

Structure génétique d'une population de loups gris précédemment éteinte, après réintroduction et recolonisation naturelle

Conservation Genetics (2026) 27:30
<https://doi.org/10.1007/s10592-025-01755-6>

RESEARCH



Genetic structure in a previously extirpated population of gray wolves following reintroduction and natural recolonization

Heather R. Clendenin¹ · David E. Ausband² · Jennifer R. Adams³ · Paul A. Hohenlohe⁴ · Lisette P. Waits⁵

Received: 14 February 2025 / Accepted: 24 December 2025
© The Author(s) 2026

Résumé

La structuration génétique des populations d'animaux sauvages est déterminée par les barrières qui limitent le flux génétique ainsi que par l'histoire démographique des populations. Les mécanismes à l'origine de cette structuration génétique peuvent présenter des nuances chez les espèces vivant en groupe, comme le loup gris (*Canis lupus*). Des facteurs comportementaux, tels que l'affiliation sociale et la résistance, l'empreinte de l'habitat natal et les compromis entre la dispersion hors de la meute natale et le maintien du territoire, influencent le choix de l'habitat des loups, bien que les barrières physiques du paysage n'opposent que peu de résistance à leurs capacités de dispersion étendues. Les loups avaient auparavant disparu de l'Idaho, aux États-Unis, et les populations actuelles résultent à la fois de réintroductions en 1995 et 1996 et d'une dispersion naturelle depuis le Canada. Dans ce contexte, nous avons examiné la structure génétique des loups de l'Idaho à partir de 101 individus génotypés sur 18 loci microsatellites d'ADN nucléaire et d'un sous-ensemble de 38 individus génotypés sur 1 019 marqueurs de polymorphisme nucléotidique simple. Nous avons émis l'hypothèse d'une structure génétique panmictique (c'est-à-dire un accouplement aléatoire) dans l'Idaho en raison des capacités de dispersion sur de longues distances des loups gris. Contrairement à notre hypothèse, nous avons identifié trois groupes génétiques de loups gris dans l'Idaho, principalement confirmés par les marqueurs SNP. Les données microsatellites suggéraient des schémas similaires, mais les tests de permutation ont indiqué que ces différences n'étaient pas statistiquement significatives. L'ampleur de la différenciation et les preuves de flux génétique suggèrent toutefois que les trois groupes génétiques ne sont pas totalement isolés les uns des autres. Les distinctions entre les groupes correspondent spatialement aux zones de réintroduction dans le centre de l'Idaho et dans le parc national de Yellowstone, ainsi qu'à la recolonisation naturelle en cours à partir de populations adjacentes au Canada et au Montana. Les loups situés à la périphérie des zones d'analyse présentaient un niveau de métissage plus élevé que ceux du centre, ce qui concorde avec l'idée que la territorialité et les comportements d'accouplement contribuent à la structuration génétique. Nous démontrons comment l'histoire de la gestion, y compris les efforts de réintroduction, et le comportement animal peuvent interagir et contribuer aux schémas de structure génétique des populations sauvages.

INTRODUCTION

La **structuration génétique** (c'est-à-dire les schémas de variation génétique chez les individus au sein d'une population) des populations d'animaux sauvages est déterminée par des barrières qui réduisent le flux génétique et favorisent l'isolement entre les groupes. Certains de ces mécanismes peuvent être de nature structurelle (par exemple, l'isolement dû à la distance géographique, l'isolement dû à une barrière paysagère et l'isolement dû à l'environnement), tandis que d'autres sont davantage liés au comportement, tels que l'évitement anthropique, la compétition interspécifique, l'empreinte de l'habitat natal et la résistance sociale (Sacks et al. 2008 ; Orsini et al. 2013 ; Armansin et al. 2019). Les mécanismes à l'origine de la **structuration génétique** peuvent être plus nuancés chez les espèces vivant en groupe et les organismes dotés de capacités de dispersion étendues. Dans ces cas, le flux génétique peut être influencé par l'interaction entre les associations entre parents, l'évitement de la consanguinité, la territorialité et d'autres comportements sociaux, tandis que la dispersion à longue distance réduit la structure globale (Cozzi et al. 2018 ; Blyton et al. 2015 ; Möller 2012).

Une **structure génétique** peut exister sans barrières explicites au flux génétique, même chez les espèces dotées de capacités de dispersion sur de longues distances, comme les loups gris (*Canis lupus*). Alors que certaines populations de loups gris ont présenté une **panmixie** (c'est-à-dire un **accouplement aléatoire**) sur de vastes zones géographiques (Aspi et al. 2006 ; Dan et al. 2016), d'autres ont montré une structure de population associée à des différences d'habitat et à une spécialisation en matière de proies (Jedrzejewski et al. 2012 ; Pilot et al. 2012 ; Schweizer et al. 2016). Des preuves étayant une dispersion favorisant l'habitat natal ont été observées chez les loups gris, ce qui pourrait constituer le fondement de schémas d'évolution dictés par l'écologie au sein des populations de loups (Geffen et al. 2004, Leonard 2015 ; Sanz-Pérez et al. 2018). À l'échelle locale, la différenciation entre les groupes génétiques de loups peut se produire dans des types d'habitats adjacents mais différents, comme entre les loups côtiers et ceux de l'intérieur des terres en Colombie-Britannique, et peut également être induite par la compétition inter- et intra-spécifique ainsi que par des influences anthropiques (Munoz-Fuentes et al. 2009 ; Ordiz et al. 2015 ; Scandura et al. 2011 ; Stronen et al. 2012).

Les loups gris étaient autrefois le mammifère terrestre le plus largement répandu à travers le monde, mais ils auraient probablement été exterminés sur le territoire contigu des États-Unis sans interventions de gestion (Boitani 2003). **Les populations de loups Américaines en dehors de l'Alaska ont été réduites à 1% de leur aire de répartition d'origine et, dans les années 1930, n'existaient plus que dans le nord du Minnesota (Fritts et Mech 1981).** Les loups ont été placés sous la protection de la loi sur les espèces menacées (ESA) aux États-Unis en 1974 et des signes de recolonisation naturelle en provenance du Canada ont commencé à apparaître dans des zones où les loups avaient auparavant été exterminés. En 1986, un couple de loups gris s'est reproduit avec succès une nouvelle fois dans le Montana (Bangs et Fritts 1996). Au cours des années suivantes, l'intérêt pour la réintroduction des loups dans la région des Rocheuses du Nord (NRM) aux États-Unis a conduit à la réintroduction expérimentale de loups gris provenant de l'Alberta et de la Colombie-Britannique (Canada) dans le parc national de Yellowstone, le Wyoming et le centre de l'Idaho (États-Unis) en 1995-1996 (Fritts

et al. 2008). La restauration d'une **métapopulation** de loups au sein des NRM s'est concentrée sur trois zones de rétablissement : le nord-ouest du Montana, le centre de l'Idaho et la région du Grand Yellowstone (GYA, comprenant le parc national de Yellowstone, le sud-ouest du Wyoming et le sud-ouest du Montana) (Fig. 1A ; vonHoldt et al. 2010). Les loups réintroduits dans les zones de rétablissement de Yellowstone et du centre de l'Idaho se sont multipliés et ont dépassé les objectifs de rétablissement dès 2002 (USFWS 2009). Les loups ont également commencé à recoloniser le nord de l'Idaho, soit grâce à la réintroduction initiale, soit par l'immigration en provenance de populations adjacentes plus proches situées dans la zone de rétablissement du Montana et en Colombie-Britannique (Fig. 1B ; USFWS et al. 2010).

