Métissage entre loups et chiens chez les loups Mongols issus d'une population protégée

Mammalian Biology
https://doi.org/10.1007/s42991-026-00629-9

ORIGINAL ARTICLE

Wolf-dog admixture in Mongolian wolves from a protected population

Petr Matějů[1] · Uuganbayar Ganbold[2,3] · Ema Cetkovská[1] · Narangerel Naranpurev[4] · Oyuntsetseg Dashzeveg[5] · Enkhchimeg Vanjildorj[6] · Battogtokh Nasanbat[1,7] · Miroslav Mulko[1] · Alžběta Báčová[1] · Lucie Baránková[8] · Pavel Hulva[8] · Barbora Černá Bolfíková[1]

Received: 18 March 2026 / Accepted: 24 September 2026
© The Author(s) under exclusive licence to Deutsche Gesellschaft für Säugetierkunde 2026

Résumé

En Mongolie, les loups gris (*Canis lupus*) occupent des paysages vastes et hétérogènes, mais sur une grande partie du territoire, ils sont de plus en plus exposés à l'exploitation pastorale, à des densités élevées de bétail, à la présence généralisée de chiens de berger en liberté et à des chasses légalement autorisées en dehors des zones protégées. Ces pressions peuvent influencer la génétique des populations de loups et leurs interactions avec les chiens domestiques, mais les données génétiques provenant de Mongolie restent rares. Dans cette étude, nous avons utilisé des séquences d'ADN mitochondrial et des marqueurs microsatellites autosomiques pour évaluer la classification taxonomique, la variation génétique et le flux génétique récent entre loups et chiens chez les loups Mongols, en nous concentrant sur une population du parc national de Hustai. Les analyses mitochondriales ont révélé **six haplotypes** de loups appartenant à **deux haplogroupes** Eurasiens majeurs, dont deux variantes non décrites auparavant, tous regroupés au sein de la lignée holarctique du loup gris. Les données microsatellites ont indiqué une diversité génétique **modérée** et un niveau global de consanguinité **faible**, comparables à ceux d'autres grandes populations de loups Eurasiens. **Cependant**, nos analyses ont détecté un métissage loup-chien, indiquant une hybridation **récente** limitée avec des chiens domestiques. Bien que l'hybridation se soit produite à faible fréquence, de tels événements sont compatibles avec les conditions écologiques précédemment associées à un contact accru entre loups et chiens. Les marqueurs microsatellites détectant principalement le métissage **récent**, les hybrides observés représentent probablement une estimation minimale. Dans l'ensemble, nos résultats indiquent que le flux génétique entre loups et chiens pourrait constituer un risque génétique potentiel pour les loups de Mongolie, y compris au sein des populations protégées, ce qui souligne l'importance de contrôler les chiens en liberté et de limiter les pratiques de gestion qui perturbent la structure sociale des loups.

Mots-clés : *Canis lupus*, Chiens en liberté, Parc national de Hustai, Hybridation, Microsatellites

INTRODUCTION

Le loup gris (*Canis lupus*) est un grand canidé présent dans tout l'hémisphère nord, qui joue un rôle crucial en tant que prédateur apical dans les écosystèmes naturels (Mech et Boitani 2003). À l'instar d'autres grands carnivores, il est très sensible à l'influence humaine (Woodrofie 2000 ; Ripple et al. 2014 ; Hindrikson et al. 2017 ; Wolf et Ripple 2017), notamment à la chasse, à la dégradation et à la fragmentation anthropiques de son habitat, ainsi qu'à la diminution de la disponibilité des proies due à l'activité humaine (Ripple et al. 2014). Bien que la tendance au déclin des populations ait été en grande partie enrayée ou inversée en Europe (Chapron et al. 2014 ; Di Bernardi et al. 2025) et en Amérique du Nord (Ripple et al. 2014), les populations de loups d'Asie sont restées jusqu'à récemment relativement peu étudiées, bien qu'elles occupent une grande partie de l'aire de répartition mondiale de l'espèce. Des analyses génomiques récentes démontrent toutefois que l'Asie abrite la plus grande diversité évolutive de loups, comprenant de multiples lignées profondément divergentes et des schémas complexes de **métissage historique** (Hennelly et al. 2025).

La Mongolie représente une région où de multiples hypothèses taxonomiques ont été proposées au fil de l'histoire, notamment la présence du loup holarctique prédominant (*C. lupus lupus*), du loup de l'Himalaya (*C. lupus chanco*) ou de populations dont l'appartenance est incertaine. **De plus**, certaines publications ont évoqué la présence du loup des steppes (*C. lupus campestris*) en Mongolie, bien que son statut taxonomique reste indéfini (Kazimirov et al. 2022). **Toutefois**, aucun consensus n'a été atteint concernant la taxonomie des loups en Asie centrale, et la pertinence de ces classifications en matière de conservation reste incertaine (Joshi et al. 2020 ; Krofel et al. 2022). Des analyses phylogénomiques récentes indiquent que les loups de Mongolie appartiennent à la **lignée holarctique** du loup gris, mais partagent également une ascendance importante avec des populations d'Asie orientale influencées par un métissage avec des loups apparentés aux loups Tibétains, ce qui suggère une histoire de flux génétique ancien et largement répandu à l'échelle régionale entre les lignées de loups plutôt que des unités taxonomiques clairement délimitées (Hennelly et al. 2025).

