (unités insulaires et continentales) et POW. Ce loup immigrant a engendré deux portées sur POW (Roffler et al. 2018), ce qui constitue une preuve supplémentaire du flux génétique. **Cependant**, en dehors de ce cas, la fréquence des événements d'immigration est inconnue, tout comme la probabilité que ces immigrants s'installent et se reproduisent avec les loups locaux de POW. Nos résultats montrent qu'il existe suffisamment de barrières au mouvement entre POW et d'autres parties du sud-est de l'Alaska pour empêcher toute migration fréquente de loups entre les régions géographiques, ce qui entraîne une différenciation génétique importante et un isolement génétique des loups de POW.

Les distances de dispersion documentées au sein de la population POW grâce à des efforts de recapture génétique antérieurs étaient généralement courtes (moyenne de 41,9 km, écart-type = 23,7 km) et se produisaient sur toute l'île Prince of Wales et d'autres îles du complexe POW (Roffler et al. 2024). Les distances de dispersion en ligne droite étaient probablement limitées par la géographie du système insulaire relativement isolé et pouvaient entraîner une densité plus élevée de loups apparentés, ce qui rendait plus difficile la recherche d'un partenaire non apparenté et rendait les stratégies d'évitement de la consanguinité moins efficaces (Viluma et al. 2022). Contrairement aux autres populations de loups continentaux qui bénéficient d'une connectivité génétique importante avec les populations adjacentes, facilitée par un habitat continu et des capacités de dispersion sur de longues distances, les

loups du POW restent limités par la géographie insulaire, ce qui contribue probablement à des taux plus élevés de reproduction avec des parents proches.

4.2. Diversité nucléotidique et consanguinité

Les loups du groupe POW ont présenté les valeurs π les plus faibles et les valeurs $F_{ROH \geq 1Mb}$ et $F_{ROH \geq 10Mb}$ les plus élevées par rapport aux deux autres populations du sud-est de l'Alaska (SE et NW) et aux loups de l'IRNP. Le résultat le plus frappant de nos analyses F_{ROH} est que, malgré la taille relativement importante du recensement annuel actuel de la population de loups POW, qui indique une population stable ou en croissance et une reproduction et une survie des juvéniles constantes (Dorendorf 2022 ; Figure S1B), ils ont connu des niveaux **très élevés** de consanguinité, probablement en raison d'une petite taille de population au cours des 10 dernières générations. La durée de vie des loups est estimée entre 4,2 et 4,7 ans (Mech et al. 2016), ce qui signifie que ce goulot d'étranglement démographique correspond approximativement à l'année 1970. Bien que les loups de la population POW aient présenté les niveaux de consanguinité les plus élevés, les loups du groupe sud-est (SE) ont également montré une consanguinité relativement élevée, mesurée par un F_{ROH} court (>1Mb), comparable à celle observée chez les loups de l'IRNP. Les loups du groupe nord-ouest (NW) présentaient les estimations F_{ROH} les plus faibles, ce qui indique que cette population est relativement importante et/ou plus étroitement liée génétiquement aux populations voisines. Bien que les populations POW et IRNP aient présenté la plus forte proportion de Mb dans le ROH, les trois populations du sud-est de l'Alaska ont montré une augmentation au cours des 0 à 10 dernières générations, indiquant un goulot d'étranglement génétique global (Figure 5).

Il est important de noter que les échantillons de loups POW inclus dans la présente analyse ont été prélevés principalement en 2015 (Tableau S1), soit trop peu de temps après l'estimation de population la plus basse en 2014 (n = 89 ; IC à 95% = 50-159) pour saisir l'effet que ce déclin de l'abondance a pu avoir sur la consanguinité génomique individuelle. **Par conséquent**, la faible taille temporaire de la population en 2014 pourrait avoir entraîné une augmentation des accouplements entre individus apparentés au cours des années suivantes ; il est donc possible que les loups POW aient actuellement des coefficients de consanguinité F_{ROH} plus élevés que ceux estimés par les données et les résultats présentés ici.

Notre analyse de la **coalescence** des **haplotypes** dans les ROH a révélé des similitudes supplémentaires entre les loups POW et les loups IRNP, les deux populations présentant des degrés similaires de consanguinité génomique résultant d'accouplements entre parents proches au cours des dix dernières générations. Ces résultats sont remarquables car la population de l'IRNP a été fondée par seulement deux ou trois individus à la fin des années 1940 (Wayne et al. 1991) ; elle a atteint un pic de 50 individus en 1980 (Peterson et al. 2014) ; n'a accueilli qu'un seul immigrant en 1997 (Adams et al. 2011) avant que la reproduction ne cesse en 2014 en raison d'une grave dépression consanguine (Peterson et Vucetich 2017), et que la population ne disparaisse fonctionnellement (Hedrick et al. 2019). Les similitudes entre le temps de coalescence F_{ROH} et ROH entre POW et INP indiquent que les loups POW ont subi un consanguinité importante ces dernières années et, en raison de l'immigration limitée provenant d'autres populations, sont exposés à un risque accru de dépression consanguine.