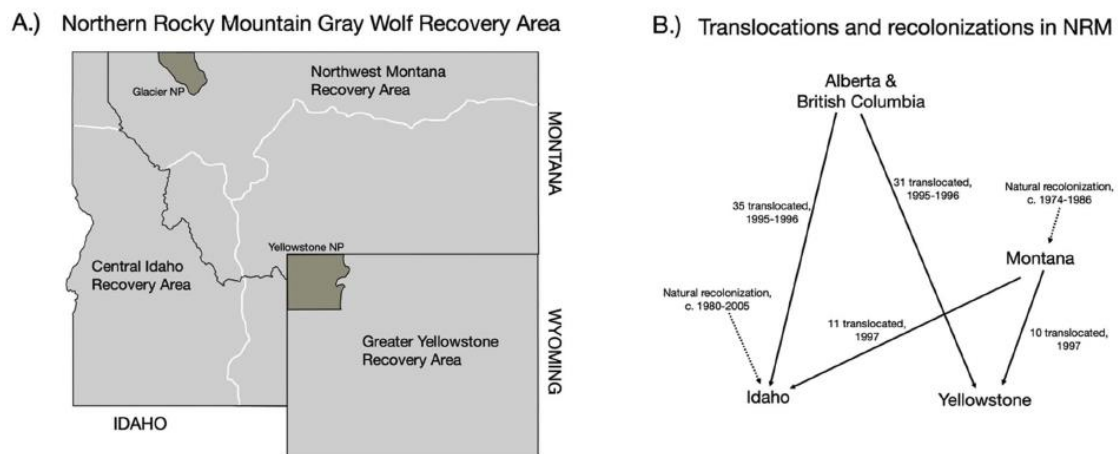


Fig. 1. (A) Carte de la zone de rétablissement du loup dans le nord des Rocheuses (NRM). (adaptée de USFWS et al. 2007). Les lignes noires continues représentent les frontières des États. Les lignes blanches délimitent la zone de rétablissement des loups de l'Idaho central, la zone de rétablissement des loups du nord du Montana et la zone de rétablissement des loups du Grand Yellowstone. (B) Historique de la réintroduction et de la recolonisation des loups dans la zone de rétablissement des loups des NRM. Les transferts entre populations sont représentés par des flèches pleines. Les recolonisations naturelles sont représentées par des flèches en pointillés

Bien que les loups réintroduits et ceux en cours de recolonisation aient vu leur nombre augmenter, le succès de la réintroduction dépendait en fin de compte d'un flux génétique efficace entre les zones de réintroduction afin d'éviter la dépression consanguine (Hebblewhite et al. 2010 ; vonHoldt et al. 2008). La diversité génétique au sein des zones de rétablissement semblait élevée d'après les évaluations menées pendant la période initiale de rétablissement (1995-2004), et des analyses ultérieures ont également mis en évidence une migration effective entre les zones de rétablissement (vonHoldt et al. 2010). Les loups sont actuellement largement répartis dans les trois zones de rétablissement d'origine et ont rempli les critères de retrait de la liste des espèces menacées en Idaho en 2011 et au Wyoming en 2017, avec des estimations actuelles de la taille de la population d'environ 1 881 individus (USFWS 2011, 2017 ; vonHoldt et al. 2024). Si la modélisation réalisée par le Fish and Wildlife Service pour l'évaluation du statut de l'espèce en 2023 suggère que la métapopulation des NRM résistera à l'extirpation au cours des 100 prochaines années, les estimations de la **taille effective** de la population sont inférieures aux recommandations pour la persistance à long terme (USFWS 2023 ; vonHoldt et al. 2024). La réussite continue du rétablissement du loup gris dans les NRM nécessitera une connectivité génétique soutenue entre les groupes au sein de la région.

Les loups gris sont une espèce généraliste à large aire de répartition et très mobile, et ni les distances ni les caractéristiques du paysage entre les groupes de la région des NRM ne devraient constituer des barrières à la dispersion (Forbes et Boyd 1997). Bien que le développement humain et les taux élevés de mortalité d'origine anthropique puissent créer une certaine résistance à la dispersion, ces facteurs seuls semblent peu susceptibles de créer une sous-structure génétique significative au sein des populations de loups gris. Par exemple, les coyotes (*C. latrans*) présentent de nombreux traits similaires et, malgré la longue histoire de divergence entre les lignées nord et sud en Amérique du Nord, une structure de population panmictique a été observée après la convergence des fronts de colonisation vers l'est de ces deux lignées dans la zone de contact du Mid-Atlantic (Bohling et al. 2017 ; Monzon 2014). Ce **schéma** n'a toutefois pas été observé de manière universelle : dans d'autres cas, une sous-structure génétique a été constatée chez les coyotes en association avec l'hétérogénéité environnementale et entre les populations urbaines et rurales (Damm et al. 2015 ; Sacks et al. 2008). Il n'est pas certain que les différences de conditions environnementales et d'histoires démographiques entre les loups gris réintroduits depuis l'Alberta et la Colombie-Britannique et ceux qui ont recolonisé naturellement le nord de l'Idaho soient suffisamment significatives pour générer une structure génétique durable et observable.

Nous avons examiné la structure génétique des loups gris de l'Idaho, qui font partie d'une population en expansion pour laquelle il existe des preuves antérieures de flux génétique régional et de capacités de dispersion étendues (von-Holdt et al. 2010). **Nous avons émis l'hypothèse d'une structure génétique panmictique (c'est-à-dire un accouplement aléatoire) en Idaho en raison des capacités de dispersion sur de longues distances des loups gris, indépendamment de l'histoire de la recolonisation ou du transfert.** Afin de tester l'effet de différents types de marqueurs génétiques sur les déductions relatives à la structure de la population, nous avons comparé les résultats en utilisant un panel de loci microsatellites précédemment développés et de polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) découverts par séquençage RAD.

METHODES

Zone d'étude

L'État de l'Idaho (216 632 km²) abrite une grande variété d'habitats et d'écosystèmes. Le nord de l'Idaho bénéficie d'un climat maritime et est dominé par le cèdre rouge de l'Ouest (*Thuja plicata*) et la pruche de l'Ouest (*Tsuga heterophylla*), tandis que le sud de l'Idaho bénéficie d'un climat continental et est dominé par le sapin de Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) et le pin ponderosa (*Pinus ponderosa* ; Nadeau et al. 2009). L'altitude varie de 457 m à plus de 3 650 m, les précipitations annuelles vont de <20 cm en basse altitude à >250 cm en haute altitude, et les températures varient de -34°C en hiver à 38°C en été (Western Regional Climate Center 2019). La majeure partie du sud de l'Idaho est constituée de terres agricoles privées ; le centre de l'Idaho comprend trois zones de nature sauvage contiguës et plusieurs prairies très productives mêlant terres indigènes et agricoles ; enfin, le nord de l'Idaho est principalement constitué de forêts publiques et de propriétés forestières privées détenues par des entreprises. Les principales proies des loups de l'Idaho sont principalement le cerf wapiti (*Cervus elaphus*) et le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*), l'orignal (*Alces alces*) et le cerf mulet (*O. hemionus*) faisant également partie de leur régime alimentaire (USF WS 1994).

Échantillonnage

Le personnel du Département de la pêche et de la chasse de l'Idaho a prélevé des échantillons de tissus sur des loups gris abattus en 2014 et 2015 ainsi que sur des individus issus de meutes faisant l'objet d'une étude à long terme, dans le cadre d'un programme de surveillance génétique. Les chasseurs et les trappeurs sont tenus de signaler les loups abattus dans les 10 jours et de fournir la peau et le crâne comme spécimens de référence. L'analyse de la dentition des prémolaires a été utilisée pour identifier les jeunes de l'année (YOY ; c'est-à-dire les individus nés au cours de l'année en cours). La taille estimée de la population était de 770 individus en 2014 et de 786 en 2015, avec respectivement 104 et 108 meutes estimées ; notre échantillonnage représentait un jeune de l'année par meute pour 52 des 55 meutes connues pour avoir réussi leur reproduction en 2014, et 63 des 69 meutes connues pour avoir réussi leur reproduction en 2015 (Clendenin et al. 2020).

Génotypage

Les conclusions sur la structure de population ne concordent pas toujours entre les études utilisant des marqueurs génétiques différents ; nous avons donc évalué la structure génétique à l'aide de **18 microsatellites** pour 118 individus et de **loci de polymorphismes nucléotidiques simples** (SNP) pour 98 individus parmi les loups échantillonnés. Les 18 loci microsatellites avaient été préalablement développés pour la surveillance génétique, comme décrit dans Stenglein et al. (2010), Stansbury et al. (2014) et Clendenin et al. (2020). Les loci SNP ont été identifiés dans nos échantillons à l'aide d'un protocole RADseq mis à jour (Ali et al. 2016).

