

Les analyses du génome complet ne fournissent aucune preuve d'introgression canine dans les populations de loups Fennoscandiennes

Received: 8 July 2020 | Revised: 9 October 2020 | Accepted: 11 October 2020

DOI: 10.1111/eva.13151

ORIGINAL ARTICLE

Evolutionary Applications
Open Access

WILEY

Whole-genome analyses provide no evidence for dog introgression in Fennoscandian wolf populations

Linnéa Smeds¹  | Jouni Aspi² | Jonas Berglund¹ | Ilpo Kojola³ |
Konstantin Tirronen⁴ | Hans Ellegren¹ 

Résumé

L'hybridation et le **métissage** peuvent menacer l'intégrité génétique des populations et être particulièrement préoccupants pour les espèces menacées. L'hybridation entre les loups gris et les chiens a été documentée dans de nombreuses populations de loups à travers le monde et constitue un exemple frappant d'hybridation induite par l'homme entre une espèce domestiquée et son cousin sauvage. Nous avons analysé les séquences du génome complet de plus de 200 loups et plus de 100 chiens afin d'étudier le **métissage** dans les populations de loups de Fennoscandie. Une analyse en composantes principales de la variation génétique et AdmixTURE ont montré que les loups et les chiens étaient bien séparés, **sans preuve d'introgression**. Les analyses de l'ascendance locale ont révélé que les loups avaient moins de 1% d'ascendance mixte, des niveaux comparables au degré d'ascendance mixte chez de nombreux chiens, et probablement non résultant d'une hybridation récente entre loups et chiens. Nous montrons également que les **fondeurs** de la population de loups Scandinaves étaient génétiquement indissociables des loups Finlandais et Russes de Carélie, ce qui indique l'origine géographique des loups Scandinaves contemporains. **De plus**, nous avons trouvé des animaux nés en Scandinavie parmi les loups échantillonnés en Finlande, ce qui démontre un flux génétique **bidirectionnel** entre la péninsule Scandinave et les pays de l'Est. La faible incidence du métissage entre les loups et les chiens en Fennoscandie peut s'expliquer par le fait que les chiens sauvages sont rares dans cette partie de l'Europe et que la surveillance et la gestion rigoureuses permettent d'éliminer les hybrides avant qu'ils ne se croisent avec les populations de loups.

MOTS-CLÉS : métissage, génomique de conservation, loup gris, hybridation, introgression

1. INTRODUCTION

L'hybridation entre espèces ou populations est fréquente dans la nature (Arnold, 1997 ; Harrison, 1993 ; Mallet, 2005) et peut entraîner l'**introgression** de matériel génétique entre taxons. Dans certaines conditions, cela peut être avantageux pour le récepteur si les variants introgressés augmentent la valeur sélective (« introgression adaptative » (par exemple,

Burgarella et al., 2019)), voire conduire à la formation de nouvelles espèces (« spéciation hybride » (Mallet, 2007 ; Rieseberg, 1997 ; Schumer et al., 2014)).

Pour la gestion et la conservation de la faune sauvage, **cependant**, l'hybridation est problématique (Allendorf et al., 2001 ; Jackiw et al., 2015). Elle menace l'intégrité génétique des populations menacées et peut entraîner une perte de diversité génétique et, à terme, l'extinction (Rhymer & Simberloff, 1996 ; Wolf et al., 2001). Une stratégie courante dans les populations surveillées consiste à éliminer les hybrides de première génération, mais il existe rarement des lignes directrices sur la manière de traiter les individus rétrocroisés, par exemple en ce qui concerne les niveaux d'ascendance à prendre en compte pour classer un individu comme pur ou **métissé** (Allendorf et al. 2004 : Jackiw et al., 2015). Dans la pratique, il a également été difficile de quantifier les niveaux de métissage. Le développement rapide de la technologie de séquençage du génome entier est en train de changer la situation et augmente considérablement la capacité à détecter même de petites quantités de **métissage**.

On pense que l'incidence de l'hybridation a augmenté au cours des derniers siècles en raison de l'impact anthropique. L'hybridation induite par l'homme peut par exemple se produire par le transfert d'organismes ou la modification de leur habitat (Allendorf et al., 2001). Un type d'hybridation particulièrement problématique est celui entre les espèces domestiquées et leurs parents sauvages (Donfrancesco et al., 2019 ; Randi, 2008). Ce phénomène a été signalé dans une longue liste de taxons, notamment les cultures (Anderson & de Vicente, 2010), les oiseaux (Heikkinen et al., 2020 ; Lavretsky et al., 2019) et les canidés (Pilot et al., 2018), et il est mal vu en raison du risque de propagation dans la nature de gènes sélectionnés artificiellement. La taille et l'aire de répartition des espèces domestiquées dépassent généralement celles de leurs ancêtres sauvages. Lorsque des animaux domestiqués sont libérés, intentionnellement ou non, l'hybridation avec les populations sauvages peut entraîner une perte de diversité et un envahissement génétique (revue dans Todesco et al. (2016)).

La **première** espèce à avoir été domestiquée est le chien (*Canis lupus familiaris*), issu du loup gris (*Canis lupus*) à la fin du Pléistocène. La date et le lieu exacts de la domestication font l'objet de débats, mais il a été suggéré que les chiens descendent d'une population de loups Eurasiens aujourd'hui éteinte et constituent donc une lignée sœur des loups Eurasiens modernes (revue dans Freedman et Wayne (2017)). Après la séparation des lignées, il y a eu des mélanges répétés entre les chiens et les loups (par exemple Fan et al., 2016 ; Pilot et al., 2018 ; Sinding et al., 2020 ; Skoglund et al., 2015), ce qui a entraîné une **introgression bidirectionnelle**. Par exemple, un allèle codant pour la couleur noire du pelage aurait été transféré des chiens aux loups (Anderson et al., 2009 ; Schweizer et al., 2018), et comme exemple d'introgression dans le sens inverse, l'adaptation à l'altitude élevée s'est propagée des loups Tibétains aux chiens de la même région (vonHoldt et al., 2017). **De plus**, les loups ont une histoire d'hybridation avec les coyotes dans le Nouveau Monde (par exemple Wayne, 1993) et avec les chacals dans le sud de l'Eurasie (Freedman et al., 2014), ce qui a donné lieu à des schémas de mélange complexes.

À l'échelle mondiale, le nombre de loups a considérablement diminué au cours des derniers siècles en raison de la chasse et de l'urbanisation croissante (par exemple Mech, 1995). En Europe, de nombreuses populations de loups ont été conduites à une extinction partielle ou totale, mais des actions juridiques et des efforts de conservation ont conduit au retour des

loux dans de nombreuses régions (Chapron et al., 2014 ; Kaczensky et al., 2013). **Cependant**, de nombreuses voix critiques, en particulier dans les zones rurales, s'élèvent contre l'augmentation des populations de loups, souvent en référence à l'impact négatif sur l'élevage et la chasse au gibier (Hindrikson et al., 2017). Cette préoccupation semble particulièrement forte dans les régions où les populations ont récemment été rétablies, là où les loups avaient autrefois disparu (Boitani, 2005 ; Dufresnes et al., 2019 ; Liberg, 2005). Cela vaut pour la population Scandinave de loups gris.

Les loups étaient autrefois communs dans toute la péninsule Scandinave, mais la population a été poussée à l'extinction à la fin des années 1960 après une persécution intensive et prolongée. **Cependant**, au début des années 1980, une nouvelle population a été fondée dans le sud de la Suède par **deux** individus isolés (Wabakken et al., 2001). Le fait qu'ils soient apparus à 1 000 km de la population de loups la plus proche en Finlande et en Russie a fait naître des soupçons quant au caractère naturel de leur installation. La population a été étroitement surveillée dès le début (Wabakken et al., 2001), ce qui a permis de documenter l'existence d'un seul territoire de loups au cours des années 1980, où tous les loups pouvaient être retracés jusqu'aux deux fondateurs.

Un **troisième** fondateur est apparu en 1991 et a sauvé la population de la dépression consanguine (Vilà, Sundqvist et al., 2003). **Depuis lors**, une expansion continue a conduit à une population actuelle de 450 individus et environ 70 couples territoriaux (Wabakken et al., 2020).

Plus récemment, d'autres immigrants se sont reproduits (Akesson et al., 2016 ; Akesson & Svensson, 2020). Comme c'est le cas pour de nombreuses autres populations de loups dans le monde (Andersone et al., 2002 ; Godinho et al., 2011 ; Randi et al., 2014), une éventuelle hybridation avec des chiens (ou même une origine incluant des chiens) aurait des implications sur les mesures de gestion et le statut de conservation de la population.

Nous présentons ici une analyse de **mélange** à grande échelle basée sur les séquences du génome complet de plus de 200 loups de Scandinavie, de Finlande et de Russie (Carélie), échantillonnés sur plusieurs années. Nous comparons ces données à celles d'un grand nombre de chiens de plusieurs races et à celles de loups d'autres régions du monde. Notre objectif était d'évaluer s'il existe des preuves d'un métissage entre les loups et les chiens de Fennoscandie (Scandinavie, Finlande et Carélie russe) et d'étudier les relations génétiques entre les populations de loups de Fennoscandie.

2. MATERIEL et METHODES

2.1. Séquençage

Nous avons séquencé les génomes de 23 loups de Finlande et de 15 loups de Carélie Russe avec une couverture moyenne de 30x, en suivant la même procédure que Kardos et al. (2018) et Smeds et al. (2019). Nous avons également séquencé trois hybrides F₁ loups-chiens du sud de la Suède, qui ont été identifiés lors de l'inventaire annuel et éliminés par la chasse protectrice (Wabakken et al., 2018). En bref, l'ADN a été extrait de tissus congelés (échantillons Finlandais et hybrides F₁) ou de morceaux de peau séchés (échantillons Russes) et les bibliothèques de séquençage ont été préparées à l'aide du kit de préparation d'échantillons d'ADN TruSeq Nano, en visant une taille d'insert de 350 pb. Un séquençage

apparié avec une longueur de lecture de 150 pb a été effectué sur un instrument X Illumina HiSeq.

2.2. Données accessibles au public

Nous avons utilisé les séquences génomiques de 98 loups Scandinaves et 75 loups Finlandais provenant de Kardos et al. (2018) et Smeds et al. (2019). Nous avons également téléchargé des données de séquences génomiques accessibles au public (séquences Illumina paired-end) provenant de 11 loups Chinois, trois loups Russes et 10 loups nord-Américains (Arctiques), ainsi que de 112 chiens. Une liste de tous les échantillons et de leurs numéros d'accès est fournie dans le Tableau S1.