Les populations de loups présentant une faible diversité génétique et des estimations élevées de consanguinité individuelle ont montré des signes de dépression consanguine, notamment les loups de l'IRNP (Räikkönen et al. 2009 ; Robinson et al. 2019), les loups Mexicains (Fredrickson et al. 2007 ; Clement et al. 2024) et les loups Scandinaves (Liberg et al. 2005 ; Smeds et Ellegren 2023). La dépression consanguine dans ces populations a été documentée par une réduction de la taille des portées, une diminution de la survie des juvéniles et des anomalies morphologiques (Salado et al. 2024 et citations y figurant). Entre 2013 et 2017, au moins trois loups de POW ont été observés avec des queues raccourcies, mais les causes de ces malformations sont inconnues et pourraient être le résultat d'une dépression consanguine similaire aux défauts observés chez les loups de l'IRNP et de Scandinavie (par exemple, Räikkönen et al. 2009 ; Hedrick et al. 2016 ; Räikkönen et al. 2013) ou de traumatismes physiques. Ces observations anecdotiques ne suffisent pas à confirmer ou à infirmer que les loups du sud-est de l'Alaska présentent actuellement une dépression consanguine.

La dépression consanguine devrait se produire dans toutes les populations diploïdes en raison de l'omniprésence des mutations délétères et de la dérive génétique (Lacy 1997 ; Kardos et al. 2021), y compris dans les populations qui ont été petites et isolées pendant de longues périodes (Stoffel et al. 2021 ; Kardos et al. 2023). La consanguinité augmente l'homozygotie et entraîne l'expression d'allèles délétères, partiellement récessifs, ainsi que la réduction de la fréquence des loci qui sont avantageux en tant qu'hétérozygotes. Dans certaines petites populations isolées depuis longtemps, la consanguinité peut faciliter l'élimination des allèles très délétères par la sélection naturelle, comme cela a déjà été rapporté chez les renards des îles et les dingos des îles (Robinson et al. 2018 ; Leon-Apodaca et al. 2024 ; mais voir Ralls et al. 2020 pour une critique de ce point de vue).

Cependant, la purge ne devrait pas éliminer tous les allèles délétères (Hedrick et Garcia-Dorado 2016 ; Dussex et al. 2021 ; Khan et al. 2021), et une taille de population constamment restreinte signifie que les allèles délétères devraient atteindre une fréquence ou une fixation élevée, ce qui entraînerait une diminution de la valeur sélective moyenne d'une population (Lynch et al. 1995). Comme le démontre l'exemple des loups de la Sierra Morena (la population la plus méridionale de l'aire de répartition du loup Ibérique), aujourd'hui éteinte, la persistance historique d'une population isolée et de petite taille ne doit pas être considérée comme une preuve de viabilité pour l'avenir (Gómez-Sánchez et al. 2018).

Les loups du sud-est de l'Alaska se sont séparés des populations voisines de l'intérieur de l'Alaska et de la Colombie-Britannique il y a environ 12 000 à 16 000 ans et ont toujours présenté une taille effective de population faible, en déclin depuis environ 600 ans (Nowak et Paradiso 1983 ; Nowak 1995 ; Pacheco et al. 2022). La faible diversité génétique et les coefficients de consanguinité élevés reflètent la diminution de la taille effective de la population, qui s'est particulièrement accentuée au cours des 280 dernières années (Pacheco et al. 2022). Cet isolement à **long terme** et la restriction géographique des loups dans le sud-est de l'Alaska, et en particulier dans la zone POW, ont maintenu la taille des populations à un niveau faible pendant des milliers d'années et ont peut-être facilité l'élimination des allèles récessifs délétères. **D'autre part**, ce schéma historique d'absence de flux génétique conduisant à une faible variation génétique et à une consanguinité individuelle très élevée pourrait entraîner une dépression consanguine. Il est important de noter que, malgré l'absence de preuves, aucune étude explicite visant à détecter une dépression consanguine

résultant du goulot d'étranglement génétique et de l'isolement n'a été menée chez les loups de POW. Des travaux supplémentaires sont nécessaires pour comprendre si la faible variation génétique et le niveau élevé de consanguinité individuels observés représentent des risques significatifs pour la persistance à long terme des populations étudiées et si des mesures de gestion telles que le transfert d'individus seraient bénéfiques.