Pour le génotypage par **microsatellites**, nous avons extrait l'ADN à partir d'échantillons de tissu de 20 mg à l'aide des kits Qiagen DNeasy Blood and Tissue (Qiagen, Valencia, CA, États-Unis). Des contrôles négatifs ont été inclus pour vérifier l'absence de contamination des échantillons, et chaque réaction en chaîne par polymérase (PCR) multiplexe a été réalisée avec un contrôle négatif pour vérifier l'absence de contamination des réactifs. 18 loci microsatellites d'ADN nucléaire marqués par colorant ont été regroupés en 2 multiplexes PCR avec une taille de produit <300 pb (AHT103, AHT109, AHT121, AHT200, C05.377, C09.173, C37.172, Cxx.119, Cxx.250, FH2001, FH2004, FH2010, FH2054, FH2088, FH2137, FH2611, FH2670, FH3725 ; Holmes et al. 1994, Breen et al. 2001, Guyon et al. 2003, Salim et al. 2007, Ostrander et al. 2017). Les deux multiplexes contenaient 3,5 µl de Qiagen Master Mix à 1,5× de concentration, 0,7 µl de Qiagen Q Solution à 0,5× de concentration et 2 µl d'extrait d'ADN (Clendenin et al. 2020). Nous avons utilisé un appareil capillaire Applied Biosystems 3130xl pour séparer les produits de PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA, États-Unis), et avons déterminé les génotypes à l'aide de GENEMAPPER 5.0 (Applied Biosystems). Nous avons analysé les échantillons en double ou en triple lorsque cela était nécessaire pour résoudre les incohérences de génotype ou pour pallier les échecs dus à la qualité de la conservation des échantillons. Nous n'avons conservé que les échantillons présentant des génotypes consensuels (c'est-à-dire des allèles identifiés indépendamment au moins deux fois) sur 90% ou plus des loci, et avons codé les génotypes non consensuels comme données manquantes.

La découverte des SNP pour 98 YOY récoltés dans l'Idaho au cours de la saison 2014-2015 a été réalisée à l'aide d'un protocole RADseq mis à jour, tel que décrit dans Clendenin (2019). La préparation des bibliothèques RADseq pour les individus génotypés par SNP a consisté à répartir équitablement les 98 échantillons entre deux plaques, comprenant 6 réplicats

techniques. Les échantillons standardisés ont été digérés avec l'enzyme de restriction Sbf-I et les bibliothèques RAD ont été préparées selon le protocole d'Ali et al. (2016). Les bibliothèques ont été envoyées au centre de génomique de l'Université de Californie à Berkeley pour être séquencées à l'aide d'une seule piste à haut débit sur un appareil Illumina HiSeq 4000 avec des lectures appariées de 150 pb.

La découverte de SNP alignés sur la référence à l'aide du génome du chien, CanFam 3.1, a été réalisée à l'aide de STACKS v. 1 (Brockx et al. 2014 ; Catchen et al. 2013). Nous avons utilisé un protocole modifié d'après Mastretta-Yanes et al. (2015) pour optimiser les paramètres de STACKS en minimisant l'erreur de génotypage entre les réplicats. Les paramètres optimisés comprenaient le réglage de la couverture minimale, c'est-à-dire le nombre de lectures brutes requis pour appeler un locus, à 3. Le modèle d'identification des SNP, qui spécifie le niveau de signification du chi carré requis pour identifier un hétérozygote ou un homozygote (α) et la limite supérieure pour epsilon (la limite supérieure du taux d'erreur), a été optimisé avec une valeur α de 0,01 et une limite supérieure d'epsilon de 0,1. Les loci génotypés chez moins de 40% des individus ont été supprimés. La fréquence minimale de l'allèle mineur acceptée pour les loci était de 0,1 et le seuil maximal d'hétérozygotie à un locus était de 0,5. Nous avons supprimé les lectures provenant de l'ADN mitochondrial et du chromosome X. Après optimisation des paramètres, un ensemble final de 1 019 SNP a été utilisé dans les analyses. Les individus présentant plus de 95% de données manquantes ont été exclus, ce qui a laissé 50 individus après filtrage.

Nous avons utilisé le programme ML-RELATE pour estimer la parenté entre les individus à partir de leurs génotypes microsatellites (Kalinowski et al. 2006). Lorsque des paires d'individus dépassaient un seuil de valeur r de 0,4, nous avons exclu un individu par paire des analyses, car il a été démontré que les individus apparentés faussent les résultats des analyses de regroupement bayésiennes (Schwartz et McKelvey 2009 ; Rodriguez-Ramilo et Wang 2012). L'utilisation de ce seuil pour éliminer les individus apparentés a laissé 101 individus dans l'ensemble de données microsatellites et 38 dans l'ensemble de données SNP.

Évaluation de la sous-structure génétique

Nous avons utilisé le programme bayésien STRUCTURE v2.3.4 pour tester l'hypothèse de la panmixie et identifier des groupes génétiques à partir des génotypes microsatellites et SNP (Pritchard et al. 2000). Nous avons utilisé le modèle général de mélange avec un nombre de groupes génétiques potentiels allant de 1 à 10 ($K = 1-10$), sans hypothèse a priori concernant la localisation des échantillons. Chaque valeur de K a été analysée avec 5 itérations indépendantes, chacune comportant 500 000 répétitions de la méthode de Monte Carlo à chaîne de Markov (MCMC) après une période de burn-in de 100 000 itérations. Pour obtenir la valeur la plus probable de K , nous avons utilisé STRUCTURE HARVESTER pour résumer les valeurs de log-vraisemblance et estimer ΔK (le taux de variation de la courbe de vraisemblance) à l'aide de la méthode d'Evanno (Earl et vonHoldt 2012 ; Evanno et al. 2005).

La différenciation génétique entre les clusters a été évaluée à l'aide du F_{ST} de Weir et Cockerham (Weir et Cockerham 1984) et visualisée par analyse en composantes principales (ACP). Le regroupement des individus a été évalué par deux méthodes. Dans la première, l'affectation était basée sur l'ascendance majoritaire de chaque individu selon STRUCTURE.

Dans la seconde, les individus ont été affectés à des groupes de manière géographique ; lorsque les groupes géographiques se chevauchaient à leurs périmètres, l'ascendance majoritaire a été utilisée pour déterminer l'affectation des individus. Des graphiques ACP ont été générés pour les deux schémas d'affectation. Les valeurs F_{ST} par paires au sein de chaque schéma ont été calculées à l'aide du package R hierfstat (Goudet 2005). Les génotypes manquants ont été conservés comme manquants dans toutes les analyses F_{ST} , sans imputation préalable à l'estimation ou au test. Une imputation moyenne a été appliquée uniquement pour la visualisation par ACP.

Pour les loci microsatellites, la signification statistique de la différenciation des populations a été testée par permutation. Les valeurs F_{ST} observées ont été comparées à des distributions nulles générées en permutant aléatoirement les individus entre les populations (5 000 permutations) à l'aide de la fonction `test.between`. Cela préserve les génotypes multilocus et les fréquences alléliques, et les valeurs p reflètent la probabilité d'observer des valeurs F_{ST} égales ou supérieures à celles observées empiriquement sous l'hypothèse nulle d'absence de structure.

Le test de signification de F_{ST} basé sur la permutation est approprié pour les loci microsatellites multialléliques, mais peut s'avérer peu fiable pour les grands ensembles de données SNP bialléliques. Plutôt que de générer des valeurs p , l'incertitude du F_{ST} basé sur les SNP a été évaluée par un rééchantillonnage bootstrap des loci avec remplacement, générant des intervalles de confiance autour des estimations F_{ST} par paires. La largeur de l'intervalle de confiance bootstrap s'est stabilisée après environ 150 à 200 répliques ; 300 répliques ont donc été utilisées dans toutes les analyses.

RESULTATS

Les résultats de nos analyses, réalisées à partir de 18 loci microsatellites pour 118 individus et de 1 019 loci SNP pour 38 individus, ont mis en évidence une **substructure génétique**, plutôt qu'une panmixie, chez les loups de l'Idaho. Les estimations fondées sur la vraisemblance et ΔK , issues tant de l'ensemble de données microsatellites que de l'ensemble de données SNP, suggèrent la présence d'au moins trois groupes génétiques, avec des degrés variables de métissage entre eux (Figure S1).