Pour les chiens, nous nous sommes efforcés d'inclure les séquences du plus grand nombre possible d'individus issus de races nordiques et arctiques, complétées par un mélange de chiens de race et de chiens « de village ». Nous les avons regroupés respectivement en chiens Européens (principalement des chiens de race moderne) et Asiatiques (chiens de race et chiens de village), car des études antérieures ont montré que ces groupes étaient génétiquement distincts (Frantz et al., 2016). Nous avons laissé les races nordiques et arctiques former un groupe distinct, car il a été suggéré que ces races représentent des clades « anciens » ou « basaux » (Larson et al., 2012 ; vonHoldt et al., 2010). **De plus**, la plupart des races nordiques et arctiques sont morphologiquement plus proches des loups que les autres races et pourraient être plus susceptibles de se croiser avec eux.

2.3. Cartographie des lectures et détection des variants

Toutes les lectures ont été cartographiées sur le génome de référence du chien (CanFam3.1, (Lindblad-Toh et al., 2005)) à l'aide de BWA-MEM version 0.7.17 (Li & Durbin, 2009), triées avec SAMTOOLS version 1.9 (Li et al., 2009) et déduplicées avec PICARD version 2.10.3 ([http:// broadinstitute.github.io/picard/](http://broadinstitute.github.io/picard/)) en utilisant les paramètres par défaut. Les échantillons nouvellement séquencés ont été recalibrés à l'aide de GATK's BaseRecalibrator v 3.8 (McKenna et al., 2010) conformément aux « meilleures pratiques GATK » (Van der Auwera et al., 2013). Nous avons utilisé les sites polymorphiques connus de Kardos et al. (2018) ainsi que les données publiques sur les variations chez les chiens provenant de 219 individus (numéro d'accès PRJEB25066, téléchargées à partir de <https://www.ebi.ac.uk/eva/?eva-study=PRJEB24066>). Ces dernières ont été incluses pour tenir compte des variations chez les hybrides.

Tous les échantillons ont été analysés individuellement à la recherche de variants à l'aide du logiciel HaplotypeCaller v 3.8 de GATK, puis les données sur le polymorphisme ont été fusionnées avec le logiciel GenotypeGVCFs de GATK. Nous avons extrait les polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) bialléliques et supprimé tous les sites présentant uniquement des appels hétérozygotes ou homozygotes. Les données ont été filtrées à l'aide de VariantFiltration de GATK, conformément au protocole alternatif 2 des meilleures pratiques GATK (le VOSR n'a pas été effectué en raison de l'absence d'un véritable ensemble de référence SP pour le loup). Nous avons ensuite supprimé les sites dont la couverture moyenne globale était inférieure à 10 (afin de réduire l'incidence des sites présentant des allèles potentiellement manquants) ou dont la couverture moyenne était supérieure au double de la couverture génomique (afin d'éviter les régions problématiques telles que les duplications, qui pourraient entraîner de faux SP), et avons supprimé tous les

appels individuels dont la qualité du génotype était inférieure à 30. Dans l'ensemble final, nous n'avons conservé que les sites avec un nombre d'allèles mineurs ≥ 2 (correspondant à une fréquence d'allèles mineurs (MAF) de 0,003) et où moins de 5% des individus présentaient des appels manquants. Toutes les étapes de filtrage ont été effectuées avec VCFTools version 0.1.15 (Danecek et al., 2011). Le fichier VCF final a été converti au format PLINK avec VCFTools. Pour toutes les analyses en aval, seules les données autosomiques (chromosomes 1 à 38) ont été utilisées.

L'éclaircissement des sites liés (appelé « filtrage LD ») pour les analyses ADMIXTURE et d'ascendance locale a été effectué avec PLINK version 1.9 (Purcell et al., 2007) en utilisant le drapeau `--indep-pairwise 50kb 1 0.5` (ce qui signifie que pour chaque paire de SNP dans des fenêtres de 50 kb avec un coefficient de corrélation supérieur à 0,5, l'un d'eux a été supprimé). Nous avons également testé un seuil de corrélation de 0,1, ce qui a considérablement réduit le nombre de marqueurs, mais n'a pas affecté les résultats.

2.4. Parenté

Comme tous les individus nés en Scandinavie sont apparentés les uns aux autres, nous les avons exclus des analyses où des échantillons non apparentés étaient nécessaires. Parmi les immigrants en Scandinavie, deux paires d'individus étaient apparentées à un niveau correspondant à celui de frères et sœurs germains ; nous avons exclu un individu de chacune de ces paires. Pour les populations Finlandaise et Russe, les échantillons apparentés ont été supprimés à l'aide de PLINK `--rel-cutoff 0,05`. Nous avons également constaté un degré élevé de parenté entre un individu finlandais et un individu russe, ainsi qu'entre un autre individu finlandais et un immigrant scandinave. Nous avons supprimé l'individu Finlandais dans les deux cas afin d'équilibrer la taille des groupes

2.5. Analyse en composantes principales

Les composantes principales ont été calculées avec PuNK version 2.0 à l'aide du drapeau `--pca`. Le pourcentage de variance expliquée a été calculé à partir de la sortie `eigenval`. Les deux premières composantes principales ont été utilisées pour le tracé.

La consanguinité chez les loups Scandinaves a été obtenue à partir de Kardos et al. (2018), sur la base de la proportion du génome couverte par des séquences d'homozygotie (F_{ROH}). Le nombre de générations jusqu'à l'ancêtre fondateur le plus proche dans cette population a été calculé à partir du pedigree Scandinave (Akesson & Svensson, 2016) à l'aide d'un script perl. Tous les graphiques ont été tracés dans R version 3.6.1 (R Core Team, 2019).

2.6. Analyse ADMIXTURE

ADMIXTURE estime les proportions respectives d'un nombre donné d'ascendants pour un individu à l'aide d'une approche bayésienne (Alexander et al., 2009). Comme le programme part du principe que les individus ne sont pas apparentés, nous n'avons utilisé qu'un sous-ensemble non apparenté d'immigrants, de loups Finlandais et Russes de Carélie, comme expliqué ci-dessus, ainsi que des loups Chinois et nord-Américains de l'Arctique et tous les chiens. Il a été démontré que les analyses ADMIXTURE sont affectées par des tailles d'échantillons inégales (Meirmans, 2019 ; Puechmaille, 2016). Nous n'avons donc pas inclus les génomes de loups individuels disponibles provenant d'autres régions d'Europe (Espagne, Portugal, Italie, Croatie et Israël) et d'Asie (Iran et Inde).

Nous avons utilisé ADMIXTURE v1.3.0 avec $K = (2,10]$ et le drapeau `--cv` pour calculer les erreurs de validation croisée pour chaque K . Nous avons également évalué le meilleur K à l'aide de la méthode pour les tailles d'échantillons inégales suggérée par Puechmaille (2016) et mise en œuvre dans STRUCTURESELECTOR (Li & Liu, 2018). Afin d'éviter davantage le biais lié à la taille de l'échantillon, nous avons **sous-échantillonné** l'ensemble des chiens Européens, celui-ci étant considérablement plus important que tous les autres ensembles, en extrayant aléatoirement 20 individus.

2.7. Variantes de phasage

Les variantes filtrées de tous les individus ont été phasées à l'aide de SHAPEIT4 (Delaneau et al., 2019) avec N_e réglé sur 1 500 et en utilisant les taux de recombinaison de la carte génétique basée sur le pedigree développée pour les chiens (Campbell et al., 2016).

2.8. Analyses de l'ascendance locale avec PCADMIX

PCADMIX utilise deux populations pures comme proxy pour les populations ancestrales et attribue chaque haplotype phasé à l'un des « ancêtres » (Brisbin et al., 2012). Nous avons d'abord utilisé des SNP filtrés par LD provenant de loups et de chiens non apparentés (à l'exclusion des individus présentant plus de 10% de sites manquants), comme les deux populations ancestrales pour évaluer le mélange dans le F_2 , les hybrides, avec les paramètres `-ld 0` et différentes tailles de fenêtre `-w` allant de 20 (par défaut) à 200 SP dans PCADMIX version 3. Comme la position génétique des marqueurs est requise, nous avons utilisé la carte canine susmentionnée de Campbell et al. (2016).

Pour évaluer le métissage chez les loups scandinaves et les immigrants en Scandinavie, nous avons utilisé des loups Finlandais, Caréliens Russes, Chinois et nord-Américains non apparentés comme population ancestrale de loups. Pour les loups finlandais et caréliens russes, nous avons choisi des populations ancestrales de loups de manière correspondante. Dans les trois cas, tous les chiens (avec <10% de sites manquants) ont été utilisés comme population ancestrale de chiens et nous avons fixé `-w` à 100.

Afin d'évaluer la robustesse de l'analyse, nous avons effectué plusieurs essais avec différents nombres d'individus ancestraux et de marqueurs. Lorsque des sous-ensembles de populations ont été utilisés, les individus ont été choisis au hasard à l'aide de la commande `bash shuf`. Pour chaque taille de population ancestrale, nous avons répété l'analyse cinq fois en utilisant différents ensembles d'individus. Pour tester l'effet d'un nombre variable de marqueurs, l'ensemble de marqueurs a d'abord été réduit en utilisant un seuil de fréquence allélique mineur plus strict de 20,05 ou $\geq 0,10$, puis en n'autorisant qu'un seul marqueur pour chaque 5, 10, 20, 30 et 50 kb, respectivement, à l'aide de l'option `-thin` dans VCFtools. Pour toutes les analyses PCADMIX, nous avons calculé l'ascendance canine comme la somme des régions attribuées avec certitude au chien à partir de l'algorithme avant-arrière, c'est-à-dire uniquement les régions qui répondaient au seuil de confiance par défaut de 0,9.

Pour évaluer la fraction d'ascendance lupine chez les chiens, nous avons extrait au hasard 50 chiens (et 50 loups) avec `shuf` afin de les utiliser comme populations ancestrales, tandis que les chiens restants ont été utilisés comme population métissée dont l'ascendance devait être

déduite. L'ascendance lupine a été calculée à l'aide de la même méthode que pour l'ascendance canine chez les loups (voir ci-dessus).

2.9. Analyses de l'ascendance locale avec ELAI

ELAI utilise un modèle de Markov caché à deux couches pour déduire l'ascendance locale (Guan, 2014). Tout comme PCAdmix, il nécessite deux populations ancestrales en entrée, mais il présente l'avantage de ne pas nécessiter de génomes phasés. Nous avons exécuté ELAI avec la même configuration d'individus que pour PCAdmix, en utilisant les paramètres suggérés *-s 30 -C 2 -c 10* (ce qui signifie 30 étapes EM, deux clusters de couche supérieure et dix clusters de couche inférieure), et deux nombres différents de générations de mélange (*-mg 10 ou -mg 100*, ce qui signifie le nombre de générations pendant lesquelles le mélange a eu lieu).

Nous avons utilisé l'ensemble complet de SP (sans filtrage LD) car ELAI intègre des modèles LD dans son modèle. Chaque configuration a été exécutée cinq fois, et le résultat a été moyenné sur l'ensemble des exécutions.