En Mongolie, les loups sont des prédateurs dominants et restent largement répandus à travers le pays, avec des estimations de la taille de la population oscillant entre 10 000 et 30 000 individus (Mech et Boitani 2003 ; Clark et al. 2006). **Cependant**, ces chiffres reposent sur des estimations approximatives, et les informations détaillées sur l'état des populations, leurs tendances et leur structure spatiale font encore largement défaut. Les loups de Mongolie ont peut-être été partiellement épargnés par les conséquences négatives des activités humaines dans le passé, car les effets anthropiques sur les grands carnivores dépendent de la densité de la population humaine (Wolf et Ripple 2017). La Mongolie est un vaste pays d'une superficie de 1,564 million de km² et figure parmi les pays les moins densément peuplés au monde, avec environ 2,14 habitants par kilomètre carré. **Cependant**, l'augmentation constante de la population humaine et son empiétement sur l'aire de répartition naturelle du loup pourraient constituer des menaces croissantes pour la population de loups. Les loups sont menacés par la chasse (Clark et al. 2006 ; Wingard et Zahler 2006 ; Kaczensky et al. 2008), par les barrières artificielles entravant le flux génétique, telles que la ligne ferroviaire Oulan-Bator-Pékin ou la clôture à la frontière Mongolo-Chinoise (Ito et al. 2005, 2013 ; Kaczensky et al. 2011), ainsi que par l'expansion rapide du cheptel domestique au cours des

trente dernières années (Gankhuyag et al. 2021). Bien que l'ampleur du déclin de la population de loups ne soit pas quantifiée, les estimations fondées sur l'abondance des proies sauvages laissent entrevoir un déclin potentiellement marqué (Gankhuyag et al. 2021). La chasse au loup en dehors des parcs naturels ou des zones strictement protégées est légale, car les loups ne figurent pas sur la liste des « animaux très rares » établie par la loi Mongole sur les zones spécialement protégées (Grand Khural d'État de Mongolie, 1994) et la loi Mongole sur les animaux (Grand Khural d'État de Mongolie, 2012).

Le contact étroit entre les loups et les chiens domestiques appartenant aux éleveurs de bétail constitue un autre facteur potentiel d'hybridation entre loups et chiens (Donfrancesco et al. 2019 ; Dziech 2021). Bien que l'hybridation entre loups et chiens ait été principalement étudiée en Europe (Pilot et al. 2018 ; Salvatori et al. 2019 ; Dziech 2021), sa prévalence devrait être plus importante dans les zones pastorales (Kopaliani et al. 2014 ; Mallil et al. 2020). En Mongolie, la présence d'un grand nombre de chiens Bankhar en liberté, utilisés pour la garde du bétail (Buuveibaatar et al. 2009 ; Kolesnikov et al. 2009 ; Young et al. 2011) en liberté pourrait accroître les possibilités d'hybridation, ce qui constitue une menace potentielle pour l'intégrité génétique des populations de loups sauvages. Parallèlement, des analyses récentes à l'échelle du génome indiquent que les chiens Bankhar, ainsi que certaines autres races de chiens de garde de bétail, pourraient porter des traces détectables d'ascendance lupine (Lin et al. 2025), ce dont il convient de tenir compte lors de l'interprétation des signaux de métissage. Malgré ce risque, les preuves génétiques d'un flux génétique entre loups et chiens en Mongolie restent rares, en particulier au sein des populations des aires protégées.

L'objectif de cette étude était d'évaluer la composition génétique des loups gris (*Canis lupus*) en Mongolie au regard de leur classification taxonomique et des processus génétiques au niveau des populations locales. À l'aide de marqueurs d'ADN mitochondrial et de microsatellites, nous avons d'abord cherché à déterminer si les loups Mongols présentaient des signatures génétiques compatibles avec les lignées divergentes ou sous-espèces précédemment proposées. Nous avons ensuite examiné les schémas génétiques à petite échelle au sein d'une population locale du parc national de Hustai, en évaluant la diversité génétique et la structure au niveau individuel. **Enfin**, nous avons recherché des preuves d'un flux génétique récent entre les loups et les chiens domestiques en identifiant des hybrides loup-chien potentiels, en accordant une attention particulière à la présence d'hybridation au sein d'une population échantillonnée dans une aire protégée.

MATERIEL et METHODES

Échantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé principalement dans le parc national de Hustai (HNP), situé dans les montagnes de Khustai (province de Töv), à environ 100 km à l'ouest d'Oulan-Bator, en Mongolie. Entre janvier 2020 et décembre 2021, les gardes forestiers du HNP ont collecté 129 échantillons de crottes présumées de loups. Afin d'élargir le contexte géographique, 14 échantillons de tissus de loups provenant de plusieurs provinces (Bayan-Ölgii, Khovd, Zavkhan, Arkhangai, Töv, Govistmber et Khentii ; Fig. 1) ont été obtenus auprès de l'Académie Mongole des sciences (Fig. 1). À titre de matériel de comparaison pour les analyses d'hybridation, six chiens domestiques de race Bankhar ont été échantillonnés en novembre 2021 dans la province de Töv à l'aide de prélèvements buccaux ($N = 5$) et d'un

échantillon de crottes (*N* = 1). Tous les échantillons ont été conservés dans de l'éthanol à 96% et stockés à −20°C jusqu'à leur traitement.