Les transferts ou la migration assistée, l'introduction d'animaux captifs et la fourniture de progéniture adoptive font partie des outils que les gestionnaires peuvent envisager pour renforcer la diversité génétique des populations de loups consanguins (Harding et al. 2016 ; Hervey et al. 2021 ; Clement et al. 2024). Le flux génétique provenant d'autres populations peut compenser les effets négatifs de la consanguinité dans les petites populations isolées ; il est notamment recommandé de maintenir un flux génétique supérieur à 1 individu par génération (Laikre et al. 2016). **Cependant**, comme le montre la population de l'IRNP, l'immigration peu fréquente d'individus très prolifiques dans une population extrêmement petite peut entraîner une augmentation rapide de la fréquence du génome de l'immigrant, ce qui finit par exacerber la consanguinité et la dépression consanguine (Hedrick et al. 2019).

Les loups Scandinaves constituent également un cas où l'immigration a temporairement atténué la dépression consanguine dans une population petite et isolée (Akesson et al. 2016). La population de loups en Suède a été établie par deux individus en 1983 et est restée petite et fortement consanguine jusqu'à l'immigration de 1991 et 2007, qui a conduit à un succès reproductif plus élevé chez les loups consanguins et à une croissance de la population (Akesson et al. 2016). **Cependant**, ces effets ont été de courte durée, car l'hétérozygotie a diminué après quelques années et les immigrants ont également apporté de nouveaux allèles délétères à la population (Smeds et Ellegren 2023). **Par conséquent**, les efforts de translocation doivent être bien étudiés et conçus afin d'apporter régulièrement de la diversité génétique à la population réceptrice tout en évitant l'introduction d'allèles délétères ou de balayages génétiques contre-productifs.

5. Conclusions et travaux futurs

La faible variation génétique et les estimations élevées de consanguinité individuelle chez les loups de POW soulignent la nécessité de comprendre si la population présente une dépression consanguine avant de proposer et de mettre en œuvre des mesures de gestion. Bien que nous n'ayons pas mesuré la dépression consanguine dans cette étude, cela devrait être une priorité pour les recherches futures, car les conséquences démographiques de la dépression consanguine sont difficiles à prévoir sans mesurer directement ces effets. **Cependant**, la **mesure** de la dépression consanguine est difficile dans les populations sauvages (Kardos et al. 2016), en particulier celles qui sont cryptiques et rares. **De plus**, estimer la réduction de la valeur sélective due à la dépression consanguine est une tâche formidable dans les populations sauvages, car cela nécessite un échantillonnage important de mesures de la valeur sélective difficiles à obtenir (par exemple, la taille des portées, la survie des petits) sur de longues périodes (Clement et al. 2024). Idéalement, les recherches futures évalueraient la relation entre le succès de reproduction et la survie d'une part, et l'hétérozygotie individuelle et surtout les différences de condition physique entre les immigrants connus, leur progéniture et les loups consanguins résidents d'autre part. **Alternativement**, les recherches futures pourraient utiliser le séquençage du génome entier

pour estimer l'accumulation de variants génétiques délétères, qui pourraient entraîner une réduction de la condition physique (Bertorelle et al. 2022). **En outre**, des études de simulation visant à prédire les effets d'éventuels déplacements, croisements ou placements de loups sur l'augmentation de l'hétérozygotie et la réduction des niveaux de consanguinité seraient utiles pour gérer des populations viables de loups dans le sud-est de l'Alaska (Harding et al. 2016 ; Hervey et al. 2021).

Cette étude présente une utilisation précieuse des données de capture génomique pour approfondir notre compréhension de l'état des loups de l'archipel Alexander sur POW et dans le sud-est de l'Alaska. Nos résultats fournissent une base solide pour promouvoir et poursuivre les efforts de surveillance visant à comprendre la structure génétique et la consanguinité d'une population dont la conservation est préoccupante.

References

Adams, J. R., L. M. Vucetich, P. W. Hedrick, R. O. Peterson, and J. A. Vucetich. 2011. "Genomic Sweep and Potential Genetic Rescue During Limiting Environmental Conditions in an Isolated Wolf Population." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 278: 3336–3344.

Åkesson, M., O. Liberg, H. Sand, P. Wabakken, S. Bensch, and Ø. Flagstad. 2016. "Genetic Rescue in a Severely Inbred Wolf Population." *Molecular Ecology* 25: 4745–4756.

Albert, D. M., and J. W. Schoen. 2013. "Use of Historical Logging Patterns to Identify Disproportionately Logged Ecosystems Within Temperate Rainforests of Southeastern Alaska." *Conservation Biology* 27: 774–784.