3. RESULTATS

3.1. Regroupement génétique des individus basé sur l'analyse en composantes principales

Après un filtrage rigoureux des séquences du génome complet, nous avons obtenu un ensemble de 3 456 384 SNP autosomiques provenant de 210 loups (97 Scandinaves, 98 Finlandais et 15 Russes de Carélie), 112 chiens et trois hybrides loup-chien F₁. Les loups Scandinaves comprenaient 85 animaux nés en Suède ou en Norvège, dont la femelle fondatrice échantillonnée en 1985, et 12 loups immigrants trouvés principalement dans le nord de la Suède et de la Norvège. Les hybrides F₁ étaient trois frères et sœurs issus d'une portée née à l'état sauvage dans le sud de la Suède en 2017, résultat d'un croisement entre une louve de la population Scandinave et un chien non identifié (Wabakken et al., 2018).

L'ACP a montré que les chiens et les loups étaient bien séparés les uns des autres, les trois hybrides F₁ se situant exactement entre le groupe des chiens et celui des loups Scandinaves (Figure 1a). Les loups nés en Scandinavie se sont séparés des loups Finlandais et Russes de Carélie le long de la PC2, les deux derniers groupes étant indissociables. La femelle fondatrice de la population Scandinave, apparentée à pratiquement tous les loups Scandinaves, s'est regroupée avec les loups Scandinaves, tandis que tous les immigrants Scandinaves se sont regroupés avec les loups Finlandais et Russes de Carélie.

Le schéma décrit ci-dessus comporte quelques exceptions. Les deux loups nés en Scandinavie observés dans le groupe Finno-Russe de Carélie sont les descendants directs d'un couple d'immigrants (transférés dans le sud de la Suède) et ne sont donc pas apparentés au reste de la population Scandinave. Trois individus échantillonnés en Finlande se sont regroupés avec les loups Scandinaves. Les coefficients de parenté très élevés entre chacun de ces trois individus et plusieurs loups nés en Scandinavie suggèrent qu'ils proviennent de la population Scandinave et ont émigré en Finlande.

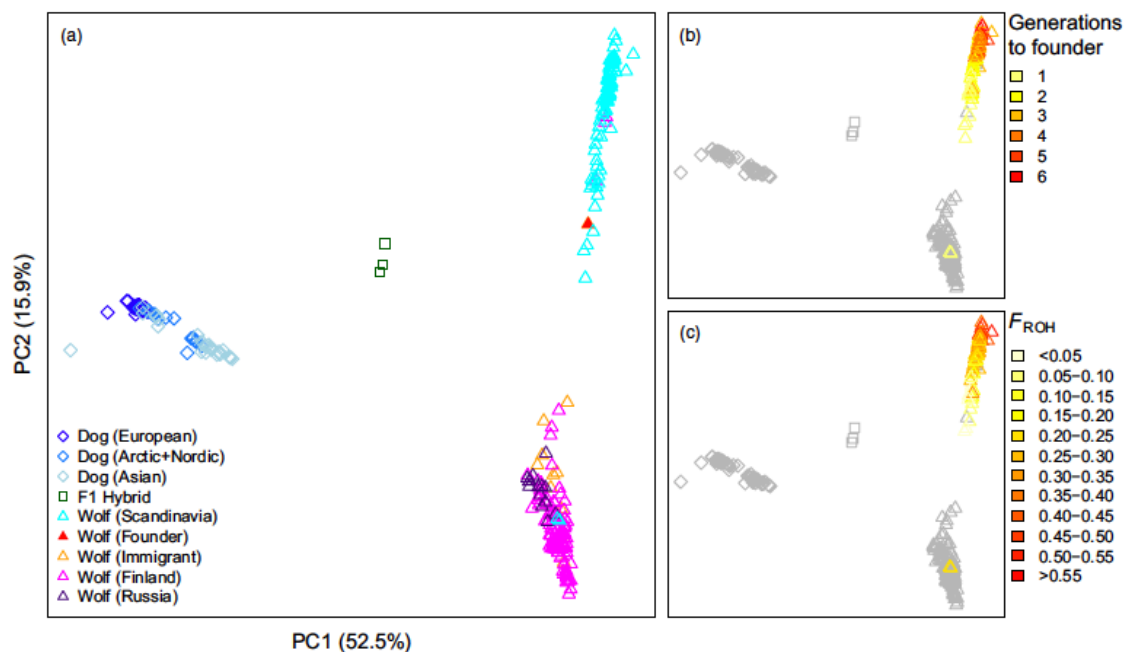


FIGURE 1. ACP des loups et des chiens, basée sur les données de séquençage du génome complet. **(a)** Tous les loups Scandinaves, Finlandais et Russes de Carélie, trois hybrides F1 et 112 chiens téléchargés. **(b-c)** Même ACP que dans 1a, mais montrant l'effet de la dérive et de la consanguinité chez les loups scandinaves. Les autres échantillons sont représentés en gris pour une meilleure visibilité. **(b)** Loups nés en Scandinavie colorés en fonction du nombre de générations par rapport au fondateur le plus proche. **(c)** Loups nés en Scandinavie colorés en fonction de la consanguinité estimée par F_{ROH} .

Bien qu'ils forment un groupe distinct, les loups Scandinaves étaient relativement dispersés sur l'axe PC2. À première vue, il peut sembler surprenant que les individus issus d'une population petite et fermée ne se regroupent pas davantage. Afin d'expliquer ce schéma, nous avons pris en compte le niveau de **consanguinité individuelle** (F_{ROH}) et le nombre de générations par rapport au fondateur le plus proche (Figures 1b et 1c). Il est clair que les échantillons les plus consanguins se regroupent le plus loin des échantillons Finlandais et Russes de Carélie. La distance augmentait également avec le nombre de générations jusqu'à l'ancêtre immigrant le plus proche. Cela indique que la dérive génétique a un effet important dans l'analyse des composantes principales de la variation génétique.

Étant donné que la forte parenté entre les individus peut biaiser l'analyse en composantes principales, nous avons répété l'analyse en n'incluant que des échantillons non apparentés (immigrants non apparentés, individus finlandais et russes de Carélie non apparentés, un hybride et des chiens). À cet ensemble, nous avons ensuite ajouté tour à tour des échantillons individuels. La fondatrice de la population scandinave se regroupe désormais avec les loups Finno-Russes de Carélie (Figure 2a). Les deux fondateurs mâles de la population Scandinave ne sont pas échantillonnés, mais leurs descendants directs le sont. Les tests effectués dans chaque cas sur un descendant des fondateurs mâles ont révélé qu'ils se regroupaient également avec les loups Finno-Russes de Carélie (Figures 2b et 2c).

Le regroupement des fondateurs/descendants des fondateurs avec les loups Finno-Russes de Carélie pourrait s'expliquer par l'attraction mutuelle des échantillons de loups, compte tenu de leur séparation nette par rapport aux chiens.

Pour tester cette hypothèse, nous avons effectué la même analyse avec trois échantillons de loups Russes accessibles au public, provenant de localités situées à des distances croissantes

de la Finlande (Bryansk, Altai, Tchoukotka). Ils se sont tous retrouvés en dehors du groupe des loups Finno-Russes de Carélie et plus éloignés à mesure que la distance géographique augmentait (Figure 2d-f). Le regroupement des loups Scandinaves et Finno-Russes de Carélie confirme donc l'origine Finno-Russe de la population de loups Scandinaves.

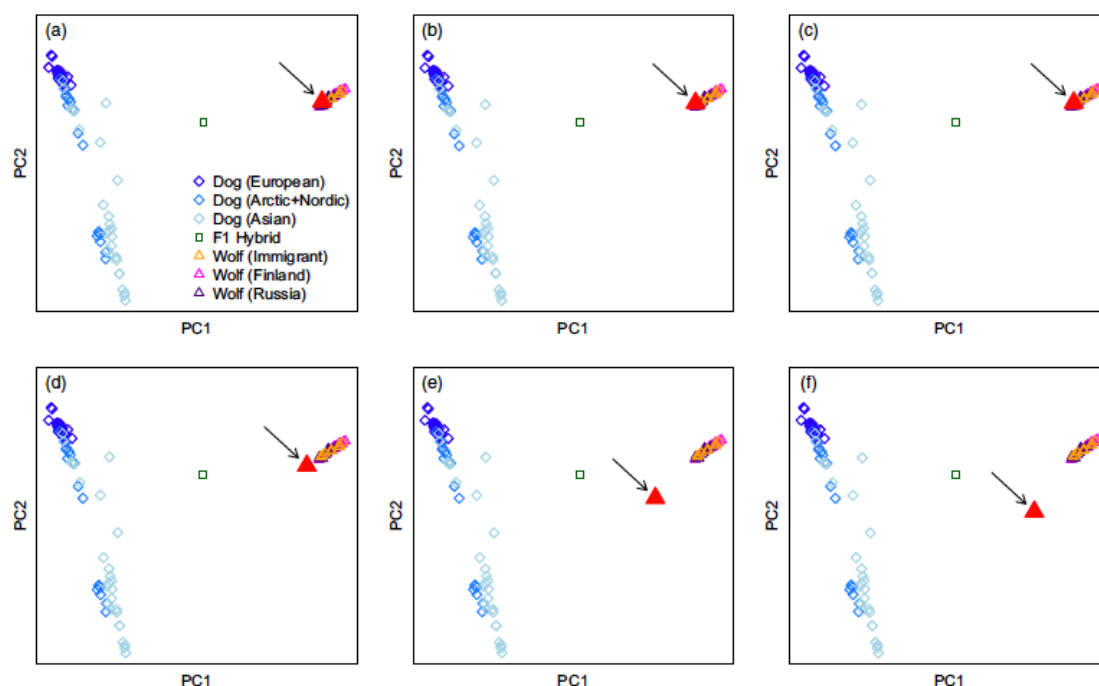


FIGURE 2. ACP utilisant uniquement des loups non apparentés : neuf immigrants, 15 Finlandais, 13 Russes de Carélie et un hybride F1. Chaque panneau montre un échantillon test spécifique (grand triangle rouge, marqué d'une flèche). (a) Femelle fondatrice de la population de loups scandinaves. (b) Descendants du premier mâle fondateur. (c) Descendants du deuxième mâle fondateur. (d) Loup de Bryansk (à plus de 1 000 km de la Finlande). (e) Loup de l'Altai (à plus de 4 000 km de la Finlande). (f) Loup de Tchoukotka (à plus de 6 000 km de la Finlande)

3.2. Analyse du métissage

Afin d'étudier plus largement la structure génétique des populations de loups, nous avons utilisé le programme ADMIXTURE et avons également inclus des séquences génomiques de loups provenant de Chine et de l'Arctique nord-Américain et accessibles au public. En plus du filtrage initial, nous avons également filtré le déséquilibre de liaison afin d'éviter toute dépendance entre les marqueurs, ce qui a laissé 1 370 987 marqueurs SNP. Les données ont été mieux expliquées par quatre groupes utilisant des erreurs de validation croisée ($K = 4$, voir Figure S1), les chiens Européens formant un groupe distinct, les loups de Scandinavie, de Finlande et de Carélie Russe un autre, et les loups d'Amérique du Nord un troisième. Le quatrième groupe était associé à plusieurs groupes (Figure 3).