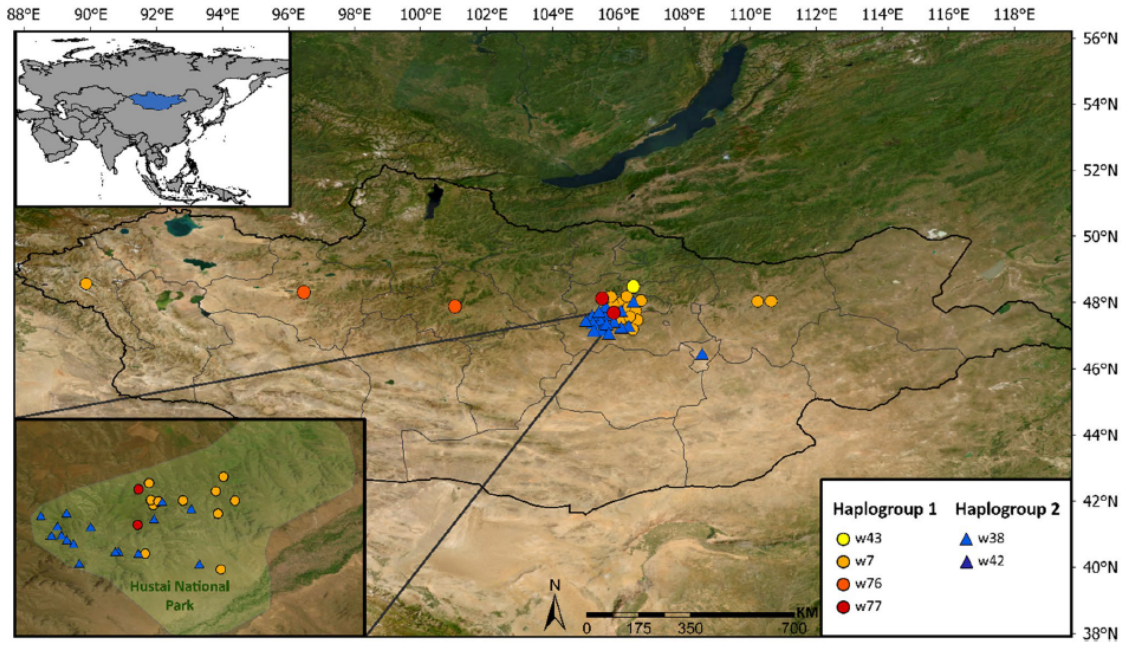


Fig. 1. Origines géographiques des échantillons de loups. Les cercles représentent les haplotypes appartenant à l'haplogroupe 1, et les triangles ceux appartenant à l'haplogroupe 2, selon la classification de Pilot et al. (2010)

Tous les échantillons utilisés dans cette étude ont été obtenus et transportés conformément aux autorisations d'exportation et d'importation requises, notamment un certificat sanitaire délivré par l'Agence générale d'inspection spécialisée (n° 01020013), un permis CITES (n° 22/8228) et un permis vétérinaire d'importation (n° 22360335). Le laboratoire est agréé pour le stockage et l'utilisation de matériel d'origine animale (n° CZ 11712934) conformément à l'article 48, paragraphe 1, point i), de la loi n° 166/1999 Coll. relative aux soins vétérinaires (telle que modifiée), conformément à l'article 17, paragraphe 1, du règlement (CE) n° 1069/2009 du Parlement européen et du Conseil et à l'article 27, paragraphe 1, du règlement (UE) n° 142/2011 de la Commission.

Analyses en laboratoire

L'ADN a été extrait d'échantillons de tissus et de prélèvements buccaux à l'Université nationale de Mongolie (Oulan-Bator) à l'aide, respectivement, du kit Tissue Genomic DNA Mini Kit (Qiagen) et du kit Presto™M Buccal Swab DNA Extraction Kit (Geneaid). Les échantillons de fèces ont été acheminés vers l'Université Tchèque des sciences de la vie (Prague) et l'ADN a été extrait à l'aide du kit QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen). Toutes les procédures pré-PCR relatives aux échantillons de fèces (extraction et préparation de la PCR) ont été réalisées dans un laboratoire propre dédié, physiquement séparé des travaux post-PCR, avec un flux de travail unidirectionnel, des embouts filtrants résistants aux aérosols et une décontamination systématique des surfaces et des équipements. Pour chaque lot d'extraction, un contrôle d'extraction négatif (sans ajout de matériel biologique) a été traité en parallèle afin de surveiller toute contamination potentielle.