Alexander, D. H., and K. Lange. 2011. "Enhancements to the ADMIXTURE Algorithm for Individual Ancestry Estimation." *BMC Bioinformatics* 12: 1–6.

Ausband, D. E. 2022a. "Genetic Diversity and Mate Selection in a Reintroduced Population of Gray Wolves." *Scientific Reports* 12: 1–8.

Ausband, D. E. 2022b. "Inherit the Kingdom or Storm the Castle? Breeding Strategies in a Social Carnivore." *Ethology* 128: 152–158.

Axelsson, E., I. Ljungvall, P. Bhoumik, et al. 2021. "The Genetic Consequences of Dog Breed Formation - Accumulation of Deleterious Genetic Variation and Fixation of Mutations Associated With Myxomatous Mitral Valve Disease in Cavalier King Charles Spaniels." *PLoS Genetics* 17: 1–34.

Benson, G. 1999. "Tandem Repeats Finder: A Program to Analyze DNA Sequences." *Nucleic Acids Research* 27: 573–580.

Bertorelle, G., F. Raffini, M. Bosse, et al. 2022. "Genetic Load: Genomic Estimates and Applications in Non-Model Animals." *Nature Reviews Genetics* 23: 492–503.

Bolger, A. M., M. Lohse, and B. Usadel. 2014. "Trimmomatic: A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data." *Bioinformatics* 30: 2114–2120.

Campbell, C. L., C. Bhérer, B. E. Morrow, A. R. Boyko, and A. Auton. 2016. "A Pedigree-Based Map of Recombination in the Domestic Dog Genome." *G3: Genes, Genomes, Genetics* 6: 3517–3524.

Charlesworth, D., and J. H. Willis. 2009. "The Genetics of Inbreeding Depression." *Nature Reviews Genetics* 10: 783–796.

Clement, M. J., J. K. Oakleaf, J. R. Heffelfinger, et al. 2024. "An Evaluation of Potential Inbreeding Depression in Wild Mexican Wolves." *Journal of Wildlife Management* 88: 1–17.

Collins, D., C. Alexander, and C. T. Darimont. 2019. "Staqeya: The Lone Wolf at the Edge of Its Ecological Niche." *Ecology* 100: 1–3.

Colpitts, J., P. D. McLoughlin, and J. Poissant. 2022. "Runs of Homozygosity in Sable Island Feral Horses Reveal the Genomic Consequences of Inbreeding and Divergence From Domestic Breeds." *BMC Genomics* 23: 1–17.

Cronin, M. A., A. Cánovas, D. L. Bannasch, A. M. Oberbauer, and J. F. Medrano. 2015. "Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Variation of Wolves (*Canis lupus*) in Southeast Alaska and Comparison With Wolves, Dogs, and Coyotes in North America." *Journal of Heredity* 106: 26–36.

Danecek, P., A. Auton, G. Abecasis, et al. 2011. "The Variant Call Format and VCFtools." *Bioinformatics* 27: 2156–2158.

Darimont, C. T., and P. C. Paquet. 2002. "The Gray Wolves, *Canis Lupus*, of British Columbia's Central and North Coast: Distribution and Conservation Assessment." *Canadian Field-Naturalist* 116: 416–422.

Dorendorf, R. 2022. "Survey Memo: GMU 2 Wolf Population Estimate, Fall 2022; Alaska Department of Fish and Game: Juneau, Alaska; 6p." https://www.adfg.alaska.gov/static/species/speciesinfo/wolf/pdfs/gmu2/gmu_2_fall_2022_wolf_pop_est_survey_memo_final.pdf.

Duntsch, L., A. Whibley, P. Brekke, J. G. Ewen, and A. W. Santure. 2021. "Genomic Data of Different Resolutions Reveal Consistent Inbreeding Estimates but Contrasting Homozygosity Landscapes for the Threatened Aotearoa New Zealand Hihi." *Molecular Ecology* 30: 6006–6020.

Dussex, N., T. van der Valk, H. E. Morales, et al. 2021. "Population Genomics of the Critically Endangered Kākāpō." *Cell Genomics* 1: 100002.

Efron, B., and R. J. Tibshirani. 1994. *An Introduction to the Bootstrap*. Chapman & Hall/CRC.

Faircloth, B., and T. Glenn. 2011. "Serapure." https://ethanomics.files.wordpress.com/2012/08/serapure_v2-2.pdf.

Farrell, L. L., J. J. Schoenebeck, P. Wiener, D. N. Clements, and K. M. Summers. 2015. "The Challenges of Pedigree Dog Health: Approaches to Combating Inherited Disease." *Canine Genetics and Epidemiology* 2: 1–14.