Les chiens des races nordiques-arctiques et asiatiques partageaient une ascendance commune avec d'autres chiens et le quatrième groupe. Enfin, les loups Chinois semblaient avoir une ascendance plus mixte, principalement partagée avec les deux autres groupes de loups, mais incluant également le quatrième groupe. Quelques loups de Carélie Russe et un des individus Finlandais avaient de petites fractions d'ascendance partagées avec les loups Chinois et ceux du Nouveau Monde (Figure 3, Figure S2). Lorsque K a été optimisé à l'aide des méthodes suggérées par Puechmaile (2016), cinq groupes ont permis d'expliquer au mieux les données. Cela a ajouté un composant chez les chiens Asiatiques et les loups Chinois, mais n'a pas eu d'impact sur l'ascendance des loups Fennoscandien.

L'hybride F_1 partageait la moitié de son ascendance avec les loups de Scandinavie, de Finlande et de Carélie Russe, et l'autre moitié avec les chiens, comme prévu. Son « ascendance canine » était plus proche de celle des chiens nordiques-Arctiques et Asiatiques que de celle des chiens de race Européenne. Étant donné que le groupe des chiens Européens était nettement plus important que les autres groupes, nous avons également effectué les analyses en réduisant la taille de ce groupe à celle des autres, mais cela n'a pas eu d'incidence sur les résultats (Figure S3).

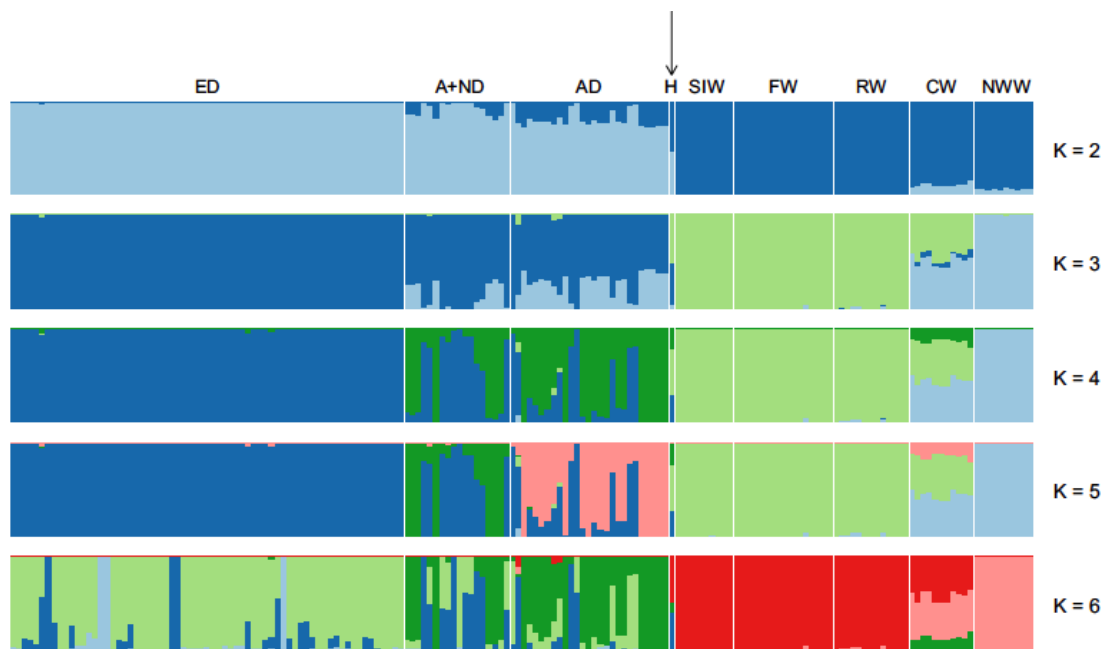


FIGURE 3. Résultat du mélange utilisant $K = 2$ à 6 clusters. Les erreurs de validation croisée indiquent que $K = 4$ explique le mieux les données. Abréviations : ED — chiens Européens, A + ND — chiens Arctiques et Nordiques, AD — chiens asiatiques, H — hybride F_1 loup-chien, SIW — loups immigrants Scandinaves, FW — loups Finlandais, RW — loups Russes de Carélie, CW — loups Chinois, NWW — loups du Nouveau Monde. L'hybride F_1 est marqué d'une flèche pour plus de visibilité

3.3. Ascendance locale

Ni l'ACP ni ADMIXTURE n'ont indiqué de mélange génomique entre les loups et les chiens de Fennoscandie. Cela n'exclut pas l'existence de segments génomiques plus petits avec une ascendance différente dans les populations de loups, reflétant potentiellement une introgression à un moment donné dans le passé. Les méthodes actuelles d'analyse des schémas d'ascendance locale le long des chromosomes nécessitent soit des génomes phasés, soit des populations ancestrales « pures » connues, soit des connaissances sur le nombre de générations depuis le métissage ou le nombre d'individus métissés. Chacun de ces aspects a ses propres limites (voir Discussion).

En l'absence de chromosomes dont le phasage est connu, nous avons utilisé SHAPEIT4 pour phaser statistiquement tous les échantillons. Nous avons ensuite appliqué PCADMIX aux hybrides F_1 connus, y compris tous les chiens et les loups non apparentés en tant que « qu'ancêtres purs », afin d'évaluer la qualité du phasage. Comme les hybrides F_1 ont un chromosome de chien et un chromosome de loup pour chaque paire de chromosomes, toute perturbation de ce modèle doit être causée par une erreur de commutation dans le phasage statistique. Comme le montre la Figure 4, l'aspect « mosaïque » de chaque paire de

chromosomes chez les hybrides F₁ signifie que le phasage statistique a souffert de multiples erreurs de commutation par chromosome (0,218-0,234 commutations/Mb en utilisant une taille de fenêtre de 100 SNP, voir le Tableau S2 pour les différentes tailles de fenêtre). Il existait également des régions génomiques dont l'ascendance était uniquement canine ou uniquement lupine sur les deux copies chromosomiques (3,9% à 5,1% pour les trois hybrides).

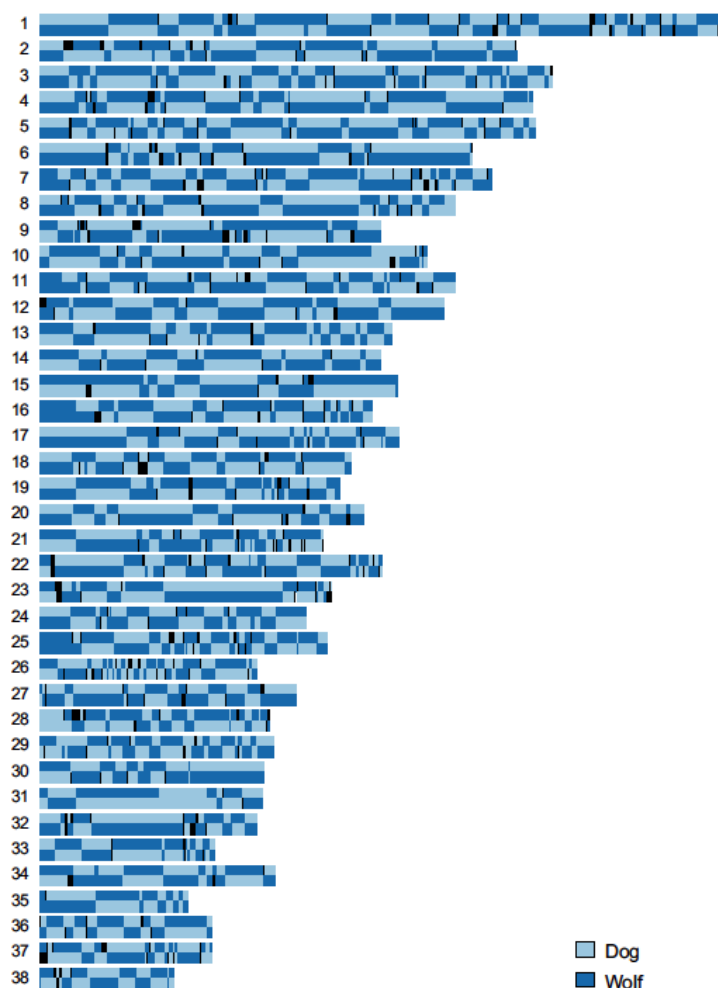


FIGURE 4. Résultats obtenus avec PCAdmix pour un hybride loup-chien F₁ en utilisant une taille de fenêtre = 100 SNP. Les paires de chromosomes sont dessinées les unes sur les autres. Couleur bleu clair : ascendance canine attribuée ; couleur bleu foncé : ascendance lupine attribuée. La couleur noire indique une attribution d'ascendance incertaine. Avec des chromosomes parfaitement phasés, un chromosome de chaque paire devrait être bleu foncé et l'autre bleu clair

Compte tenu des erreurs de phasing, nous avons également exécuté PCAdmix sur des loups Scandinaves, Finlandais et Russes de Carélie, respectivement, afin d'évaluer s'il existait des régions génomiques chez des loups individuels qui pourraient potentiellement être d'ascendance canine ; tous les autres loups non apparentés ont été utilisés comme l'une des populations ancestrales. Cela suggère que 0,09% à 1,08% du génome des loups Scandinaves avait une ascendance mixte (moyenne = 0,48%). Les proportions pour les loups Finlandais et Russes de Carélie étaient similaires ; voir le [Tableau 1](#). Comme les échantillons Scandinaves ont été collectés sur une période de 30 ans, nous les avons divisés en quatre groupes temporels et avons comparé l'ascendance canine entre les groupes. Nous n'avons constaté aucune différence significative dans la proportion d'ascendance canine entre les groupes (Figure S4).

TABLEAU 1. Proportion du génome présentant une ascendance mixte estimée à l'aide de PCAdmix et ELAI (10 ou 100 générations de mélange)

Population	Mixed ancestry PCAdmix	Mixed ancestry ELAI (mg = 10)	Mixed ancestry ELAI (mg = 100)
Scandinavian*	0.0009–0.0108 (mean 0.0048)	0.0011–0.0113 (mean 0.0060)	0.0022–0.0123 (mean 0.0076)
Finnish	0.0003–0.0145 (mean 0.0037)	0.0010–0.0168 (mean 0.0057)	0.0028–0.0190 (mean 0.0083)
Russian Karelian	0.0014–0.0132 (mean 0.0047)	0.0019–0.0155 (mean 0.0071)	0.0045–0.0193 (mean 0.0105)
F ₁ Hybrids	0.4696–0.4716 (mean 0.4707)	0.4995–0.5020 (mean 0.5005)	0.4937–0.4960 (mean 0.4945)

*Excluding hybrids but including immigrants.