Notre hypothèse d'un groupe génétique unique ($K = 1$) n'a pas été confirmée. Malgré un pic à 4 sur le graphique ΔK basé sur les microsatellites, la courbe de vraisemblance atteint son maximum à $K = 3$ groupes génétiques (Figure S1A) et constitue l'indicateur privilégié de K (Evanno et al. 2005). Pour les loci SNP, la courbe de vraisemblance continue d'augmenter jusqu'à $K = 10$, mais la valeur ΔK soutient $K = 3$ (Figures SIC et S1D). Ces groupes sont concordants entre les types de marqueurs et géographiquement concentrés dans le nord de l'Idaho, le centre de l'Idaho et la partie sud-est de l'État adjacente au parc national de Yellowstone (Figures 1, 2 et 3). Nous désignerons par la suite ces groupes respectivement comme les grappes nord, centrale et sud-est.

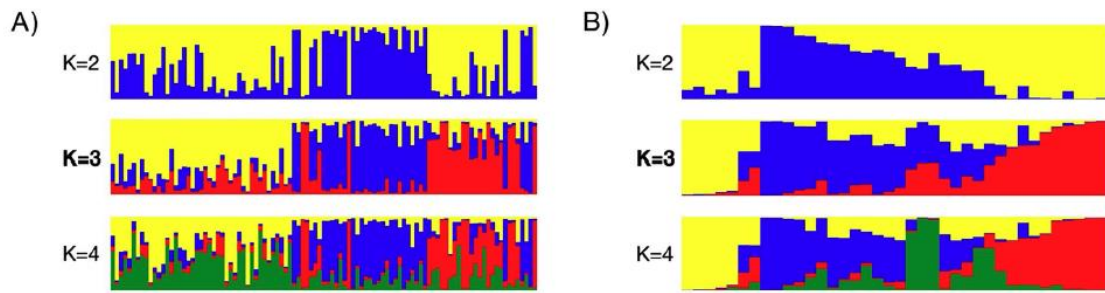


Fig. 2. Résultats de l'analyse de la structure génétique des loups gris de l'Idaho, classés en groupes génétiques (K) à partir d'échantillons prélevés entre 2014 et 2015. Les graphiques à barres indiquent la proportion d'ascendance génétique déterminée pour chaque individu à partir des génotypes microsatellites (A) et SNP (B). Chaque barre verticale représente un individu, les couleurs représentant des groupes génétiques distincts. Les valeurs K=2 à K=4 sont représentées, tandis que K=3 (en gras) était le nombre de groupes le plus probable. Dans le graphique K=3, le rouge représente le groupe dit « nord », le bleu représente le groupe dit « central » et le jaune est utilisé pour le groupe « sud-est ».

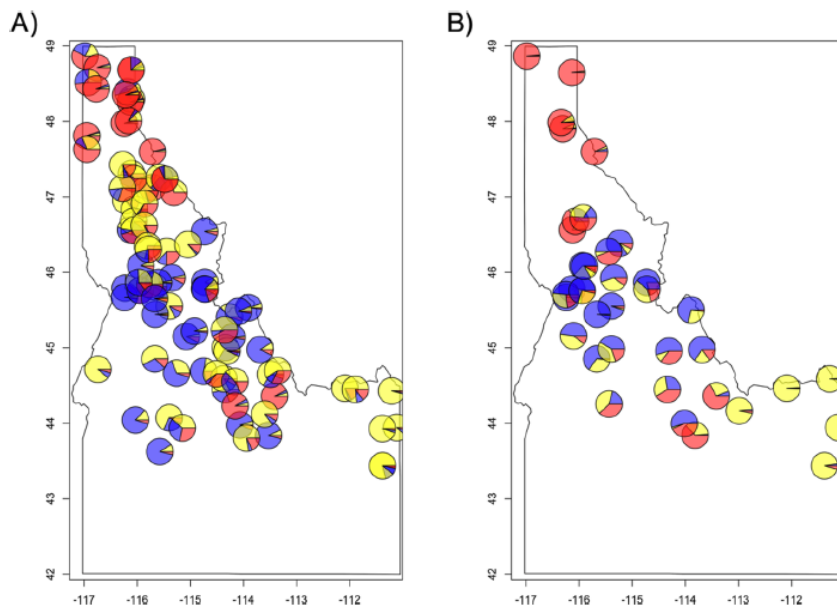


Fig. 3. Ascendance individuelle des loups gris de l'Idaho (États-Unis), échantillonnés entre 2014 et 2015. La carte A présente les résultats basés sur les génotypes microsatellites, tandis que la carte B présente les résultats basés sur les génotypes SNP. Chaque individu échantillonné est représenté par un diagramme circulaire indiquant la proportion de son ascendance attribuée à chaque groupe génétique. Le rouge représente le groupe appelé « nord », le bleu le groupe « central » et le jaune le groupe « sud-est ». Chaque point a été tracé à partir des coordonnées GPS correspondantes communiquées au Département de la pêche et de la chasse de l'Idaho au moment du prélèvement

Bien qu'il existe des preuves de l'existence de multiples groupes génétiques et d'une sous-structure chez les loups, il existe également des preuves d'un flux génétique entre les régions. Dans l'ensemble de données microsatellites, une proportion substantielle d'individus dont l'ascendance majoritaire est attribuée à la grappe sud-est était répartie géographiquement au sein de la grappe centrale, ainsi que quelques-uns au sein de la grappe nord. Les ACPs des génotypes microsatellites montrent que ces individus se regroupent en fonction de leur ascendance majoritaire, ce qui **contraste** nettement avec leur localisation géographique (figures S2A et S2B). Les ACPs montrent une différenciation cohérente des trois groupes dans l'ensemble de données SNP en utilisant les deux méthodes d'attribution individuelle, avec des changements minimes entre elles (Figures S2C et S2D). Dans l'ensemble, de nombreux individus présentent une ascendance mixte entre plusieurs groupes (Figures 2 et 3), et on observe une ascendance mixte au sein des régions.

L'analyse de la différenciation génétique entre les groupes à l'aide du F_{ST} de Weir et Cockerham a révélé des niveaux de divergence généralement faibles pour les deux ensembles de marqueurs. Les valeurs F_{ST} par paires étaient les plus élevées entre les groupes nord et central, bien que le classement entre les autres paires ait varié. Les valeurs F_{ST} différaient entre les ensembles de données (microsatellites *vs.* SNP) et entre les méthodes d'attribution (ascendance majoritaire selon STRUCTURE *vs.* localisation géographique).

Dans l'ensemble de données microsatellites, les valeurs F_{ST} basées sur l'attribution d'ascendance étaient systématiquement plus élevées que celles basées sur la géographie (ascendance : nord-centre 0,046, nord-sud-est 0,030, centre-sud-est 0,036 ; situation géographique : nord-centre 0,024, nord-sud-est 0,012, centre-sud-est 0,017). Cependant, les tests de permutation ont indiqué que ces différences n'étaient pas statistiquement significatives dans l'ensemble ($p = 0,165$ et $0,161$ pour l'ascendance et la situation géographique, respectivement), ce qui suggère que la différenciation par les microsatellites, bien que non nulle, est faible et doit être interprétée avec prudence.

Pour les SNPs, les valeurs F_{ST} étaient plus faibles mais plus cohérentes entre les différentes méthodes d'attribution (ascendance : centre-nord 0,012, nord-sud-est 0,012, centre-sud-est 0,009 ; géographie : centre-nord 0,012, nord-sud-est 0,012, centre-sud-est 0,007). L'incertitude des estimations de F_{ST} basées sur les SNPs a été évaluée à l'aide d'un rééchantillonnage par bootstrap de locus, qui a généré des intervalles de confiance à 95% excluant zéro pour toutes les comparaisons par paires, indiquant que la différenciation des SNP était statistiquement étayée.