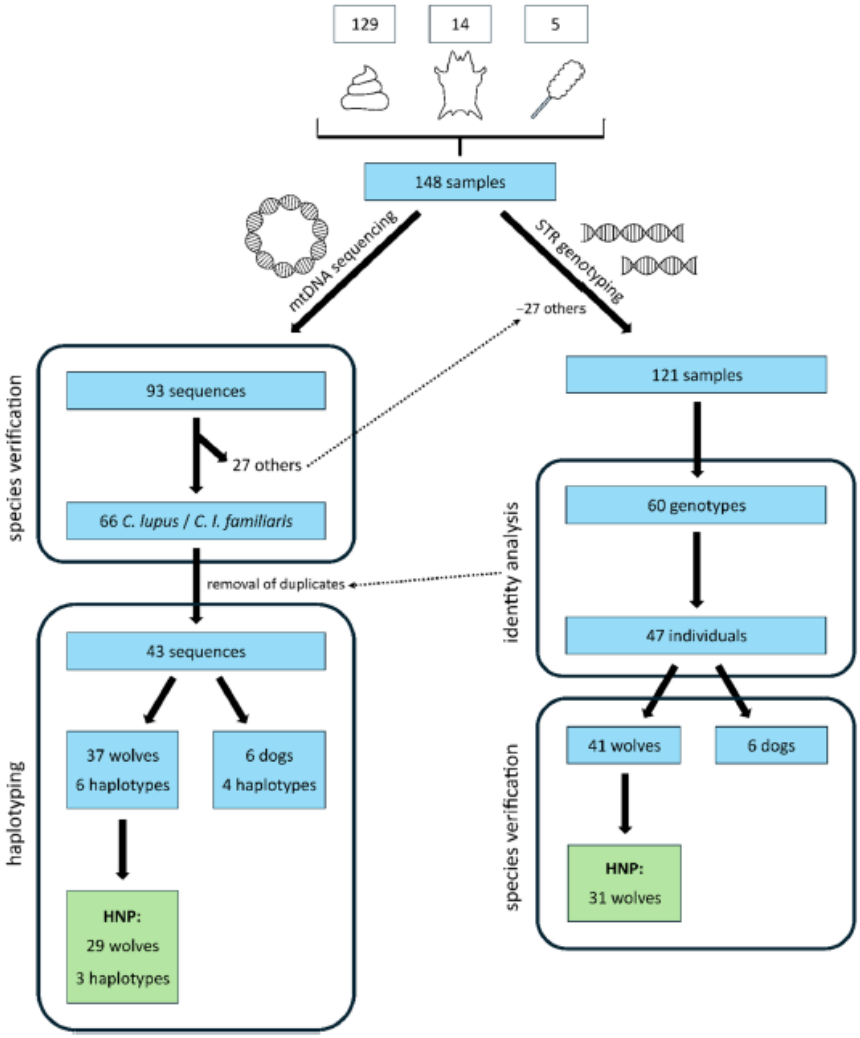


Fig. 2. Déroulement des analyses des échantillons présumés de loups. La branche de gauche représente les analyses réalisées à partir de la boucle D de l'ADN mitochondrial, tandis que la branche de droite illustre les analyses effectuées à partir des 21 loci microsatellites autosomiques. Les encadrés verts indiquent uniquement les individus provenant du parc national de Hustai (HNP)

Le cadre analytique est illustré à la Figure 2. Afin de confirmer l'identité des espèces et d'évaluer la variation de la lignée maternelle, la région de contrôle de l'ADN mitochondrial (boucle D) a été amplifiée et séquencée selon la méthode de Vilà et al. (1999). Le séquençage a été réalisé sur un analyseur génétique ABI 3500 (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific).

Pour les analyses en aval, un génotypage par microsatellites a été tenté pour tous les échantillons Mongols n'ayant pas été exclus comme n'appartenant pas à *C. lupus* sur la base des séquences de la boucle D. Nous avons amplifié un panel de 21 loci microsatellites autosomiques et le locus de l'amélogénine déterminant le sexe, selon la méthode de Hulva et al. (2024). Les échantillons de tissus et de frottis buccaux ont été amplifiés au moins deux fois, tandis que les échantillons de crottes ont été répliqués au moins quatre fois par PCR multiplexe afin de minimiser les erreurs de génotypage telles que la perte d'allèles et les faux allèles. L'analyse des fragments a été réalisée sur un analyseur génétique ABI 3130xl (Applied Biosystems). Les tailles des allèles ont été déterminées par rapport à l'étalon de taille interne GeneScan 500 LIZ (Thermo Fisher Scientific).

Analyses bio-informatiques

Les données de séquences ont été inspectées, alignées et éditées dans Geneious Prime 2023.1 (Kearse et al. 2012). Les haplotypes du loup et du chien de Bankhar ont été combinés avec 75 haplotypes de *C. lupus* rapportés par Pilot et al. (2010), ainsi qu'avec 10 haplotypes de loups indiens et himalayens (Tableau S1 de la ressource en ligne 1). Les alignements ont été raccourcis à 232 pb afin de correspondre à la longueur maximale de séquence partagée. À la suite de ce raccourcissement, plusieurs haplotypes de GenBank sont devenus identiques (w13 = w26 et w67 = w70). Les séquences ont été attribuées à des haplotypes dans DnaSP 6.12.03 (Rozas et al. 2017). Un réseau d'haplotypes a été reconstruit à l'aide de la parcimonie statistique (TCS ; Templeton et al. 1992) mise en œuvre dans TCS 1.21 (Clement et al. 2000), et les résultats ont été traités et codés par couleur dans tosBU (Murias dos Santos et al. 2016).

Les **génotypes** ont été compilés à partir des différentes réplicats de PCR à l'aide d'une approche à tubes multiples. Les allèles n'ont été acceptés que s'ils étaient observés dans au moins deux amplifications indépendantes. Pour les échantillons de crottes (24 réplicats), chaque allèle devait être détecté dans au moins deux réactions pour être pris en compte. Pour les échantillons de tissus et de frottis buccaux (2 réplicats), les génotypes homozygotes n'ont été acceptés que lorsque les deux réactions donnaient des profils à allèle unique concordants au niveau du locus. Les résultats contradictoires des réplicats qui ne répondaient pas à ces critères ont été considérés comme des données manquantes pour le locus concerné. Les individus présentant moins de 14 loci microsatellites amplifiés avec succès (à l'exclusion du locus amélogénine) ont été exclus des analyses en aval.

L'analyse **d'identité** a été réalisée dans CERVUS 3.0 (Kalinowski et al. 2007). Les génotypes ont été considérés comme identiques lorsqu'au moins huit loci correspondaient, en autorisant une correspondance approximative avec un maximum de deux discordances ; les génotypes bruts et les métadonnées associées ont ensuite été revérifiés avant de confirmer les recoupements. Les écarts par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg (HWE) ont été testés pour chaque locus dans GENEPOP 4.7.5 (Raymond et Rousset 1995 ; Rousset 2008), la significativité étant évaluée à l'aide de la correction de Bonferroni. La présence d'allèles nuls a été évaluée dans CERVUS 3.0 (Kalinowski et al. 2007). La diversité génétique des loups du parc national de Hustai a été résumée dans GenAlEx 6.5162 (Peakall et Smouse 2006, 2012) à l'aide du nombre moyen d'allèles (Na), du nombre effectif d'allèles (Ne), de l'hétérozygotie observée (Ho), de l'hétérozygotie attendue (He), du coefficient de consanguinité (FIS) et de l'indice de fixation (F).