En complément, nous avons évalué le niveau d'ascendance du loup chez les chiens en utilisant plusieurs sous-ensembles aléatoires comme population canine ancestrale. L'ascendance du loup attribuée différait de manière significative entre les différents groupes de chiens (Figure S5). Les chiens Asiatiques présentaient les niveaux les **plus élevés d'ascendance** lupine (moyenne = 1,1%), tandis que les chiens Européens avaient les niveaux les **plus faibles** (moyenne = 0,1%). Les races nordiques et arctiques avaient une ascendance lupine moyenne de 0,52%.

Nous avons répété l'analyse PCAdmix avec différents nombres et combinaisons d'individus ancestraux, et avons également réduit le nombre de marqueurs. L'étendue de l'ascendance canine attribuée a considérablement varié d'une analyse à l'autre. Elle a augmenté lorsque très peu d'individus ancestraux ont été utilisés, et a diminué avec le nombre de marqueurs utilisés (Figure 5). Sur l'ensemble des analyses, l'ascendance mixte n'a jamais dépassé 2,25% pour un seul individu.

Nous avons également évalué la quantité d'ascendance canine à l'aide du logiciel ELAI, qui ne nécessite pas de génomes phasés, mais qui a besoin d'informations sur le nombre de générations mixtes. En supposant 10 générations mixtes, la quantité d'ascendance canine déduite était similaire à celle obtenue avec PCAdmix. En supposant 100 générations mixtes, les chiffres ont légèrement augmenté (Tableau 1).

PCAdmix et ELAI ont tous deux indiqué que les blocs d'ascendance canine potentielle étaient répartis de manière inégale dans le génome. Pour la plupart des individus, les blocs étaient concentrés sur une poignée de chromosomes, tandis que les chromosomes restants ne présentaient aucune ascendance canine.

La longueur de chaque bloc individuel n'est pas significative en raison du problème susmentionné lié aux erreurs de commutation, mais la distribution des blocs sur les génomes est représentée dans la Figure S6 pour chaque population séparément. Nous notons en particulier plusieurs régions sur le chromosome 31 qui étaient présentes à la fois chez les loups Scandinaves, Finlandais et Russes de Carélie. La population Scandinave présentait moins de régions au total, mais de nombreuses régions réapparaissaient chez plusieurs individus, ce qui correspond à la forte parenté entre les échantillons. Presque toutes les régions observées dans la population Scandinave ont également été observées chez au moins un individu de la population Finlandaise ou Russe de Carélie.

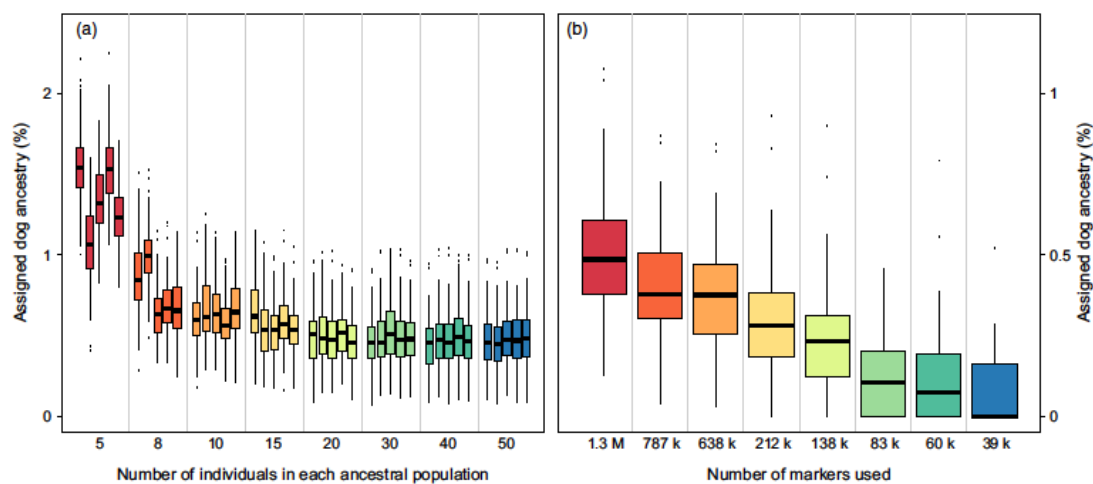


FIGURE 5. Ascendance canine attribuée à la population Scandinave à l'aide de différents nombres d'individus et de marqueurs. **(a)** Cinq groupes de loups et de chiens ont été choisis au hasard comme population ancestrale pour chaque taille. **(b)** Sous-échantillonnage de marqueurs répartis uniformément le long du génome

4. DISCUSSION

La relation entre les loups et les humains est complexe et profondément ancrée dans l'histoire de l'humanité. Il convient de noter que l'attitude des gens envers les loups a changé avec le passage de la chasse et de la cueillette à l'agriculture. Les loups sont ensuite devenus des symboles du mal dans la religion et la culture, y compris dans les contes de fées. Aujourd'hui, le loup gris est souvent considéré comme une espèce phare pour la conservation et la gestion des conflits entre les humains et les espèces menacées. L'hybridation entre loups et chiens est une question clé à l'échelle mondiale, car elle a de fortes implications pour la gestion des populations de loups. Par exemple, plusieurs études récentes ont examiné comment elle peut influencer l'élaboration des politiques (Donfrancesco et al., 2019 ; Salvatori et al., 2020) et comment les seuils d'identification des individus hybrides devraient être fixés (Caniglia et al., 2020).

L'hybridation entre loups et chiens a été documentée à deux reprises dans la population contemporaine de loups Scandinaves : en Norvège en 1999 (Vilà, Walker et al., 2003) et en Suède en 2017 (Wabakken et al., 2018). Dans les deux cas, une louve s'est accouplée avec un chien mâle inconnu. La gestion visait à éliminer tous les descendants F_1 ce qui semble avoir été couronné de succès. Bien que la population fasse l'objet d'une surveillance génétique détaillée (Liberg et al., 2012 ; Wabakken et al., 2020), où une proportion exceptionnellement importante de la population est représentée par un échantillon d'ADN (Bischof et al., 2019), nous ne pouvons pas exclure formellement qu'il y ait eu d'autres cas d'hybridation. De plus, le nombre de marqueurs utilisés dans les programmes de surveillance n'est généralement pas suffisant pour détecter les individus légèrement métissés. En Finlande, trois cas d'hybridation entre loups et chiens ont également conduit à l'abattage immédiat de la progéniture F_1 (ministère de l'Agriculture et des Forêts, 2019).

4.1. Aucune preuve que l'hybridation entre loups et chiens menace l'intégrité génétique des populations de loups de Fennoscandie

Les analyses PCA et ADMIXTURE ont clairement montré que ni les loups Scandinaves, ni les loups Finlandais ou Russes de Carélie ne présentent de niveaux détectables d'ascendance canine. Nous en concluons que l'hybridation potentielle entre les loups et les chiens n'a pas laissé d'empreinte significative sur la composition génétique des populations de loups dans

l'extrême nord de l'Europe. L'inclusion d'hybrides F_1 connus dans les analyses a constitué un excellent échantillon de contrôle pour parvenir à cette conclusion. Leur positionnement exactement entre les loups Scandinaves et les chiens dans l'ACP, et les proportions précises de 50/50 attribuées aux loups scandinaves et aux chiens dans ADMIXTURE, valident les approches adoptées.

En l'absence de preuves génomiques d'hybridation entre loups et chiens dans les populations étudiées, nous avons tenté de déterminer s'il existe des régions génomiques spécifiques qui portent la signature d'un métissage. Après le phasage statistique des génomes séquencés, un certain nombre de régions d'ascendance mixte ont été identifiées à l'aide de PCA_{ADMIX}. Dans l'ensemble, ces régions correspondaient à moins de 1% des génomes individuels, et les proportions étaient similaires pour les loups Scandinaves, Finlandais et Russes de Carélie ; la plupart des régions étaient également communes à ces populations. La proportion n'a pas changé au fil du temps dans la population Scandinave. Ces observations suggèrent que les signatures d'ascendance mixte locale dans les génomes des loups ne peuvent être considérées comme une indication d'une faible fréquence d'hybridation relativement récente entre loups et chiens. Cela est en outre corroboré par le fait que nous avons trouvé des niveaux similaires de régions génomiques d'ascendance mixte lors de l'analyse réciproque de différents groupes de chiens (c'est-à-dire en testant les signatures d'ascendance lupine dans les génomes canins), y compris chez des chiens de race soigneusement sélectionnés.

Le schéma commun observé dans les génomes des loups et des chiens pourrait indiquer que des problèmes techniques sous-tendent les signatures d'ascendance mixte, que nous développons ci-dessous.

4.2. Aspects méthodologiques

Le phasage statistique était manifestement associé à des erreurs de commutation, en moyenne une tous les 4-5 Mb. Cette conclusion peut être tirée de l'analyse des hybrides F_1 connus, qui se sont donc à nouveau révélés très précieux pour notre étude. On ne sait pas si un phasage incorrect aura un impact sur l'identification des régions locales d'ascendance mixte, mais il affectera clairement la longueur des blocs résultants. Un certain nombre d'études antérieures ont utilisé la longueur des blocs d'haplotypes pour déduire le moment des événements de mélange ; un bloc plus court nécessitera davantage d'événements de recombinaison et donc davantage de générations depuis le mélange pour se former (voir, par exemple, Galaverni et al., 2017 ; Gomez-Sánchez et al., 2018). Cette approche sera évidemment biaisée si les blocs d'haplotypes sont incorrectement déduits, comme nous l'avons montré dans le cas des hybrides F_1 . **Les erreurs de commutation entraîneront une sous-estimation de la longueur des blocs ancestraux et, par conséquent, une surestimation du nombre de générations depuis le métissage.**

De plus, la relation génétique étroite entre les loups et les chiens – rappelons que les chiens ont été domestiqués à partir des loups il y a seulement 10 000 à 30 000 ans (Fan et al., 2016) – peut potentiellement poser problème pour détecter les faibles niveaux d'introgression résultant de l'hybridation entre loups et chiens. **Plus précisément**, les signatures d'ascendance mixte peuvent représenter une variation ancestrale partagée plutôt qu'une hybridation. **Les longues périodes de flux génétique entre les loups et les chiens**

préhistoriques au cours de la phase initiale de domestication pourraient avoir contrecarré le processus de tri des lignées.