DISCUSSION

Contrairement à notre hypothèse d'une population panmictique de loups, nous avons identifié **trois** groupes génétiques de loups gris dans l'État de l'Idaho, confirmés principalement par des marqueurs SNP. Les données microsatellites ont suggéré des schémas similaires, mais les tests de permutation ont indiqué que ces différences n'étaient pas statistiquement significatives. **L'ampleur de la différenciation et les indices de flux génétique suggèrent que ces trois groupes génétiques ne sont pas totalement isolés les uns des autres et que les loups se déplacent et se reproduisent régulièrement entre ces groupes** (Tableau 1 ; Fig. 3 ; vonHoldt et al. 2010). Ces groupes coïncident géographiquement avec les zones de **réintroduction** de loups gris provenant de l'Alberta et de la Colombie-Britannique dans le centre de l'Idaho (c'est-à-dire le groupe central, représenté en bleu sur les Figures 2 et 3) et à Yellowstone (groupe sud-est, représenté en jaune sur les Figures 2 et 3), ainsi qu'avec la **recolonisation naturelle** en cours à partir de populations adjacentes au Canada et au Montana (groupe nord, représenté en rouge sur les Fig. 2 et 3). Une **structure génétique** sans barrières évidentes a été observée chez d'autres populations de loups gris en association avec la variation de l'habitat, la préférence de proies, la compétition inter- et intra-spécifique, et l'histoire démographique (Aspi et al. 2006 ; Hindrikson et al. 2017).

Tableau 1. Valeurs F_{ST} obtenues à l'aide de marqueurs microsatellites et SNP pour les comparaisons par paires entre les groupes de loups de l'Idaho

Marker type	Assignment method	Northern to Central	Northern to Southeastern	Central to Southeastern
SNP	Ancestry majority	0.011	0.010	0.008
SNP	Geographic	0.011	0.012	0.006
Micro-satellite	Ancestry majority	0.046	0.030	0.036
Micro-satellite	Geographic	0.017	0.012	0.023

Weir and Cockerham's F_{ST} was calculated between each pair of clusters for wolves genotyped using SNPs and microsatellites. Individuals were grouped into three clusters (northern, central, and southeastern) using two assignment methods for each marker set, determined either by the ancestry majority from the STRUCTURE analysis, or by geographic location. F_{ST} values are listed under the description of the corresponding pairwise comparison.

En raison d'influences anthropiques similaires, les loups en cours de recolonisation en Europe peuvent fournir des indications sur les facteurs potentiels de la division génétique observée en Idaho. En Europe, la distinction la plus notable est la variation génétique le long d'un axe nord-sud associée à l'expansion d'anciennes populations résiduelles en Europe de l'Est et du Sud (Hindrikson et al. 2017). Une structure génétique à plus petite échelle est également apparue à mesure que ces populations résiduelles recolonisaient différentes régions et subissaient des effets de fondateur en série et des goulots d'étranglement démographiques (Fabbri et al. 2014 ; Aspi et al. 2006 ; Jansson et al. 2012). La structure génétique à petite échelle est également associée à des reliefs naturels, tels que les chaînes de montagnes, à l'évitement des conflits interspécifiques, à la territorialité intraspécifique et à la stabilité spatiale, aux préférences en matière de proies et d'habitat, ainsi qu'à des influences anthropiques, telles que la modification de l'habitat et la pression de chasse (Aspi et al. 2009 ; Scandura et al. 2011 ; Stronen et al. 2013 ; Milanese et al. 2018 ; Ordiz et al. 2015). Nos résultats en Idaho suggèrent des schémas compatibles avec des mécanismes similaires de regroupement génétique, des effets de fondateur liés aux réintroductions et à des événements de recolonisation naturelle plus récents, ainsi que, peut-être, des caractéristiques anthropiques et paysagères (bien que non explicitement mesurées dans notre étude) qui freinent la dispersion et limitent la panmixie de la population.

Dans l'ensemble, les niveaux de différenciation que nous avons observés entre les groupes génétiques sont faibles et un métissage est observé dans tout l'État, de nombreux individus présentant une ascendance mixte entre les groupes (Fig. 2 et 3 ; Tableau 1). Auparavant, vonHoldt et al. (2010) avaient trouvé des preuves similaires de flux génétique chez les loups du nord des Rocheuses. Les ACPs utilisant des données SNP ont montré une forte concordance entre la localisation géographique et l'ascendance majoritaire, tandis que les ACPs utilisant des données microsatellites ont indiqué une distinction plus nette entre les groupes lorsque l'affectation des individus à un groupe était basée sur l'ascendance majoritaire plutôt que sur la localisation géographique (Fig. S2A-D). Nous avons observé moins de métissage parmi les individus échantillonnés au sein des noyaux géographiques des groupes, et le métissage entre tous les groupes était plus évident à la périphérie de chaque groupe et dans les zones intermédiaires. Cela pourrait être révélateur de la territorialité et des comportements d'accouplement des loups, qui limitent le métissage au cœur des habitats saturés. Alternativement, cela pourrait indiquer une préférence pour l'héritage des territoires

natales ou l'établissement de territoires dans des habitats similaires aux territoires natales, avec davantage de métissage chez les individus qui se sont dispersés au-delà de ces zones centrales. Les différences par paires entre les groupes génétiques, basées sur le F_{ST} de Weir et Cockerham, n'étaient pas cohérentes entre les panels de marqueurs (Tableau 1). La plus grande différenciation a été observée entre les groupes central et nord dans les données SNP, tandis que les valeurs F_{ST} des microsatellites n'étaient pas statistiquement significatives. Le groupe nord pourrait être génétiquement distinct en raison d'un effet fondateur en série parmi les loups se recolonisant naturellement. Cette hypothèse est corroborée par des travaux récents montrant que les loups du nord de l'Idaho présentaient une hétérozygotie plus faible et que les groupes de loups étaient plus apparentés les uns aux autres que les loups réintroduits historiquement dans le centre de l'Idaho (Ausband et Waits 2020). De plus, il est possible que des gènes provenant de l'écotype de loup côtier identifié dans l'État voisin de Washington contribuent à la spécificité des loups du nord de l'Idaho (Hendricks et al. 2019). Les divergences entre les panels de marqueurs peuvent refléter des différences dans les taux de mutation ou la taille des échantillons. Bien que les valeurs F_{ST} des microsatellites aient été plus élevées dans certaines comparaisons par paires, ces différences n'étaient pas statistiquement significatives, ce qui suggère une moindre capacité des microsatellites à détecter des différenciations subtiles dans ce système.

Bien qu'il s'agisse d'une espèce généraliste, on a également constaté que les loups gris présentaient une structure génétique associée à des différences d'habitat et de régime alimentaire. Par exemple, les loups de Colombie-Britannique présentent des préférences distinctes en matière d'habitat et de proies, associées aux habitats côtiers ou forestiers, et font également preuve d'adaptations physiologiques à ces habitats (Muñoz-Fuentes et al. 2009 ; Hendricks et al. 2018). Des études d'association pangénomiques menées en Europe à la recherche de signes d'adaptation locale ont identifié des loci candidats associés à des gènes liés à la régulation de la température et à d'autres gènes fonctionnels (Stronen et al. 2015). Une subdivision génétique associée à des différences alimentaires a été observée dans d'autres régions, telles que la Pologne et l'Europe de l'Est, dont certaines ont été corroborées par une analyse des isotopes stables de la composition des proies dans le régime alimentaire des loups (Jedrzejewski et al. 2012 ; Milakovic et Parker 2011 ; Pilot et al. 2012). De même, une étude de la structure génétique des loups gris dans une partie des Rocheuses Canadiennes a identifié deux groupes distincts correspondant respectivement à une forêt de conifères dense ou à une forêt de conifères clairsemée, ce qui suggère soit une préférence pour certaines proies, soit une affinité pour l'habitat natal (Cullingham et al. 2016). Plusieurs études ont suggéré que les préférences en matière d'habitat et de proies, même en l'absence d'adaptation locale, peuvent être transmises pendant la période natale par le biais de comportements de recherche de nourriture acquis ou d'autres mécanismes, tels que l'empreinte (Sanz-Pérez et al. 2018 ; Pilot et al. 2006 ; Milleret et al. 2019). Un tel effet pourrait être présent en Idaho, où les proies principales des loups peuvent varier spatialement (par exemple, les cerfs dans le nord de l'Idaho et les wapitis dans le centre de l'Idaho). De plus, les habitats du nord de l'Idaho reçoivent davantage de précipitations, sont généralement plus boisés et globalement plus productifs que d'autres zones de l'Idaho. Ces différences d'habitat et d'espèces de proies dominantes peuvent influencer le comportement de dispersion des loups et être associées à certains des schémas de structure génétique que nous avons observés. Enfin, il existe des barrières paysagères potentielles (à savoir l'autoroute inter-États, le grand réseau fluvial ; la rivière Salmon) qui entravent les déplacements entre la sous-

population du nord et les autres sous-populations étudiées en Idaho. Nous notons toutefois que les loups équipés de colliers émetteurs ont régulièrement franchi ces obstacles.