La **structure** de la population a été étudiée à l'aide d'un regroupement bayésien dans STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) selon un modèle de métissage avec des fréquences alléliques corrélées. À des fins de visualisation, les échantillons de loups ont été représentés graphiquement en fonction de leur origine géographique le long d'un gradient ouest-est. Les échantillons de chiens de Mongolie ($N = 6$) ont été complétés par des génotypes de référence provenant de races de chiens européens ($N = 11$) issus de l'étude de Hulva et al. (2024). Deux ensembles de données STRUCTURE ont été analysés : (**i**) les loups Mongols associés aux chiens mongols et européens, et (**ii**) les loups du HNP uniquement. Le nombre de clusters (K) a été testé de K = 1 à 7 pour l'ensemble de données (1) et de K = 1 à 5 pour l'ensemble de données (11). Chaque exécution comprenait une phase de burn-in de 105 itérations suivie de 9 × 105 itérations MCMC, avec trois réplications indépendantes par

valeur de K. La valeur de K la plus probable a été déduite à l'aide de la méthode AK (Evanno et al. 2005) et de l'approche de Puechmaille (2016), cette dernière tenant compte d'un échantillonnage inégal entre les groupes. Les résultats ont été visualisés à l'aide de STRUCTURE Selector (Li et Liu 2018). Les distances génétiques entre les loups de Mongolie, les chiens Bankhar et les chiens Européens ont été visualisées à l'aide d'une analyse en coordonnées principales (PCoA) dans GenAlEx 6.51b2 (Peakall et Smouse 2006, 2012).

Afin d'évaluer la capacité du panel de microsatellites à distinguer les différentes classes d'hybrides, des génotypes simulés ont été générés dans HybridLab 1.0 (Nielsen et al. 2006) à partir de génotypes empiriques de loups (*N* = 16) et de chiens (N = 16) utilisés comme populations parentales, selon une approche similaire à celle de Caniglia et al. (2020). L'ensemble de données simulées comprenait 100 génotypes simulés pour chacune des catégories suivantes : loups et chiens parentaux, hybrides F1, hybrides F2, rétrocroisements de première génération avec des loups (BC1W) et des chiens (BC1D), et rétrocroisements de deuxième génération (BC2W, BC2D). Les génotypes simulés ont ensuite été analysés à l'aide de STRUCTURE et de NewHybrids avec les mêmes paramètres que pour l'ensemble de données empiriques, en utilisant l'ensemble complet des données (Fig. S2 de la ressource en ligne 1), ainsi qu'un sous-ensemble de 6 classes : loups parentaux, chiens parentaux, hybrides F1, hybrides F2, BC1W, BC1D ; Fig. S3 de la ressource en ligne 1). Les résultats de la simulation utilisant les huit classes (Fig. S2 de la ressource en ligne 1) ayant indiqué que les rétrocroisements de deuxième génération ne pouvaient pas être distingués de manière fiable des autres classes, l'analyse ultérieure des données empiriques dans NewHybrids 1.1 (Anderson et Thompson 2002) a été limitée à six catégories : loups parentaux, chiens parentaux, hybrides F1, hybrides F2 et rétrocroisements de première génération vers les loups et les chiens.

Les analyses **d'hybridation** pour l'ensemble de données (**i**) ont ensuite été réalisées dans NewHybrids 1.1 (Anderson et Thompson 2002). NewHybrids a été exécuté sans information préalable sur les fréquences alléliques ni sur le statut hybride de chaque individu, en utilisant des a priori de type Jeffreys tant pour les fréquences alléliques que pour les proportions de mélange, avec une période de rodage de 100 000 itérations suivie de 1 000 000 d'itérations MCMC. Les individus ont été classés dans les catégories parentales (loup, chien et hybrides F1, F2 et rétrocroisements de première génération) sur la base d'estimations de probabilité a posteriori.

RESULTATS

L'amplification de la région de contrôle de l'ADN mitochondrial (boucle D) a été réussie pour 93 échantillons (62,4%). Parmi celles-ci, 27 (29,0%) ont été identifiées comme appartenant à des espèces autres que *Canis lupus* et ont été exclues des analyses ultérieures. Sur les 27 échantillons exclus après le criblage de l'ADNmt, 17 ont été identifiés comme provenant du renard roux (*Vulpes vulpes*), huit du renard corsac (*Vulpes corsac*), un du chat domestique (*Felis catus*) et un du blaireau d'Asie (*Meles leucurus*). **Aucune** des séquences de *C. lupus* ne correspondait aux lignées généralement attribuées au loup de l'Himalaya (*C. lupus chanco*). Après avoir supprimé les échantillons en double provenant du même individu sur la base d'une analyse d'identité par microsatellites, l'ensemble de données final d'ADNmt

comprenait 43 séquences, dont 37 provenant de loups de Mongolie et six de chiens de Mongolie.

Au sein de l'ensemble de données final d'ADNmt, **dix haplotypes mitochondriaux** ont été identifiés : **six chez les loups** de Mongolie et quatre chez les chiens de Mongolie. Les haplotypes des loups ont été nommés selon la nomenclature établie par Pilot et al. (2010). Aucun haplotype n'était commun entre les loups et les chiens échantillonnés dans cette étude, bien que certains haplotypes canins correspondaient à des haplotypes de loups précédemment rapportés par Pilot et al. (2010). Quatre des six haplotypes de loups étaient identiques aux haplotypes w7, w38, w42 et w43 précédemment rapportés (Pilot et al. 2010 ; Fig. 3). Les deux autres haplotypes de loups, désignés w76 et w77 (numéros d'accès GenBank : PX963139, PX963140), n'ont pas été signalés dans Pilot et al. (2010) ni dans d'autres études publiées. Ces deux haplotypes nouvellement identifiés ont été détectés chez des individus mâles, comme l'a permis de déduire la détermination du sexe par microsatellites. Quatre haplotypes de loup (w7, w43, w76, w77) ont été classés dans **l'haplogroupe 1** au sens de Pilot et al. (2010), tandis que les deux autres (w38, w42) appartenaient à **l'haplogroupe 2** (Fig. 3).