Frankham, R. 1998. "Inbreeding and Extinction: Island Populations." *Conservation Biology* 12: 665–675.

Fredrickson, R. J., P. Siminski, M. Woolf, and P. W. Hedrick. 2007. "Genetic Rescue and Inbreeding Depression in Mexican Wolves." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274: 2365–2371.

Freedman, A. H., I. Gronau, R. M. Schweizer, et al. 2014. "Genome Sequencing Highlights the Dynamic Early History of Dogs." *PLoS Genetics* 10: e1004016.

Geffen, E., M. Kam, R. Hefner, et al. 2011. "Kin Encounter Rate and Inbreeding Avoidance in Canids." *Molecular Ecology* 20: 5348–5358.

Gómez-Sánchez, D., I. Olalde, N. Sastre, et al. 2018. "On the Path to Extinction: Inbreeding and Admixture in a Declining Grey Wolf Population." *Molecular Ecology* 27: 3599–3612.

Hanley, T. A. 1984. *Relationships Between Sitka Black-Tailed Deer and Their Habitat*, 21. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Forest and Range Experiment Station.

Harding, L. E., J. Heffelfinger, D. Paetkau, E. Rubin, J. Dolphin, and A. Aoude. 2016. "Genetic Management and Setting Recovery Goals for Mexican Wolves (*Canis Lupus Baileyi*) in the Wild." *Biological Conservation* 203: 151–159.

Hedrick, P., J. Robinson, R. O. Peterson, and J. A. Vucetich. 2019. "Genetics and Extinction and the Example of Isle Royale Wolves." *Animal Conservation* 22: 302–309.

Hedrick, P. W., and A. Garcia-Dorado. 2016. "Understanding Inbreeding Depression, Purging, and Genetic Rescue." *Trends in Ecology & Evolution* 31: 940–952.

Hedrick, P. W., M. Kardos, R. O. Peterson, and J. A. Vucetich. 2016. "Genomic Variation of Inbreeding and Ancestry in the Remaining Two Isle Royale Wolves." *Journal of Heredity* 278: esw083.

Hedrick, P. W., R. O. Peterson, L. M. Vucetich, J. R. Adams, and J. A. Vucetich. 2014. "Genetic Rescue in Isle Royale Wolves: Genetic Analysis and the Collapse of the Population." *Conservation Genetics* 15: 1111–1121.

Hervey, S. D., L. Y. Rutledge, B. R. Patterson, et al. 2021. "A First Genetic Assessment of the Newly Introduced Isle Royale Gray Wolves (*Canis lupus*)." *Conservation Genetics* 22: 913–926.

Kardos, M., M. Åkesson, T. Fountain, et al. 2018. "Genomic Consequences of Intensive Inbreeding in an Isolated Wolf Population." *Nature Ecology & Evolution* 2: 124–131.

Kardos, M., E. E. Armstrong, S. W. Fitzpatrick, et al. 2021. "The Crucial Role of Genome-Wide Genetic Variation in Conservation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 118: 1–34.

Kardos, M., G. Luikart, and F. W. Allendorf. 2015. "Measuring Individual Inbreeding in the Age of Genomics: Marker-Based Measures Are Better Than Pedigrees." *Heredity* 115: 63–72.

Kardos, M., H. R. Taylor, H. Ellegren, G. Luikart, and F. W. Allendorf. 2016. "Genomics Advances the Study of Inbreeding Depression in the Wild." *Evolutionary Applications* 9: 1205–1218.

Kardos, M., Y. Zhang, K. M. Parsons, et al. 2023. "Inbreeding Depression Explains Killer Whale Population Dynamics." *Nature Ecology & Evolution* 7: 675–686.

Keller, L. F., and D. M. Waller. 2002. "Inbreeding Effects in Wild Populations." *Trends in Ecology & Evolution* 17: 230–241.

Khan, A., K. Patel, H. Shukla, et al. 2021. "Genomic Evidence for Inbreeding Depression and Purging of Deleterious Genetic Variation in Indian Tigers." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118: e2023018118.

Kirin, M., R. McQuillan, C. S. Franklin, H. Campbell, P. M. McKeigue, and J. F. Wilson. 2010. "Genomic Runs of Homozygosity Record Population History and Consanguinity." *PLoS One* 5: e13996.

Korneliussen, T. S., A. Albrechtsen, and R. Nielsen. 2014. "ANGSD: Analysis of Next Generation Sequencing Data." *BMC Bioinformatics* 15: 1–13.