La structure génétique peut également être attribuée à la **résistance sociale**, en particulier dans les cas où l'habitat préféré est monopolisé par les fondateurs et leur progéniture (Armansin et al. 2019). Chez les loups, la **résistance sociale** peut entraver les déplacements et le flux génétique à travers les paysages par le biais de l'agressivité territoriale (vonHoldt et al., 2008 ; Cassidy et al. 2016).

Les loups surveillent leurs territoires à la recherche d'intrusions de loups extérieurs à leur propre meute, et les confrontations qui s'ensuivent peuvent être mortelles (Schlägel et al. 2017 ; Cassidy et al. 2016). **De cette manière**, les conflits interspécifiques constituent une source majeure de mortalité chez les adultes et ont été documentés comme un moyen de réguler la densité dans le parc national de Yellowstone (Cubaynes et al. 2014). **Bien que l'adoption de disperseurs non apparentés au sein des meutes ait parfois été documentée, des études génétiques menées dans l'Idaho n'ont généralement constaté que l'acceptation de disperseurs dans les meutes en tant que reproducteurs** (Ausband et al. 2017). Dans des conditions de forte **stabilité spatiale** et de saturation de l'habitat, un retard dans la dispersion et une **transmission linéaire** du territoire peuvent influencer la parenté et la structure génétique (Koenig et al. 1992 ; Scandura et al. 2011 ; Sparkman et al. 2011).

La chasse au loup dans l'Idaho et la perturbation de la structure sociale qui en résulte peuvent avoir des effets incertains sur le maintien de la structure génétique (Ausband et al. 2017). Dans ces cas, les territoires semblent être rapidement réétablis par des loups voisins, qui peuvent occuper des territoires sous-optimaux ou retarder leur dispersion au sein de leur meute natale (Ausband et al. 2017). Des observations similaires de ce type de « territorial biding » ont été faites chez les coyotes dans une matrice de paysages urbains et ruraux, qui évitent les environnements urbains à moins qu'ils ne cherchent à fuir des congénères (Mitchell et al. 2015). Dans ces cas, un habitat moins prisé est choisi pour le déplacement pendant la dispersion ou comme territoire de passage pendant les périodes d'attente d'un territoire de meilleure qualité (Morin et Kelly 2017). S'il semble probable que les loups revendiquant des territoires vacants à proximité soient génétiquement apparentés aux occupants précédents, ces ouvertures offrent également des opportunités aux loups se dispersant sur de plus grandes distances d'assumer des rôles de reproducteurs (Jimenez et al. 2017). **De plus**, ces conditions semblent également encourager des stratégies de reproduction alternatives, telles que l'accouplement polyandrique au sein des meutes avec des mâles intrus de passage, ce qui peut également affaiblir la force de la structure génétique formée par le comportement territorial (Ausband 2018, 2019).

Conclusions

Nous avons mis en évidence une structure génétique chez les loups gris de l'État de l'Idaho, principalement étayée par des données de génotypes SNP. Cette structure existe au sein des aires de dispersion des loups et en l'absence de barrières physiques évidentes. Les groupes génétiques coïncident spatialement avec les sites de réintroduction (près du centre de l'Idaho et à proximité du parc national de Yellowstone) et de recolonisation naturelle dans la partie nord de l'Idaho depuis le Canada, bien que d'autres facteurs puissent expliquer ces

regroupements. Les mécanismes à l'origine de la structure génétique observée peuvent être testés au fil du temps dans l'Idaho. Des tendances pourraient se dessiner au fil du temps si la structure génétique est influencée par l'hérédité territoriale et la résistance sociale. Par exemple, si les loups adaptent leurs comportements de dispersion et d'accouplement en réponse au renouvellement des reproducteurs, à l'augmentation des prélèvements humains ou aux changements de densité de population.

Si la **structure génétique** observée est déterminée par les préférences en matière d'habitat et reste stable au fil du temps, les différences de pressions sélectives (par exemple, influences anthropiques, différences d'habitat et de proies, stratégies de reproduction alternatives) pourraient conduire à des différences adaptatives héréditaires. À l'heure actuelle, les niveaux de flux génétique entre les groupes et la diversité génétique suggèrent que les groupes génétiques observés ne sont pas isolés et que les loups se déplacent et se reproduisent, au moins dans une certaine mesure, entre ces groupes.