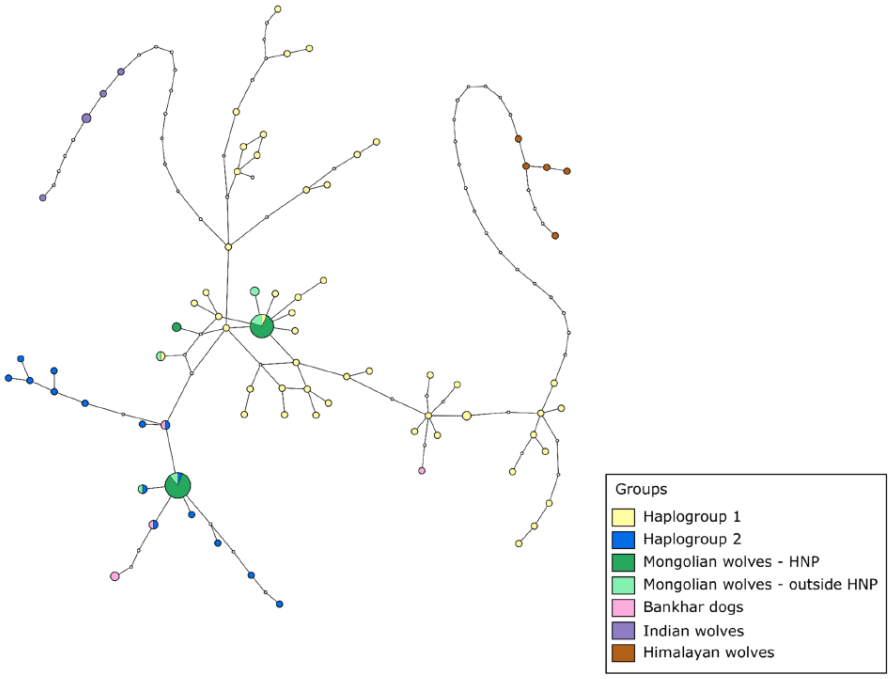


Fig. 3. Réseau d'haplotypes du TCS basé sur les séquences de la boucle D mitochondriale. Les cercles représentent les haplotypes et leur taille est proportionnelle à la fréquence de l'haplotype. Les petits cercles indiquent les étapes de mutation entre les haplotypes. La désignation des haplogroupes suit celle de Pilot et al. (2010)

Parmi les échantillons de loups prélevés dans le HNP, trois haplotypes d'ADN mitochondrial ont été détectés. La plupart des séquences du HNP ($n = 27$) ont été attribuées aux haplotypes w7 ou w38, tandis que les deux séquences restantes partageaient l'haplotype w77. Les échantillons prélevés en dehors du HNP (échantillons tissulaires provenant de plusieurs provinces) ont révélé cinq haplotypes représentant les deux haplogroupes, notamment w7, w38, w42 et w43, ainsi que l'haplotype w76 récemment identifié (Fig. 3).

Un génotypage par microsatellites a été tenté sur 121 échantillons, comprenant des frottis buccaux (N = 5), des échantillons de tissus (N = 14) et des échantillons d'excréments (N = 102). Des génotypes multilocus ont été obtenus pour 60 échantillons (49,2%). Le taux de réussite du génotypage variait selon les types d'échantillons, allant de 40,2% pour les échantillons d'excréments à 100% pour les prélèvements buccaux et les échantillons de tissus. L'analyse d'identité CERVUS a permis de rattacher ces génotypes à 41 **individus** distincts, et les profils multilocus en double ont été supprimés. La détermination du sexe basée sur le locus de l'amélogénine a révélé un rapport des sexes en faveur des mâles (29 mâles, 10 femelles et 2 individus de sexe inconnu).

Chez les loups du HNP, le nombre d'allèles par locus variait de trois à onze, et les valeurs moyennes des paramètres génétiques descriptifs sont présentées dans le Tableau 1. Des allèles nuls (>20%) ont été détectés sur deux loci (REN169018 et INU055). Les statistiques descriptives ont donc été recalculées en excluant ces loci ; les estimations étaient très similaires à celles obtenues à partir de l'ensemble complet des données (résultats non présentés), à l'exception du FIS moyen qui est passé de 0,0581 à 0,035. Cette différence se situant dans les limites de l'erreur-type associée, les 21 loci ont été conservés pour les analyses ultérieures. Un déficit d'hétérozygotie statistiquement significatif a été détecté au niveau de six loci (FH2054, PEZ17, REN169018, FH2097, INU055 et REN64E19 ; Tableau S2 de la ressource en ligne 1). Dans l'ensemble, aucun écart significatif et constant par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg n'a été détecté au niveau de l'ensemble de données.

Tableau 1. Paramètres descriptifs de la variation génétique chez 31 loups du Parc national de Huangshan (HNP) dont le génotype a été déterminé à partir de 21 loci microsatellites

	N_a	N_e	F_{IS}	H_o	H_e	F
Mean	6.571	3.954	0.0581	0.693	0.724	0.045
SE	0.412	0.269	0.03	0.03	0.018	0.03

N_a - mean number of alleles, N_e - effective number of alleles, F_{IS} - inbreeding coefficient, H_o - observed heterozygosity, H_e - expected heterozygosity, F - fixation index

L'analyse en coordonnées principales (PCoA) basée sur les distances génétiques microsatellitaires a montré une séparation nette entre les chiens et les loups ; **cependant**, plusieurs loups se situaient plus près des chiens, et un chien Mongol se trouvait également décalé vers les loups dans l'espace multivarié (Fig. 4a). Dans STRUCTURE, le soutien le plus élevé basé sur ΔK a été obtenu pour K = 2, séparant les chiens (Mongols et Européens) des loups Mongols (Fig. 4b). À K = 3, une variation supplémentaire était apparente parmi les loups Mongols ; **cependant**, les groupes déduits ne correspondaient pas strictement à l'ordre ouest-est des échantillons. Plusieurs loups présentaient une attribution partielle au groupe des chiens, et un chien mongol présentait une faible attribution au groupe des loups (Fig. 4b, Fig. 5). Des analyses NewHybrids indépendantes ont systématiquement identifié les mêmes individus de loups comme présentant des signes de métissage loup-chien (Fig. 4c). **Plus précisément**, GW9 (province de Govistmber), GW12 (origine inconnue) et deux individus du HNP (GW129 et GW135) ont montré une attribution plus forte aux classes hybrides qu'à la classe parentale des loups. **De plus**, un chien Mongol a présenté une attribution ambiguë, avec un soutien réparti entre la classe parentale « chien » et plusieurs classes hybrides (F1, F2 et rétrocroisement avec un chien) (Fig. 4c).