Le phasing n'est pas le seul aspect méthodologique susceptible de biaiser les estimations de l'incidence de l'hybridation entre loups et chiens et de l'introggression canine. Une autre question clé est l'identification de populations de référence (ancestrales) appropriées, qui est nécessaire dans des logiciels tels que PCADMIX et ELAI, et qui est également importante lors de la définition de seuils pour identifier les individus métissés (voir Caniglia et al., 2020). Il peut être difficile, voire impossible, de déterminer a priori si un individu prélevé dans la nature est génétiquement pur. C'est pourquoi on utilise souvent ADMIXTURE ou STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) pour identifier les individus apparemment purs à inclure dans une population de référence. Mais avec l'augmentation du nombre de marqueurs, la capacité à détecter même de petites régions introgressées et des mélanges plus anciens augmente également (McFarlane & Pemberton, 2019). Dans un système présentant un mélange occasionnel/rare sur une longue période, la plupart des individus présenteront au moins un certain degré de mélange, et même des fractions infimes de blocs introgressés peuvent être détectées si un nombre suffisamment important de marqueurs est utilisé (comme dans les analyses de séquences du génome entier). **Par conséquent, il peut être impossible d'obtenir une population de référence pure.**

Le nombre d'individus utilisés dans les populations de référence a clairement influencé l'inférence du degré d'ascendance canine dans les populations de loups (voir Figure 5). L'utilisation de moins de 10 individus par population (comme l'ont fait Gómez-Sánchez et al. (2018) pour une population de référence de loups) a plus que doublé l'ascendance canine attribuée, par rapport à l'utilisation de 20 individus ou plus. Les niveaux d'ascendance mixte se sont stabilisés avec un nombre plus élevé d'individus. Lors du sous-échantillonnage du nombre de marqueurs, l'ascendance canine attribuée a diminué ; avec moins de 50 000 marqueurs, l'ascendance mixte moyenne s'est rapprochée de zéro. **D'autre part**, l'utilisation d'un nombre de marqueurs supérieur à celui dont nous disposons dans notre ensemble de données filtrées pourrait augmenter le niveau d'ascendance canine attribuée (comme indiqué ci-dessus et comme le montre la tendance de la Figure 5b), lorsque la résolution permettant de détecter des régions plus petites augmente.

À quelques exceptions près, les méthodes d'attribution de l'ascendance locale sont développées pour les données humaines, où de grands panels de référence sont disponibles tant en termes d'individus non apparentés que de nombre de loci. Il existe des méthodes d'analyse de l'ascendance locale qui ne nécessitent pas de populations « ancestrales » fixes, telles que LAMP (Sankararaman et al., 2008) et MOSAIC (Salter-Townshend & Myers, 2019). **Cependant**, elles nécessitent un grand nombre d'échantillons non apparentés pour chaque population et sont développées pour distinguer des populations très proches. Nous reconnaissons que nos ensembles de données ne sont pas suffisamment importants pour ce type d'analyse.

4.3. Incidence de l'hybridation entre loups et chiens dans différentes populations de loups Européennes

L'hybridation entre loups et chiens a été observée dans toutes les populations de loups existantes étudiées en Europe (Salvatori et al., 2020). **Des rétrocroisements F_2 et F_3 ont été**

observés en Italie, en Espagne, en Russie, en Ukraine, en Biélorussie et en Israël (Galaverni et al., 2017 ; Gómez-Sánchez et al., 2018 ; Pilot et al., 2018, 2019) et, dans de nombreux pays, un grand nombre de loups présentant des niveaux de mélange de 1% à 8% ont été identifiés, ce qui indique un rétrocroisement supplémentaire. Les niveaux de métissage semblent donc être plus faibles chez les loups Fennoscandien que chez les autres populations Européennes. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les chiens sauvages sont moins courants en Fennoscandie que dans d'autres régions d'Europe, ce qui réduit le nombre de contacts entre les loups et les chiens. **De plus**, la population de loups Scandinave est étroitement surveillée et gérée avec soin (Liberg et al., 2012). Les deux cas connus d'hybridation entre loups et chiens en Suède et en Norvège et les trois cas en Finlande ont immédiatement conduit à l'abattage des descendants hybrides. Étant donné que l'hybridation entre loups et chiens peut être difficile à prévenir dans la plupart des pays, une stratégie générale pour maintenir l'intégrité génétique des populations de loups consiste en effet à éviter le rétrocroisement des descendants hybrides.

4.4. Structure de la population des loups Fennoscandien

La séparation des loups Scandinaves des loups Finno-Russes de Carélie dans une ACP incluant tous les échantillons a d'abord été une surprise, étant donné que la population Scandinave aurait été fondée par des immigrants venus de Finlande et/ou de Russie (Wabakken et al., 2001). **Cependant**, cette séparation était clairement le résultat de quelques générations de dérive et de consanguinité au sein de la population Scandinave, les individus les plus consanguins étant également les plus éloignés des loups de Carélie Finno-Russe. **Lorsque seuls des individus non apparentés ont été utilisés, les loups Scandinaves et ceux de Carélie Finno-Russe ont formé un groupe.** Une parenté étroite au sein d'une population peut brouiller l'analyse en composantes principales, de sorte que les populations semblent plus distinctes qu'elles ne le sont (dans un certain sens). Dans les cas extrêmes, le schéma qui en résulte peut refléter des différences familiales plutôt que des différences entre populations. Cela souligne l'importance de la connaissance des échantillons, en particulier lors de l'étude de petites populations consanguines où il peut être difficile, voire impossible, d'obtenir des échantillons non apparentés.

Il est important de noter que, dans l'analyse des individus non apparentés, le regroupement de la fondatrice et de la progéniture des deux fondateurs mâles (non échantillonnés) avec les loups Finno-Russes de Carélie indique clairement une origine Finno-Russe de la population de loups Scandinaves. Cela montre également, qu'aucun des trois premiers fondateurs n'avait d'ascendance canine. Il convient de souligner qu'en théorie, un seul individu provenant d'une population différente pourrait se regrouper avec une autre population, ce qui semblerait indiquer que cette dernière représente la population source, simplement parce qu'il n'y a pas d'autres individus apparentés avec lesquels se regrouper. **Cependant**, dans notre cas, le fait que trois autres loups Russes échantillonnés plus loin de la Finlande ne se soient pas regroupés avec les loups Finno-Russes de Carélie apporte un soutien indirect à la conclusion selon laquelle le regroupement des fondateurs Scandinaves avec les loups Finno-Russes de Carélie reflète l'origine de la population Scandinave.

Depuis le rétablissement de la population de loups Scandinaves au début des années 1980, on observe un afflux plus ou moins régulier d'immigrants vers le nord de la Suède et de la Norvège en provenance de l'est (Åkesson et al., 2016 ; Seddon et al., 2006). Nos analyses

confirment l'origine Finno-Russe des immigrants. Notre étude démontre également une dispersion dans la **direction opposée** : trois individus nés en Scandinavie ont été échantillonnés en Finlande. Il n'y a aucune raison évidente de croire que l'immigration et l'émigration des loups vers/depuis la Scandinavie, ne soient qu'un phénomène récent. **En revanche**, lorsque les loups étaient autrefois communs dans toute l'Europe, y compris dans toute la péninsule Scandinave (en Suède, plus de 500 loups étaient tués chaque année au début du XIX^{ème} siècle (Flagstad et al., 2003)), une aire de répartition continue reliant la Scandinavie à la Finlande et à la Russie devait être associée à un flux génétique important. **Par conséquent**, et compte tenu de la taille importante des populations (contrebalançant la dérive génétique), les loups Scandinaves n'étaient peut-être pas génétiquement différents des loups Finlandais et Russes, ou du moins pas plus que ce à quoi on pouvait s'attendre en raison de l'isolement dû à la distance. Un tel scénario a des implications en matière de conservation, notamment en ce qui concerne le caractère génétique unique des loups Scandinaves et la possibilité que les vestiges d'une population historique en Scandinavie aient contribué à la fondation de la population contemporaine. Si l'un ou plusieurs des trois fondateurs n'étaient en réalité pas des immigrants, mais représentaient un animal issu de la population historique (supposée éteinte dans les années 1960-1970), il aurait tout de même pu faire partie du même pool génétique que les loups immigrants.

REFERENCES

- Åkesson, M., Liberg, O., Sand, H., Wabakken, P., Bensch, S., & Flagstad, Ø. (2016). Genetic rescue in a severely inbred wolf population. *Molecular Ecology*, 25(19), 4745–4756. <https://doi.org/10.1111/mec.13797>
- Åkesson, M., & Svensson, L. (2016). Sammanställning av släktträdet över den skandinaviska vargstammen fram till 2015. Rapport Från Viltskadecenter, SLU, 2016-2. (In Swedish). ISBN 978-91-86331-90-0. Retrieved from <http://www.viltskadecenter.se/pdfs/slakttrad-skand-varg-2015.pdf>