Lacy, R. C. 1997. "Importance of Genetic Variation to the Viability of Mammalian Populations." *Journal of Mammalogy* 78: 320–335.

Laikre, L., F. Olsson, E. Jansson, O. Hössjer, and N. Ryman. 2016. "Metapopulation Effective Size and Conservation Genetic Goals for the Fennoscandian Wolf (*Canis Lupus*) Population." *Heredity* 117: 1–11. https://doi.org/10.1038/hdy.2016.44.

Leon-Apodaca, A. V., M. Kumar, A. Del Castillo, et al. 2024. "Genomic Consequences of Isolation and Inbreeding in an Island Dingo Population." *Genome Biology and Evolution* 16: 1–14.

Leroy, G. 2011. "Genetic Diversity, Inbreeding and Breeding Practices in Dogs: Results From Pedigree Analyses." *Veterinary Journal* 189: 177–182.

Li, H. 2013. *Aligning Sequence Reads, Clone Sequences and Assembly Contigs With BWA-MEM*. arXiv.

Li, H., B. Handsaker, A. Wysoker, et al. 2009. "The Sequence Alignment/Map Format and SAMtools." *Bioinformatics* 25: 2078–2079.

Liberg, O., H. Andrén, H.-C. Pedersen, et al. 2005. "Severe Inbreeding Depression in a Wild Wolf (*Canis lupus*) Population." *Biology Letters* 1: 17–20.

Lindblad-Toh, K., C. M. Wade, T. S. Mikkelsen, et al. 2005. "Genome Sequence, Comparative Analysis and Haplotype Structure of the Domestic Dog." *Nature* 438: 803–819.

Lobo, D., J. V. López-Bao, and R. Godinho. 2023. "The Population Bottleneck of the Iberian Wolf Impacted Genetic Diversity but not Admixture With Domestic Dogs: A Temporal Genomic Approach." *Molecular Ecology* 32: 5986–5999.

Lynch, M., J. Conery, and R. Burger. 1995. "Mutation Accumulation and the Extinction of Small Populations." *American Naturalist* 146: 489–518.

MacDonald, S. O., and J. A. Cook. 2007. *Mammals and Amphibians of Southeast Alaska*. Special Pu. The Museum of Southwestern Biology, The University of New.

Marsden, C. D., D. O. del Vecchyo, D. P. O'Brien, et al. 2016. "Bottlenecks and Selective Sweeps During Domestication Have Increased Deleterious Genetic Variation in Dogs." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113: 152–157.

McKenna, A., M. Hanna, E. Banks, et al. 2010. "The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce Framework for Analyzing Next-Generation DNA Sequencing Data." *Genome Research* 20: 1297–1303.

Mech, L. D. 2020. "Unexplained Patterns of Grey Wolf *Canis Lupus* Natal Dispersal." *Mammal Review* 50: 314–323.

Mech, L. D., S. M. Barber-Meyer, and J. Erb. 2016. "Wolf (*Canis lupus*) Generation Time and Proportion of Current Breeding Females by Age." *PLoS One* 11: 1.

Mech, L. D., and L. Boitani. 2003. "Wolf Social Ecology." In *Wolves: Behavior, Ecology, and Conservation*, edited by L. D. Mech and L. Boitani. University of Chicago Press.

Meyer, M., and M. Kircher. 2010. "Illumina Sequencing Library Preparation for Highly Multiplexed Target Capture and Sequencing." *Cold Spring Harbor Protocols* 2010: prot5448.

Morales-González, A., A. Fernández-Gil, M. Quevedo, and E. Revilla. 2022. "Patterns and Determinants of Dispersal in Grey Wolves (*Canis lupus*)." *Biological Reviews* 97: 466–480.

Morgulis, A., E. M. Gertz, A. A. Schäffer, and R. Agarwala. 2006. "WindowMasker: Window-Based Masker for Sequenced Genomes." *Bioinformatics* 22: 134–141.

Muñoz-Fuentes, V., C. T. Darimont, P. C. Paquet, and J. A. Leonard. 2010. "The Genetic Legacy of Extirpation and Re-Colonization in Vancouver Island Wolves." *Conservation Genetics* 11: 547–556.

Nielsen, R., J. S. Paul, A. Albrechtsen, and Y. S. Song. 2011. "Genotype and SNP Calling From Next-Generation Sequencing Data." *Nature Reviews Genetics* 12: 443–451.

Nowak, R. M. 1995. "Another Look at Wolf Taxonomy." In *Ecology and Conservation of Wolves in a Changing World*, edited by L. N. Carbyn, S. H. Fritts, and D. R. Seip, 375–398. Canadian Circumpolar Institute, Occasional Publication 35.