Une analyse STRUCTURE distincte a été réalisée sur l'ensemble de données HNP (**ii**) (*N* = 31), incluant les individus du HNP qui présentaient des signes de métissage loup-chien dans NewHybrids. Le soutien le plus élevé basé sur ΔK a été observé pour K = 3, indiquant des schémas génétiques compatibles avec une sous-structure au sein de la population de loups HP (Fig. S1 dans la ressource en ligne 1). Les individus issus d'un métissage loup-chien n'ont pas formé de groupe distinct et n'ont présenté aucun schéma d'affectation cohérent se démarquant de celui des loups.

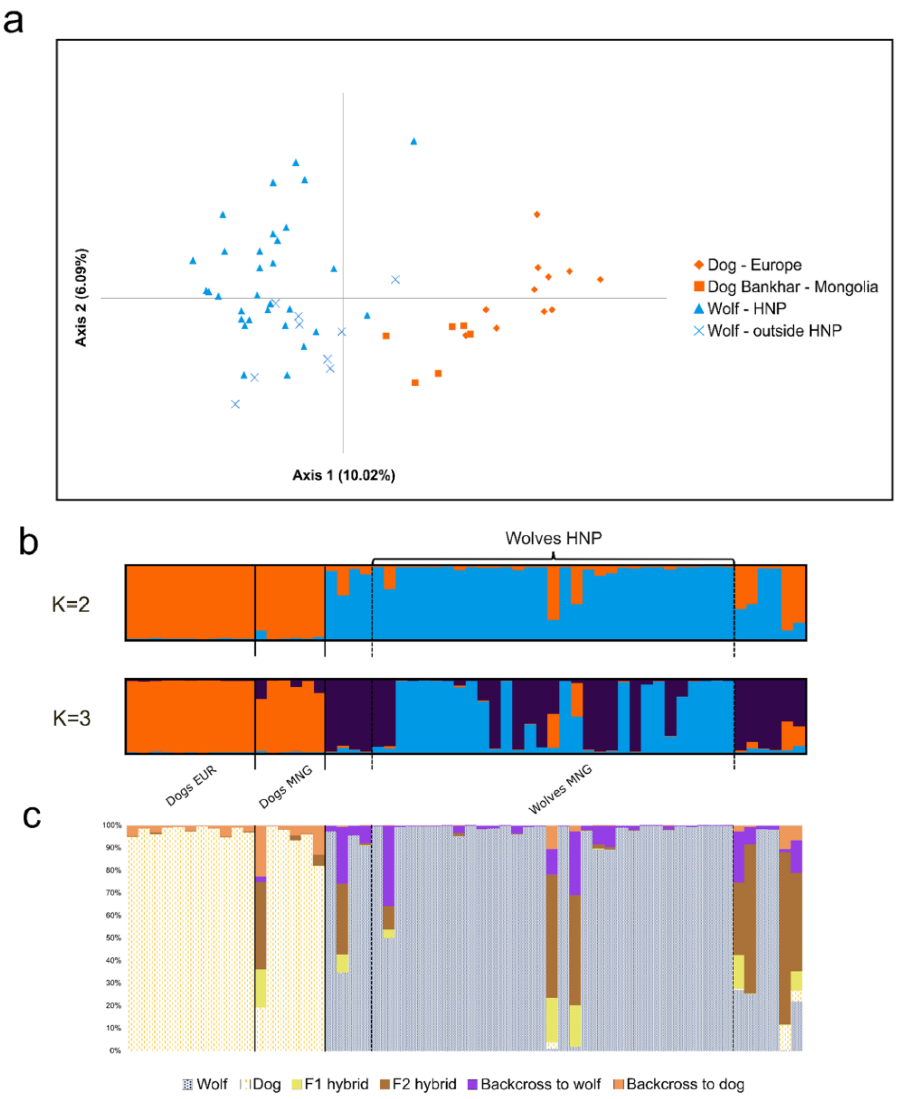


Fig. 4. Structure génétique et métissage loup-chien déduits à partir de données microsatellites. (**a**) Analyse en coordonnées principales (PCoA) basée sur les distances génétiques, montrant la séparation entre les loups et les chiens dans l'espace multivarié. (**b**) Analyse bayésienne de regroupement réalisée à l'aide du logiciel STRUCTURE sur l'ensemble de données (i), comprenant des chiens européens (Dogs EUR, n = 11), des chiens Bankhar de Mongolie (Dogs MNG, *n* = 6) et des loups de Mongolie (Wolves MNG, *n* = 41), les échantillons de loups étant disposés selon un gradient géographique ouest-est. Les crochets indiquent les 31 loups échantillonnés dans le parc national de Hustai (HNP), qui constituent un sous-ensemble des 41 loups Mongols. (**c**) Probabilités d'appartenance selon NewHybrids pour les mêmes individus présentés dans le même ordre que dans le panneau (**b**), classés en six classes généalogiques : loup parental, chien parental, hybride F1, hybride F2, rétrocroisement de première génération avec un loup et rétrocroisement de première génération avec un chien