- Åkesson, M., & Svensson, L. (2020). Sammanställning av släktträdet över den skandinaviska vargpopulationen fram till 2019. Rapport Från Viltskadecenter, 2020-1. (In Swedish). ISBN: 978-91-985247-2-7. Retrieved from <https://www.slu.se/globalassets/ew/org/inst/ekol/forskning/projekt/skandulv/publikationer/rapporter/akesson-och-svensson-2020-sammanstallning-av-slakttredet-over-den-skandinaviska-vargpopulationen-fram-till-2019.pdf>
- Alexander, D. H., Novembre, J., & Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19(9), 1655–1664.
- Allendorf, F. W., Leary, R. F., Hitt, N. P., Knudsen, K. L., Lundquist, L. L., & Spruell, P. (2004). Intercrosses and the U.S. Endangered Species Act: Should hybridized populations be included as westslope cutthroat trout? *Conservation Biology*, 18(5), 1203–1213.
- Allendorf, F. W., Leary, R. F., Spruell, P., & Wenburg, J. K. (2001). The problems with hybrids: Setting conservation guidelines. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(11), 613–622.
- Anderson, M. S., & de Vicente, M. C. (2010). *Gene flow between crops and their wild relatives*. The Johns Hopkins University Press.
- Anderson, T. M., vonHoldt, B. M., Candille, S. I., Musiani, M., Greco, C., Stahler, D. R., Smith, D. W., Padhukasahasram, B., Randi, E., Leonard, J. A., Bustamante, C. D., & Ostrander, E. A. (2009). Molecular and evolutionary history of melanism in North American gray wolves. *Science*, 323(5919), 1339–1343.
- Andersone, Ž., Lucchini, V., Randi, E., & Ozoliņš, J. (2002). Hybridisation between wolves and dogs in Latvia as documented using mitochondrial and microsatellite DNA markers. *Mammalian Biology*, 67(2), 79–90.
- Arnold, M. L. (1997). *Natural hybridization and evolution*. Oxford University Press.
- Bischof, R., Milleret, C., Dupont, P., Chipperfield, J., Åkesson, M., Brøseth, H., & Kindberg, J. (2019). Estimating the Size of the Scandinavian Wolf Population with Spatial capture-recapture and Conversion Factors - MINA Fagrapport 57, pp. 80. ISSN: 2535-2806. <https://nmbu.brage.unit.no/nmbu-xmlui/bitstream/handle/11250/2648843/mif57.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Boitani, L. (2005). Ecological and cultural diversities in the evolution of wolf-human relationships. In L. N. Carbyn, S. H. Fritts, & D. R. Schip (Eds.), *Ecology and conservation of wolves in a changing world* (pp. 3–11). Canadian Circumpolar Institute.
- Brisbin, A., Bryc, K., Byrnes, J., Zakharia, F., Omberg, L., Degenhardt, J., Reynolds, A., Ostrer, H., Mezey, J. G., & Bustamante, C. D. (2012). PCAdmix: Principal components-based assignment of ancestry along each chromosome in individuals with admixed ancestry from two or more populations. *Human Biology*, 84(4), 343–364.
- Burgarella, C., Barnaud, A., Kane, N. A., Jankowski, F., Scarcelli, N., Billot, C., Vigouroux, Y., & Berthouly-Salazar, C. (2019). Adaptive introgression: An untapped evolutionary mechanism for crop adaptation. *Frontiers in Plant Science*, 10, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00004>
- Campbell, C. L., Bhérier, C., Morrow, B. E., Boyko, A. R., & Auton, A. (2016). A pedigree-based map of recombination in the domestic dog genome. *G3: Genes|genomes|genetics*, 6(11), 3517–3524. <https://doi.org/10.1534/g3.116.034678>
- Caniglia, R., Galaverni, M., Velli, E., Mattucci, F., Canu, A., Apollonio, M., Mucci, N., Scandura, M., & Fabbri, E. (2020). A standardized approach to empirically define reliable assignment thresholds and appropriate management categories in deeply introgressed populations. *Scientific Reports*, 10(2862). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59521-2>
- Chapron, G., Kaczensky, P., Linnell, J. D. C., von Arx, M., Huber, D., Andrén, H., Lopez-Bao, J. V., Adamec, M., Alvares, F., Anders, O., & Balčiauskas, L. (2014). Recovery of large carnivores in Europe's modern human-dominated landscapes. *Science*, 346(6216), 1517–1519.
- Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., DePristo, M. A., Handsaker, R. E., Lunter, G., Marth, G. T., Sherry, S. T., McVean,

- G., & Durbin, R. (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15), 2156–2158. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr330>
- Delaneau, O., Zagury, J.-F., Robinson, M. R., Marchini, J. L., & Dermitzakis, E. T. (2019). Accurate, scalable and integrative haplotype estimation. *Nature Communications*, 10(1), 5436. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13225-y>
- Donfrancesco, V., Ciucci, P., Salvatori, V., Benson, D., Andersen, L. W., Bassi, E., Blanco, J. C., Boitani, L., Caniglia, R., Canu, A., Capitani, C., Chapron, G., Czarnomska, S. D., Fabbri, E., Galaverni, M., Galov, A., Gimenez, O., Godinho, R., Greco, C., ... Mukherjee, N. (2019). Unravelling the scientific debate on how to address wolf-dog hybridization in Europe. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7, 175. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00175>
- Dufresnes, C., Remollino, N., Stoffel, C., Manz, R., Weber, J.-M., & Fumagalli, L. (2019). Two decades of non-invasive genetic monitoring of the grey wolves recolonizing the Alps support very limited dog introgression. *Scientific Reports*, 9, 148. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37331-x>
- Fan, Z., Silva, P., Gronau, I., Wang, S., Armero, A. S., Schweizer, R. M., Ramirez, O., Pollinger, J., Galaverni, M., Ortega Del-Vecchio, D., Du, L., Zhang, W., Zhang, Z., Xing, J., Vilà, C., Marques-Bonet, T., Godinho, R., Yue, B., & Wayne, R. K. (2016). Worldwide patterns of genomic variation and admixture in gray wolves. *Genome Research*, 26(2), 163–173. <https://doi.org/10.1101/gr.197517.115>
- Flagstad, O., Walker, C. W., Vila, C., Sundqvist, A.-K., Fernholm, B., Hufthammer, A. K., Wiig, O., Koyola, I., & Ellegren, H. (2003). Two centuries of the Scandinavian wolf population: Patterns of genetic variability and migration during an era of dramatic decline. *Molecular Ecology*, 12(4), 869–880. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01784.x>
- Frantz, L. A., Mullin, V. E., Pionnier-Capitan, M., Lebrasseur, O., Ollivier, M., Perri, A., Linderholm, A., Mattiangeli, V., Teasdale, M. D., Dimopoulos, E. A., & Tresset, A. (2016). Genomic and archaeological evidence suggest a dual origin of domestic dogs. *Science*, 352(6290), 1228–1231.
- Freedman, A. H., Gronau, I., Schweizer, R. M., Ortega-Del Vecchio, D., Han, E., Silva, P. M., Galaverni, M., Fan, Z., Marx, P., Lorente-Galdos, B., Beale, H., Ramirez, O., Hormozdiari, F., Alkan, C., Vilà, C., Squire, K., Geffen, E., Kusak, J., Boyko, A. R., ... Novembre, J. (2014). Genome sequencing highlights the dynamic early history of dogs. *PLOS Genetics*, 10(1), e1004016. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004016>
- Freedman, A. H., & Wayne, R. K. (2017). Deciphering the origin of dogs: From fossils to genomes. *Annual Review of Animal Biosciences*, 5(1), 281–307. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-110937>
- Galaverni, M., Caniglia, R., Pagani, L., Fabbri, E., Boattini, A., & Randi, E. (2017). Disentangling timing of admixture, patterns of introgression, and phenotypic indicators in a hybridizing wolf population. *Molecular Biology and Evolution*, 34(9), 2324–2339. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx169>
- Godinho, R., Llaneza, L., Blanco, J. C., Lopes, S., Álvares, F., García, E. J., Palacios, V., Cortés, Y., Talegón, J., & Ferrand, N. (2011). Genetic evidence for multiple events of hybridization between wolves and domestic dogs in the Iberian Peninsula. *Molecular Ecology*, 20(24), 5154–5166. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05345.x>
- Gómez-Sánchez, D., Olalde, I., Sastre, N., Ensenat, C., Carrasco, R., Marques-Bonet, T., Lalueza-Fox, C., Leonard, J. A., Vilà, C., & Ramirez, O. (2018). On the path to extinction: Inbreeding and admixture in a declining grey wolf population. *Molecular Ecology*, 27(18), 3599–3612. <https://doi.org/10.1111/mec.14824>
- Guan, Y. (2014). Detecting structure of haplotypes and local ancestry. *Genetics*, 196(3), 625–642. <https://doi.org/10.1534/genetics.113.160697>
- Harrison, R. G. (1993). Hybrids and hybrid zones: Historical perspective. In R. G. Harrison (Ed.), *Hybrid zones and the evolutionary process* (pp. 3–6). Oxford University Press.
- Heikkinen, M. E., Ruokonen, M., White, T. A., Alexander, M. M., Gündüz, I., Dobney, K. M., Aspi, J., Searle, J. B., & Pyhäjärvi, T. (2020). Long-term reciprocal gene flow in wild and domestic geese reveals complex domestication history. *G3: Genes|genomes|genetics*, 10(9), 3061–3070.
- Hindrikson, M., Remm, J., Pilot, M., Godinho, R., Stronen, A. V., Baltrūnaitė, L., Czarnomska, S. D., Leonard, J. A., Randi, E., Nowak, C., Åkesson, M., López-Bao, J. V., Álvares, F., Llaneza, L., Echegaray, J., Vilà, C., Ozolins, J., Rungis, D., Aspi, J., ... Saarma, U. (2017). Wolf population genetics in Europe: A systematic review, meta-analysis and suggestions for conservation and management. *Biological Reviews*, 92(3), 1601–1629. <https://doi.org/10.1111/brv.12298>
- Jackiw, R. N., Mandil, G., & Hager, H. A. (2015). A framework to guide the conservation of species hybrids based on ethical and ecological considerations. *Conservation Biology*, 29(4), 1040–1051. <https://doi.org/10.1111/cobi.12526>
- Kaczensky, P., Chapron, G., von Arx, M., Huber, D., Andrén, H., & Linnell, J. (2013). Status, management and distribution of large carnivores - bear, lynx, wolf & wolverine - in Europe. Part 1 - Europe summaries. Report: 1-72. A Large Carnivore Initiative for Europe Report prepared for the European Commission. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/259590863_Status_Management_and_Distribution_of_Large_Carnivores_-_Bear_Lynx_Wolf_and_Wolverine_in_Europe_Part_1#fullTextFileContent
- Kardos, M., Åkesson, M., Fountain, T., Flagstad, Ø., Liberg, O., Olason, P., Sand, H., Wabakken, P., Wikenros, C., & Ellegren, H. (2018). Genomic consequences of intensive inbreeding in an isolated wolf population. *Nature Ecology & Evolution*, 2(1), 124–131. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0375-4>
- Larson, G., Karlsson, E. K., Perri, A., Webster, M. T., Ho, S. Y. W., Peters, J., Stahl, P. W., Piper, P. J., Lingaas, F., Fredholm, M., Comstock, K. E., Modiano, J. F., Schelling, C., Agoulis, A. I., Leegwater, P. A., Dobney, K., Vigne, J.-D., Vila, C., Andersson, L., & Lindblad-Toh, K. (2012). Rethinking dog domestication by integrating genetics, archeology, and biogeography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(23), 8878. <https://doi.org/10.1073/pnas.1203005109>
- Lavretsky, P., Janzen, T., & McCracken, K. G. (2019). Identifying hybrids & the genomics of hybridization: Mallards & American black ducks of Eastern North America. *Ecology and Evolution*, 9(6), 3470–3490.
- Li, H., & Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25(14), 1754–1760. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324>
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., Marth, G., Abecasis, G., & Durbin, R. (2009). The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16), 2078–2079. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352>
- Li, Y.-L., & Liu, J.-X. (2018). StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources*, 18(1), 176–177.
- Liberg, O. (2005). Genetic aspects of viability in small wolf populations - with special emphasis on the Scandinavian wolf population Rapport 5436, Swedish Environmental Protection Agency. ISBN 91-620-5436-8. Retrieved from <http://naturvardsverket.se/Documents/publikationer/620-5436-8.pdf?pid=3067>
- Liberg, O., Aronson, Å., Sand, H., Wabakken, P., Maartmann, E., Svensson, L., & Åkesson, M. (2012). Monitoring of wolves in Scandinavia. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 23(1), 29–34.
- Lindblad-Toh, K., Wade, C. M., Mikkelsen, T. S., Karlsson, E. K., Jaffe, D. B., Kamal, M., Clamp, M., Chang, J. L., Kulbokas, E. J., Zody, M. C., & Mauceli, E.; Broad Sequencing Platform Members. (2005). Genome

- sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*, 438(7069), 803–819.
- Mallet, J. (2005). Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(5), 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.010>
- Mallet, J. (2007). Hybrid speciation. *Nature*, 446(7133), 279–283.
- McFarlane, S. E., & Pemberton, J. M. (2019). Detecting the true extent of introgression during anthropogenic hybridization. *Trends in Ecology & Evolution*, 34(4), 315–326. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2018.12.013>
- McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernysky, A., Garimella, K., Altshuler, D., Gabriel, S., Daly, M., & DePristo, M. A. (2010). The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Research*, 20(9), 1297–1303. <https://doi.org/10.1101/gr.107524.110>
- Mech, L. D. (1995). The challenge and opportunity of recovering wolf Populations. *Conservation Biology*, 9(2), 270–278. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1995.9020270.x>
- Meirman, P. G. (2019). Subsampling reveals that unbalanced sampling affects Structure results in a multi-species dataset. *Heredity*, 122(3), 276–287. <https://doi.org/10.1038/s41437-018-0124-8>
- Ministry of Agriculture and Forestry (2019). Management Plan for the Wolf Population in Finland. *Publications of the Ministry of Agriculture and Forestry*, 2019, 26.
- Pilot, M., Greco, C., vonHoldt, B. M., Randi, E., Jędrzejewski, W., Sidorovich, V. E., Konopiński, M. K., Ostrander, E. A., & Wayne, R. K. (2018). Widespread, long-term admixture between grey wolves and domestic dogs across Eurasia and its implications for the conservation status of hybrids. *Evolutionary Applications*, 11(5), 662–680. <https://doi.org/10.1111/eva.12595>
- Pilot, M., Moura, A. E., Okhlopov, I. M., Mamaev, N. V., Alagaili, A. N., Mohammed, O. B., Yavruyan, E. G., Manaseryan, N. H., Hayrapetyan, V., Kopaliani, N., Tsingarska, E., Krofel, M., Skoglund, P., & Bogdanowicz, W. (2019). Global phylogeographic and admixture patterns in grey wolves and genetic legacy of an ancient siberian lineage. *Scientific Reports*, 9(1), 17328. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53492-9>
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959.
- Puechmaile, S. J. (2016). The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: Subsampling and new estimators alleviate the problem. *Molecular Ecology Resources*, 16(3), 608–627.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I. W., Daly, M. J., & Sham, P. C. (2007). PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559–575. <https://doi.org/10.1086/519795>
- R Core Team (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing.
- Randi, E. (2008). Detecting hybridization between wild species and their domesticated relatives. *Molecular Ecology*, 17(1), 285–293. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03417.x>
- Randi, E., Hulva, P., Fabbri, E., Galaverni, M., Galov, A., Kusak, J., Bigi, D., Bolfiková, B. Č., Smetanová, M., & Caniglia, R. (2014). Multilocus detection of wolf x dog hybridization in Italy, and guidelines for marker selection. *PLoS One*, 9(1), e86409. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086409>
- Rhymer, J. M., & Simberloff, D. (1996). Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27(1), 83–109. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.27.1.83>
- Rieseberg, L. H. (1997). Hybrid origins of plant species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28(1), 359–389. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.28.1.359>
- Salter-Townshend, M., & Myers, S. (2019). Fine-scale inference of ancestry segments without prior knowledge of admixing groups. *Genetics*, 212(3), 869. <https://doi.org/10.1534/genetics.119.302139>
- Salvatori, V., Donfrancesco, V., Trouwborst, A., Boitani, L., Linnell, J. D. C., Alvares, F., Åkesson, M., Balys, V., Blanco, J. C., Chiriac, S., Cirovic, D., Groff, C., Guinot-Ghestem, M., Huber, D., Kojola, I., Kusak, J., Kutil, M., Iliopoulos, Y., Ionescu, O., ... Ciucci, P. (2020). European agreements for nature conservation need to explicitly address wolf-dog hybridisation. *Biological Conservation*, 248, 108525. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108525>
- Sankararaman, S., Sridhar, S., Kimmel, G., & Halperin, E. (2008). Estimating local ancestry in admixed populations. *The American Journal of Human Genetics*, 82(2), 290–303. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.09.022>
- Schumer, M., Rosenthal, G. G., & Andolfatto, P. (2014). How common is homoploid hybrid speciation? *Evolution*, 68(6), 1553–1560. <https://doi.org/10.1111/evo.12399>
- Schweizer, R. M., Durvasula, A., Smith, J., Vohr, S. H., Stahler, D. R., Galaverni, M., Thalmann, O., Smith, D. W., Randi, E., Ostrander, E. A., Green, R. E., Lohmueller, K. E., Novembre, J., & Wayne, R. K. (2018). Natural selection and origin of a melanistic allele in North American gray wolves. *Molecular Biology and Evolution*, 35(5), 1190–1209. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy031>
- Seddon, J. M., Sundqvist, A. K., Björnerfeldt, S., & Ellegren, H. (2006). Genetic identification of immigrants to the Scandinavian wolf population. *Conservation Genetics*, 7(2), 225–230. <https://doi.org/10.1007/s10592-005-9001-0>
- Sinding, M.-H., Gopalakrishnan, S., Ramos-Madrugal, J., de Manuel, M., Pitulko, V. V., Kuderna, L., Feuerborn, T. R., Frantz, L. A. F., Vieira, F. G., Niemann, J., Samaniego Castruita, J. A., Carpe, C., Andersen-Ranberg, E. U., Jordan, P. D., Pavlova, E. Y., Nikolskiy, P. A., Kasparov, A. K., Ivanova, V. V., Willerslev, E., ... Gilbert, M. T. P. (2020). Arctic-adapted dogs emerged at the Pleistocene-Holocene transition. *Science*, 368(6498), 1495. <https://doi.org/10.1126/science.aaz8599>
- Skoglund, P., Ersmark, E., Palkopoulou, E., & Dalén, L. (2015). Ancient wolf genome reveals an early divergence of domestic dog ancestors and admixture into high-latitude breeds. *Current Biology*, 25(11), 1515–1519. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.04.019>
- Smeds, L., Kojola, I., & Ellegren, H. (2019). The evolutionary history of grey wolf Y chromosomes. *Molecular Ecology*, 28(9), 2173–2191. <https://doi.org/10.1111/mec.15054>
- Todesco, M., Pascual, M. A., Owens, G. L., Ostevik, K. L., Moyers, B. T., Hübner, S., Heredia, S. M., Hahn, M. A., Caseys, C., Bock, D. G., & Rieseberg, L. H. (2016). Hybridization and extinction. *Evolutionary Applications*, 9(7), 892–908. <https://doi.org/10.1111/eva.12367>
- Van der Auwera, G. A., Carneiro, M. O., Hartl, C., Poplin, R., Del Angel, G., Levy-Moonshine, A., Jordan, T., Shakir, K., Roazen, D., Thibault, J., & Banks, E. (2013). From FastQ data to high-confidence variant calls: The Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Current Protocols in Bioinformatics*, 43(1), 11.10.11–11.10.33.
- Vilà, C., Sundqvist, A. K., Flagstad, Ø., Seddon, J., Merfeldt, S. B., Kojola, I., Casulli, A., Sand, H., Wabakken, P., & Ellegren, H. (2003). Rescue of a severely bottlenecked wolf (*Canis lupus*) population by a single immigrant. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1510), 91–97.
- Vilà, C., Walker, C., Sundqvist, A.-K., Flagstad, Ø., Andersone, Z., Casulli, A., Kojola, I., Valdmann, H., Halverson, J., & Ellegren, H. (2003). Combined use of maternal, paternal and bi-parental genetic markers for the identification of wolf-dog hybrids. *Heredity*, 90(1), 17–24. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800175>
- vonHoldt, B. M., Fan, Z., Ortega-Del Vecchyo, D., & Wayne, R. K. (2017). EPAS1 variants in high altitude Tibetan wolves were selectively introgressed into highland dogs. *PeerJ*, 5, e3522.

- vonHoldt, B. M., Pollinger, J. P., Lohmueller, K. E., Han, E., Parker, H. G., Quignon, P., Degenhardt, J. D., Boyko, A. R., Earl, D. A., Auton, A., Reynolds, A., Bryc, K., Brisbin, A., Knowles, J. C., Mosher, D. S., Spady, T. C., Elkahoun, A., Geffen, E., Pilot, M., ... Wayne, R. K. (2010). Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication. *Nature*, 464(7290), 898–902.
- Wabakken, P., Sand, H., Liberg, O., & Björvall, A. (2001). The recovery, distribution, and population dynamics of wolves on the Scandinavian peninsula, 1978–1998. *Canadian Journal of Zoology*, 79(4), 710–725. <https://doi.org/10.1139/z01-029>
- Wabakken, P., Svensson, L., Maartmann, E., Åkesson, M., & Flagstad, Ø. (2018). Bestandsövervakning av ulv vinteren 2017–2018. Bestandsstatus for store rovdyr i Skandinavia 1–2018, Report to the Swedish Environmental Protection Agency (In Swedish with abstract in English). ISBN 978-82-426-3247-0. Retrieved from <https://www.slu.se/globalassets/ew/org/centrb/vsc/vsc-dokument/inventering/inventering-av-varg-vintern-20172018.pdf>
- Wabakken, P., Svensson, L., Maartmann, E., Nordli, K., Flagstad, Ø., & Åkesson, M. (2020). Bestandsövervakning av ulv vinteren 2019–2020. Bestandsstatus for store rovdyr i Skandinavia 1–2020, Report to the Swedish Environmental Protection Agency (In Swedish with abstract in English). ISBN 978-82-426-4611-8. Retrieved from https://brage.nina.no/nina-xmlui/bitstream/handle/11250/2656078/2020_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Wayne, R. K. (1993). Molecular evolution of the dog family. *Trends in Genetics*, 9(6), 218–224. [https://doi.org/10.1016/0168-9525\(93\)90122-X](https://doi.org/10.1016/0168-9525(93)90122-X)
- Wolf, D. E., Takebayashi, N., & Rieseberg, L. H. (2001). Predicting the risk of extinction through hybridization. *Conservation Biology*, 15(4), 1039–1053. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2001.0150041039.x>

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section.

How to cite this article: Smeds L, Aspi J, Berglund J, Kojola I, Tirronen K, Ellegren H. Whole-genome analyses provide no evidence for dog introgression in Fennoscandian wolf populations. *Evol Appl*. 2021;14:721–734. <https://doi.org/10.1111/eva.13151>