References

- Ali OA, O'Rourke SM, Amish SJ, Meek MH, Luikart G, Jeffres C, Miller MR (2016) Rad capture (Rapture): flexible and efficient sequence-based genotyping. *Genetics* 202(2):389–400
- Armansin NC, Stow AJ, Cantor M, Leu ST, Klarevas-Irby JA, Chariton AA, Farine DR (2019) Social barriers in ecological landscapes: the social resistance hypothesis. *Trends Ecol Evol* 35(2):137–148
- Aspi J, Roininen E, Kiiskilä J, Ruokonen M, Kojola I, Bljudnik L, Danilov P, Heikkinen S, Pulliainen E (2009) Genetic structure of the Northwestern Russian Wolf populations and gene flow between Russia and Finland. *Conserv Genet* 10(4):815–826
- Aspi J, Roininen E, Ruokonen M, Kojola I, Vilà C (2006) Genetic diversity, population structure, effective population size and demographic history of the Finnish Wolf population. *Mol Ecol* 15(6):1561–1576
- Ausbund DE (2018) Multiple breeding individuals within groups in a social carnivore. *J Mammal* 99(4):836–844
- Ausbund DE (2019) Pair bonds, reproductive success, and rise of alternate mating strategies in a social carnivore. *Behav Ecol* 30(6):1618–1623
- Ausbund DE, Mitchell MS, Waits LP (2017) Effects of breeder turnover and harvest on group composition and recruitment in a social carnivore. *J Anim Ecol* 86(5):1094–1101
- Ausbund DE, Waits L (2020) Does harvest affect genetic diversity in grey wolves? *Mol Ecol* 29(17):3187–3195
- Bangs EE, Fritts SH (1996) Reintroducing the Gray Wolf to central Idaho and Yellowstone National Park. *Wildl Soc Bull* 24:402–413
- Blyton MDJ, Banks SC, Peakall R (2015) The effect of sex-biased dispersal on opposite-sexed spatial genetic structure and inbreeding risk. *Mol Ecol* 24(8):1681–1695
- Bohling JH, Mastro LL, Adams JR, Gese EM, Owen SF, Waits LP (2017) Panmixia and limited interspecific introgression in Coyotes (*Canis latrans*) from West Virginia and Virginia, USA. *J Hered* 108(6):608–617
- Boitani L (2003) Wolf conservation and recovery. In: David Mech L, Boitani L (eds) *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. University of Chicago Press, pp 317–340
- Breen M, Jouquand S, Renier C, Mellersh CS, Hitte C, Holmes NG, Chéron A, Suter N, Vignaux F, Bristow AE et al (2001) Chromosome-specific single-locus FISH probes allow anchorage of an 1800-marker integrated radiation-hybrid/linkage map of the domestic dog genome to all chromosomes. *Genome Res* 11:1784–1795
- Broeckx BJG, Coopman F, Verhoeven GEC, Bavegems V, De Keulenaer S, De Meester E, Broeckx BJ, Verhoeven GE, Van Nieuwerburgh F, Deforce D (2014) Development and performance of a targeted whole exome sequencing enrichment kit for the dog (*Canis familiaris* build 3.1). *Sci Rep* 4:5597. <https://doi.org/10.1038/srep05597>
- Cassidy KA, Smith DW, Mech LD, MacNulty DR, Stahler DR, Metz MC (2016) Territoriality and inter-pack aggression in Gray wolves: shaping a social carnivore's life history. *Yellowstone Sci* 24(1):37–42
- Catchen JM, Hohenlohe PH, Bassham S, Amores A, Cresko WA (2013) Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Mol Ecol* 22(11):3124–3140
- Clendenin HR (2019) Monitoring wolf packs by counting litters: sibling reconstruction from genetics to genomics [MSc Thesis]. University of Idaho, Moscow (ID)
- Earl DA, vonHoldt BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour* 4(2):359–361
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14(8):2611–2620
- Fabbri E, Caniglia R, Kusak J, Galov A, Gomerčić T, Arbanasić H, Huber D, Randi E (2014) Genetic structure of expanding wolf (*Canis lupus*) populations in Italy and Croatia, and the early steps of the recolonization of the Eastern Alps. *Mamm Biol* 79(2):138–148
- Forbes SH, Boyd DK (1997) Genetic structure and migration in native and reintroduced Rocky Mountain wolf populations. *Conserv Biol* 11(5):1226–1234
- Fritts SH, Bangs EE, Fontaine JA, Johnson MR, Phillips MK, Koch ED, Gunson JR (2008) Planning and implementing a reintroduction of wolves to Yellowstone National Park and Central Idaho. *Restor Ecol* 5(1):7–27
- Fritts SH, Mech LD (1981) Dynamics, movements, and feeding ecology of a newly protected wolf population in northwestern Minnesota. *Wildlife Monogr* 80:3–79
- Geffen E, Anderson MJ, Wayne RK (2004) Climate and habitat barriers to dispersal in the highly mobile grey wolf. *Mol Ecol* 13(8):2481–2490
- Goudet J (2005) Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Mol Ecol Notes* 5(1):184–186
- Guyon R, Lorentzen TD, Hitte C, Kim L, Cadieu E, Parker HG, Quignon P, Lowe JK, Renier C, Gelfenbeyn B et al (2003) A 1-Mb resolution radiation hybrid map of the canine genome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:5296–5301
- Hebblewhite M, Musiani M, Mills LS (2010) Restoration of genetic connectivity among Northern Rockies wolf populations. *Mol Ecol* 19(20):4383–4385
- Hendricks SA, Schweizer RM, Harrigan RJ, Pollinger JP, Paquet PC, Darimont CT, Adams Jr. R., Waits LP, vonHoldt BM, Hohenlohe PA, Wayne RK (2019) Natural re-colonization and admixture of wolves (*Canis lupus*) in the US Pacific Northwest: challenges for the protection and management of rare and endangered taxa. *Heredity* 122(2):133–149
- Hendricks SA, Schweizer RM, Wayne RK (2018) Conservation genomics illuminates the adaptive uniqueness of North American gray wolves. *Conserv Genet* 20(1):29–43. <https://doi.org/10.1007/s10592-018-1118-z>
- Hindrikson M, Remm J, Pilot M, Godinho R, Stronen AV, Baltrūnaitė L, Czarnomska SD, Leonard JA, Randi E, Nowak C, Åkesson M, López-Bao JV, Álvares F, Llana L, Echeagaray J, Vilà C, Ozo-

- Clendenin HR, Adams JR, Ausband DE, Hayden JA, Hohenlohe PA, Waits LP (2020) Combining harvest and genetics to estimate reproduction in wolves. *J Wildl Manag* 84(3):492–504
- Cozzi G, Maag N, Börger L, Clutton-Brock TH, Ozgul A (2018) Socially informed dispersal in a territorial cooperative breeder. *J Anim Ecol* 87(3):838–849
- Cubaynes S, MacNulty DR, Stahler DR, Quimby KA, Smith DW, Coulson T (2014) Density-dependent intraspecific aggression regulates survival in Northern Yellowstone wolves (*Canis lupus*). *J Anim Ecol* 83(6):1344–1356
- Cullingham CI, Thiessen CD, Derocher AE, Paquet PC, Miller JM, Hamilton JA, Coltman DW (2016) Population structure and dispersal of wolves in the Canadian Rocky Mountains. *J Mammal* 97(3):839–851
- Damm DL, Armstrong JB, Arjo WM, Piaggio AJ (2015) Assessment of population structure of coyotes in East-Central Alabama using microsatellite DNA. *Southeast Nat* 14(1):106–122
- Dan M, Šnjegota D, Veličković N, Stefanović M, Vidaković DO, Čirović D (2016) Genetic variability and population structure of grey wolf (*Canis lupus*) in Serbia. *Russ J Genet* 52(8):821–827
- Kalinowski ST, Wagner AP, Taper ML (2006) ML-RELATE: a computer program for maximum likelihood Estimation of relatedness and relationship. *Mol Ecol Notes* 6(2):576–579
- Koenig WD, Pitelka FA, Carmen WJ, Mumme RL, Stanback MT (1992) The evolution of delayed dispersal in cooperative breeders. *Q Rev Biol* 67(2):111–150
- Leonard JA (2015) Ecology drives evolution in grey wolves. *Evol Ecol Res* 16(6):461–473
- Mastretta-Yanes A, Arrigo N, Alvarez N, Jorgensen TH, Piñero D, Emerson BC (2015) Restriction site-associated DNA sequencing, genotyping error estimation and de novo assembly optimization for population genetic inference. *Mol Ecol Resour* 15(1):28–41
- Milakovic B, Parker KL (2011) Using stable isotopes to define diets of wolves in Northern British Columbia, Canada. *J Mammal* 92(2):295–304
- Milanesi P, Caniglia R, Fabbri E, Puopolo F, Galaverni M, Holderegger R (2018) Combining bayesian genetic clustering and ecological niche modeling: insights into wolf intraspecific genetic structure. *Ecol Evol* 8(22):11224–11234
- Milleret C, Ordiz A, Sanz-Pérez A, Uzal A, Carricondo-Sanchez D, Eriksen A, Sand H, Wabakken P, Wikenros C, Åkesson M, Zimmermann B (2019) Testing the influence of habitat experienced during the natal phase on habitat selection later in life in Scandinavian wolves. *Sci Rep* 9(1):1–11
- Mitchell N, Strohbach MW, Pratt R, Finn WC, Strauss EG (2015) Space use by resident and transient coyotes in an urban–rural landscape mosaic. *Wildl Res* 42(6):461–469
- Möller LM (2012) Sociogenetic structure, kin associations and bonding in delphinids. *Mol Ecol* 21(3):745–764
- Monzón J (2014) First regional evaluation of nuclear genetic diversity and population structure in Northeastern Coyotes (*Canis latrans*). *F1000Res* 3(66):1–15
- Morin DJ, Kelly MJ (2017) The dynamic nature of territoriality, transience and biding in an exploited coyote population. *Wildlife Biol* 2017(1):1–13
- Muñoz-Fuentes V, Darimont CT, Wayne RK, Paquet PC, Leonard JA (2009) Ecological factors drive differentiation in wolves from British Columbia. *J Biogeogr* 36(8):1516–1531
- Nadeau MS, Mack C, Hoylan J, Lucid M, Spicer D, Thomas B (2009) Wolf conservation and management in Idaho; progress report 2008. Idaho Department of Fish and Game, Boise, Idaho; Nez Perce Tribe, Lapwai, Idaho
- Ordiz A, Milleret C, Kindberg J, Månsson J, Wabakken P, Swenson JE, Sand H (2015) Wolves, people, and brown bears influence the expansion of the recolonizing wolf population in Scandinavia. *Ecosphere* 6(12):1–14
- lins J, Rungis D, Aspi J, Saarma U (2017) Wolf population genetics in Europe: a systematic review, meta-analysis and suggestions for conservation and management. *Biol Rev* 92(3):1601–1629
- Holmes NG, Strange NJ, Binns MM, Mellersh CS, Sampson J (1994) Three polymorphic canine microsatellites. *Anim Genet* 25:200
- Jansson E, Ruokonen M, Kojola I, Aspi J (2012) Rise and fall of a wolf population: genetic diversity and structure during recovery, rapid expansion and drastic decline. *Mol Ecol* 21(21):5178–5193
- Jędrzejewski W, Niedziałkowska M, Hayward MW, Goszczyński J, Jędrzejewska B, Borowik T, Bartoń KA, Nowak S, Harmuszkiewicz J, Juszczyk A, Kałamarz T, Kloch A, Koniuch J, Kotiuk K, Mysłajek RW, Nędzyńska M, Olczyk A, Teleon M, Wojtulewicz M (2012) Prey choice and diet of wolves related to ungulate communities and wolf subpopulations in Poland. *J Mammal* 93(6):1480–1492
- Jiminez MD, Bangs EE, Boyd DK, Smith DW, Becker SA, Ausband DE, Woodruff SP, Bradley EH, Hoylan J, Landon K (2017) Wolf dispersal in the Rocky Mountains, Western United States: 1993–2008. *J Wildl Manage* 81(4):581–592
- Rodríguez-Ramilo ST, Wang J (2012) The effect of close relatives on unsupervised bayesian clustering algorithms in population genetic structure analysis. *Mol Ecol Resour* 12(5):873–884
- Sacks BN, Bannasch DL, Chomel BB, Ernest HB (2008) Coyotes demonstrate how habitat specialization by individuals of a generalist species can diversify populations in a heterogeneous ecoregion. *Mol Biol Evol* 25(7):1384–1394
- Salim DC, Akimoto AA, Carvalho CB, Oliveira SF, Grisolia CK, Moreira JR, Klautau-Guimarães MN (2007) Genetic variability in maned wolf based on heterologous short-tandem repeat markers from domestic dog. *Genet Mol Res* 6:348–357
- Sanz-Pérez A, Ordiz A, Sand H, Swenson JE, Wabakken P, Wikenros C, Zimmermann B, Åkesson M, Milleret C (2018) No place like home? A test of the natal habitat-biased dispersal hypothesis in Scandinavian wolves. *Royal Society Open Science* 5(12):181379
- Scandura M, Iacolina L, Capitani C, Gazzola A, Mattioli L, Apollonio M (2011) Fine-scale genetic structure suggests low levels of short-range gene flow in a wolf population of the Italian apennines. *Eur J Wildl Research; Heidelberg* 57(4):949–958
- Schlägel UE, Merrill EH, Lewis MA (2017) Territory surveillance and prey management: wolves keep track of space and time. *Ecol Evol* 7(20):8388–8405
- Schwartz MK, McKelvey KS (2009) Why sampling scheme matters: the effect of sampling scheme on landscape genetic results. *Conserv Genet* 10(2):441–452
- Schweizer RM, Robinson J, Harrigan R, Silva P, Galaverni M, Musiani M, Green RE, Novembre J, Wayne RK (2016) Targeted capture and resequencing of 1040 genes reveal environmentally driven functional variation in grey wolves. *Mol Ecol* 25(1):357–379
- Sparkman AM, Adams JR, Steury TD, Waits LP, Murray DL (2011) Direct fitness benefits of delayed dispersal in the cooperatively breeding red wolf (*Canis rufus*). *Behav Ecol* 22(1):199–205
- Stansbury CR, Ausband DE, Zager P, Mack CM, Miller CR, Pennell MW, Waits LP (2014) A long-term population monitoring approach for a wide-ranging carnivore: noninvasive genetic sampling of Gray Wolf rendezvous sites in Idaho, USA. *J Wildl Manag* 78(6):1040–1049
- Stenglein JL, Waits LP, Ausband DE, Zager P, Mack CM (2010) Efficient, noninvasive genetic sampling for monitoring reintroduced wolves. *J Wildl Manag* 74(5):1050–1058
- Stronen AV, Forbes GJ, Paquet PC, Goulet G, Sallows T, Musiani M (2012) Dispersal in a plain landscape: short-distance genetic differentiation in Southwestern Manitoba wolves, Canada. *Conserv Genet* 13(2):359–371
- Stronen AV, Jędrzejewska B, Pertoldi C, Demontis D, Randi E, Niedziałkowska M, Borowik T, Sidorovich VE, Kusak J, Kojola