Nowak, R. M., and J. L. Paradiso. 1983. *Walker's Mammals of the World*. Johns Hopkins University Press.

Oberbauer, A. M., J. M. Belanger, T. Bellumori, D. L. Bannasch, and T. R. Famula. 2015. "Ten Inherited Disorders in Purebred Dogs by Functional Breed Groupings." *Canine Genetics and Epidemiology* 2: 9.

Pacheco, C., H. Rio-Maior, M. Nakamura, F. Álvares, and R. Godinho. 2024. "Relatedness-Based Mate Choice and Female Philopatry: Inbreeding Trends of Wolf Packs in a Human-Dominated Landscape." *Heredity* 132: 211–220.

Pacheco, C., A. V. Stronen, B. Jędrzejewska, et al. 2022. "Demography and Evolutionary History of Grey Wolf Populations Around the Bering Strait." *Molecular Ecology* 31: 4851–4865.

Paetkau, D., G. F. Shields, and C. Strobeck. 1998. "Gene Flow Between Insular, Coastal and Interior Populations of Brown Bears in Alaska." *Molecular Ecology* 7: 1283–1292.

Paijmans, J. L., J. Fickel, A. Courtiol, M. Hofreiter, and D. W. Förster. 2016. "Impact of Enrichment Conditions on Cross-Species Capture of Fresh and Degraded DNA." *Molecular Ecology Resources* 16: 42–55.

Pedersen, N. C., L. Brucker, N. G. Tessier, et al. 2015. "The Effect of Genetic Bottlenecks and Inbreeding on the Incidence of Two Major Autoimmune Diseases in Standard Poodles, Sebaceous Adenitis and Addison's Disease." *Canine Genetics and Epidemiology* 2: 14.

Person, D. K., and M. A. Ingle. 1995. Ecology of the Alexander Archipelago Wolf and Responses to Habitat Change; Progress Report 3; Alaska Department of Fish and Game: Douglas, AK, USA, 39.

Person, D. K., and A. L. Russell. 2008. "Correlates of Mortality in an Exploited Wolf Population." *Journal of Wildlife Management* 72: 1540–1549.

Peterson, R. O., and J. A. Vucetich. 2017. "Ecological Studies of Wolves on Isle Royale, 2016-2017." https://doi.org/10.37099/mtu.dc.wolf-annualreports/2016-2017.

Peterson, R. O., J. A. Vucetich, J. M. Bump, and D. W. Smith. 2014. "Trophic Cascades in a Multicausal World: Isle Royale and Yellowstone." *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 45: 325–345.

Price, A. L., N. J. Patterson, R. M. Plenge, M. E. Weinblatt, N. A. Shadick, and D. Reich. 2006. "Principal Components Analysis Corrects for Stratification in Genome-Wide Association Studies." *Nature Genetics* 38: 904–909.

Quinlan, A. R., and I. M. Hall. 2010. "BEDTools: A Flexible Suite of Utilities for Comparing Genomic Features." *Bioinformatics* 26: 841–842.

R Core Team. 2021. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. https://www.R-project.org/.

Räikkönen, J., J. A. Vucetich, R. O. Peterson, and M. P. Nelson. 2009. "Congenital Bone Deformities and the Inbred Wolves (*Canis lupus*) of Isle Royale." *Biological Conservation* 142: 1025–1031.

Räikkönen, J., J. A. Vucetich, L. M. Vucetich, R. O. Peterson, and M. P. Nelson. 2013. "What the Inbred Scandinavian Wolf Population Tells us About the Nature of Conservation." *PLoS One* 8: e67218.

Ralls, K., P. Sunnucks, R. C. Lacy, and R. Frankham. 2020. "Genetic Rescue: A Critique of the Evidence Supports Maximizing Genetic Diversity Rather Than Minimizing the Introduction of Putatively Harmful Genetic Variation." *Biological Conservation* 251: 108784.

Robinson, J., C. C. Kyriazis, S. C. Yuan, and K. E. Lohmueller. 2023. "Deleterious Variation in Natural Populations and Implications for Conservation Genetics." *Annual Review of Animal Biosciences* 11: 93–114.

Robinson, J. A., C. Brown, B. Y. Kim, K. E. Lohmueller, and R. K. Wayne. 2018. "Purging of Strongly Deleterious Mutations Explains Long-Term Persistence and Absence of Inbreeding Depression in Island Foxes." *Current Biology* 28: 3487–3494.e4.

Robinson, J. A., J. Räikkönen, L. M. Vucetich, et al. 2019. "Genomic Signatures of Extensive Inbreeding in Isle Royale Wolves, a Population on the Threshold of Extinction." *Science Advances* 5: eaau0757.