- Orsini L, Vanoverbeke J, Swillen I, Mergeay J, De Meester L (2013) Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. *Mol Ecol* 22(24):5983–5999
- Ostrander EA, Wayne RK, Freedman AH, Davis BW (2017) Demographic history, selection and functional diversity of the canine genome. *Nat Rev Genet* 18:705–720
- Pilot M, Jędrzejewski W, Sidorovich VE, Meier-Augenstein W, Hoelzel AR (2012) Dietary differentiation and the evolution of population genetic structure in a highly mobile carnivore. *PLOS ONE* 7(6):e39341
- Pilot M, Jędrzejewski W, Branicki W, Sidorovich VE, Jędrzejewska B, Stachura K, Funk SM (2006) Ecological factors influence population genetic structure of European grey wolves. *Mol Ecol* 15(14):4533–4553
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2):945–959
- distinct population segment and to revise the list of endangered and threatened wildlife. *Fed Reg* 76:25590–25592
- U.S. Fish and Wildlife Service (2017) Endangered and threatened wildlife and plants; reinstatement of removal of federal protections for Gray wolves in Wyoming. *Fed Reg* 82(82):20284–20285
- U.S. Fish and Wildlife Service (2023) Species Status Assessment for the Gray Wolf (*Canis lupus*) in the Western United States. Version 1.2. Lakewood, Colorado, p 362
- U.S. Fish and Wildlife Service, Nez Perce Tribe, National Parks Service, Montana Fish, Wildlife & Parks, Blackfeet Nation, Confederated Salish and Kootenai Tribes, Idaho Fish and Game, & USDA Wildlife Services (2010) Rocky Mountain Wolf Recovery 2009 Interagency Annual Report
- U.S. Fish & Wildlife Service, Nez Perce Tribe, National Park Service, Montana Fish, Wildlife & Parks, Idaho Fish and Game, and USDA Wildlife Services (2007) Rocky Mountain Wolf Recovery 2006 Annual Report (eds CA Sime, EE Bangs). USFWS, Ecological Services, Helena, Montana
- I, Karamanlidis AA, Ozolins J, Dumenko V, Czarnomska SD (2015) Genome-wide analyses suggest parallel selection for universal traits May eclipse local environmental selection in a highly mobile carnivore. *Ecol Evol* 5(19):4410–4425
- Stronen AV, Jędrzejewska B, Pertoldi C, Demontis D, Randi E, Niedziałkowska M, Pilot M, Sidorovich VE, Dykyy I, Kusak J, Tsingarska E, Kojola I, Karamanlidis AA, Ornicans A, Lobkov VA, Dumenko V, Czarnomska SD (2013) North-south differentiation and a region of high diversity in European wolves (*Canis lupus*). *PLOS ONE* 8(10):e76454
- U.S. Fish and Wildlife Service (1994) Montana Interagency Working Group 1994 Annual Report. USFWS, Ecological Services
- U.S. Fish and Wildlife Service (2009) Endangered and threatened wildlife and plants; final rule to identify the Northern Rocky mountain population of Gray Wolf as a distinct population segment and to revise the list of endangered and threatened wildlife. *Fed Reg* 74(63):15123–15188
- U.S. Fish and Wildlife Service (2011) Reissuance of final rule to identify the Northern Rocky mountain population of Gray Wolf as a
- vonHoldt BM, Stahler DR, Bangs EE, Smith DW, Jimenez MD, Mack CM, Niemeyer CC, Pollinger JP, Wayne RK (2010) A novel assessment of population structure and gene flow in grey Wolf populations of the Northern Rocky mountains of the united States. *Mol Ecol* 19(20):4412–4427
- vonHoldt BM, Stahler DR, Brzeski KE, Musiani M, Peterson R, Phillips M, Stephenson J, Laudon K, Meredith E, Vucetich JA, Leonard JA, Wayne RK (2024) Demographic history shapes North American gray wolf genomic diversity and informs species' conservation. *Mol Ecol* 33(3):e17231
- vonHoldt BM, Stahler DR, Smith DW, Earl DA, Pollinger JP, Wayne RK (2008) The genealogy and genetic viability of reintroduced Yellowstone grey wolves. *Mol Ecol* 17(1):252–274
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating f-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6):1358–1370

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.