Roffler, G. H., D. P. Gregovich, and K. R. Larson. 2018. "Resource Selection by Coastal Wolves Reveals the Seasonal Importance of Seral Forest and Suitable Prey Habitat." *Forest Ecology and Management* 409: 190–201.

Roffler, G. H., K. L. Pilgrim, and B. C. Williams. 2024. "Patterns of Wolf Dispersal Respond to Harvest Density Across an Island Complex." *Animals* 14: 622.

Roffler, G. H., J. N. Waite, R. W. Flynn, K. R. Larson, and B. D. Logan. 2016. *Wolf Population Estimation on Prince of Wales Island, Southeast Alaska: A Comparison of Methods*, 58. Alaska Department of Fish and Game; Final Wildlife Research Report ADF&G/DWC/WRR-2016-1.

Salado, I., M. Preick, N. Lupiáñez-Corpas, et al. 2024. "Large Variance in Inbreeding Within the Iberian Wolf Population." *Journal of Heredity* 115: 349–359.

Shaffer, M. L. 1987. "Minimum Viable Populations: Coping With Uncertainty." In *Viable Populations for Conservation*, edited by M. E. Soulé, 69–86. Cambridge University Press.

Sikes, R. S., and W. L. Gannon. 2011. "Guidelines of the American Society of Mammalogists for the Use of Wild Mammals in Research." *Journal of Mammalogy* 92: 235–253.

Smeds, L., and H. Ellegren. 2023. "From High Masked to High Realized Genetic Load in Inbred Scandinavian Wolves." *Molecular Ecology* 32: 1567–1580.

Smit, A. F. A., R. Hubley, and P. Green. 2015. "RepeatMasker Open-4.0 2013–2015." http://www.repeatmasker.org.

Stoffel, M. A., S. E. Johnston, J. G. Pilkington, and J. M. Pemberton. 2021. "Genetic Architecture and Lifetime Dynamics of Inbreeding Depression in a Wild Mammal." *Nature Communications* 12: 1–10.

Stronen, A. V., E. L. Navid, M. S. Quinn, P. C. Paquet, H. M. Bryan, and C. T. Darimont. 2014. "Population Genetic Structure of Gray Wolves (*Canis Lupus*) in a Marine Archipelago Suggests Island-Mainland Differentiation Consistent With Dietary Niche." *BMC Ecology* 14: 11.

Thompson, E. A. 2013. "Identity by Descent: Variation in Meiosis, Across Genomes, and in Populations." *Genetics* 194: 301–326.

U.S. Fish and Wildlife Service. 2023. Species Status Assessment Report for the Alexander Archipelago Wolf (*Canis lupus ligoni*); Version 2.1; U.S. Fish and Wildlife Service: Anchorage, Alaska.

Viluma, A., Ø. Flagstad, M. Åkesson, et al. 2022. "Whole-Genome Resequencing of Temporally Stratified Samples Reveals Substantial Loss of Haplotype Diversity in the Highly Inbred Scandinavian Wolf Population." *Genome Research* 32: 449–458.

von Holdt, B. M., A. L. Decandia, K. A. Cassidy, et al. 2024. "Patterns of Reproduction and Autozygosity Distinguish the Breeding From Nonbreeding Gray Wolves of Yellowstone National Park." *Journal of Heredity* 115: 327–338.

von Holdt, B. M., D. R. Stahler, D. W. Smith, D. A. Earl, J. P. Pollinger, and R. K. Wayne. 2008. "The Genealogy and Genetic Viability of Reintroduced Yellowstone Grey Wolves." *Molecular Ecology* 17: 252–274.

Wayne, R. K., N. Lehman, D. Girman, et al. 1991. "Conservation Genetics of the Endangered Isle Royale Gray Wolf." *Conservation Biology* 5, no. 1: 41–51.

Weckworth, B. V., S. Talbot, G. K. Sage, D. K. Person, and J. Cook. 2005. "A Signal for Independent Coastal and Continental Histories Among North American Wolves." *Molecular Ecology* 14: 917–931.

Wolf Technical Committee. 2017. *Interagency Wolf Habitat Management Program: Recommendations for Game Management Unit 2. Management Bulletin R10-MB-822*. USDA Forest Service, USDI Fish and Wildlife Service, and Alaska Department of Fish and Game.

Zhang, J., K. Kobert, T. Flouri, and A. Stamatakis. 2014. "PEAR: A Fast and Accurate Illumina Paired-End reAd mergeR." *Bioinformatics* 30: 614–620.

Supporting Information

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section. **Appendix S1:** eva70144-sup-0001-AppendixS1.docx.