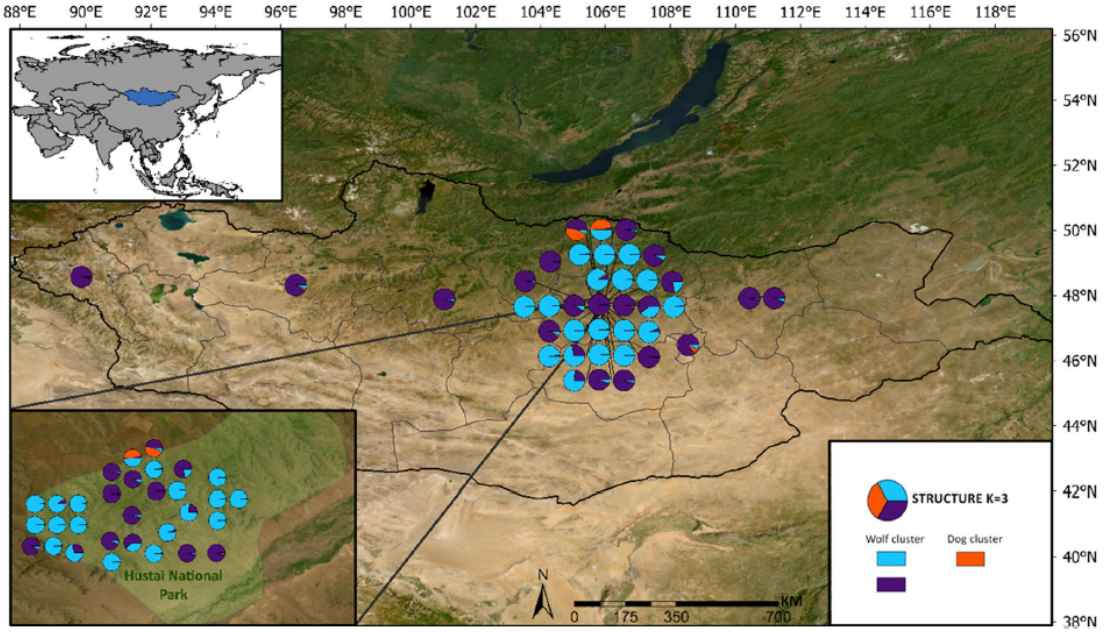


Fig. 5. Répartition spatiale de la structuration génétique chez les loups de Mongolie, déduite à l'aide de STRUCTURE pour l'ensemble de données (i). Chaque diagramme circulaire représente un individu, les segments étant proportionnels à ses coefficients d'appartenance aux trois groupes génétiques identifiés (K = 3). Les couleurs correspondent aux groupes génétiques identifiés par STRUCTURE

DISCUSSION

Notre étude comble une lacune majeure dans la génétique des populations des loups d'Asie en fournissant des données génétiques provenant de Mongolie, une région d'une grande importance écologique et évolutive qui est restée peu caractérisée malgré sa position centrale au sein de l'aire de répartition asiatique de l'espèce. Il est important de noter que l'intérêt de cet ensemble de données réside non seulement dans l'établissement d'une référence génétique pour les loups de Mongolie, mais aussi dans le fait qu'il démontre que le flux génétique entre loups et chiens peut être détecté au sein d'une population prélevée principalement dans une aire protégée et chez des loups ne présentant pas de signes marqués d'érosion génétique. Cette découverte est remarquable car l'hybridation entre loups et chiens est souvent évoquée dans le contexte de populations fortement réduites ou fragmentées, alors que nos résultats suggèrent que des risques génétiques peuvent également apparaître dans des populations qui semblent numériquement robustes lorsqu'elles sont exposées à une pression humaine persistante, à la présence de chiens en liberté et à des perturbations à l'échelle du paysage. **En ce sens**, le cas de la Mongolie constitue une étude de cas importante pour comprendre comment le risque d'hybridation peut survenir sous l'influence humaine contemporaine, même là où les loups sont encore largement répandus.

Contexte taxonomique des loups de Mongolie

Nos résultats mitochondriaux concordent avec des analyses récentes à l'échelle du génome indiquant que les loups de Mongolie appartiennent à la lignée plus large du loup gris holarctique et ne constituent pas une unité évolutive distincte (Hennelly et al. 2025). Conformément à ce cadre, nous n'avons pas détecté d'haplotypes mitochondriaux associés au loup de l'Himalaya (*Canis lupus chanco*), et toutes les séquences analysées se sont regroupées au sein des haplogroupes du loup gris **holarctique**. Ce résultat suggère que les lignées maternelles divergentes du loup de l'Himalaya ne sont pas répandues dans les régions

échantillonnées de Mongolie, bien que leur présence localisée dans des zones de contact non échantillonnées ne puisse être totalement exclue. **Toutefois**, les déductions taxonomiques fondées sur des marqueurs d'ADNmt doivent être interprétées avec prudence, car ces marqueurs n'offrent qu'une résolution limitée par rapport aux analyses du génome entier. Nos résultats ne constituent donc pas une réévaluation taxonomique indépendante, mais fournissent plutôt un soutien, basé sur des marqueurs, pour situer les loups Mongols échantillonnés au sein de la lignée plus large du loup gris holarctique.

Nous avons identifié **six haplotypes** de loup, dont deux variantes non décrites auparavant (w76, w77), et détecté des représentants à la fois de l'haplogroupe 1 et de l'haplogroupe 2, ce qui correspond aux schémas rapportés à travers l'Eurasie (Pilot et al. 2010). La présence de **nouveaux** haplotypes indique que la diversité mitochondriale en Mongolie n'a pas encore été entièrement échantillonnée, ce qui est prévisible compte tenu de la grande étendue géographique et de l'hétérogénéité écologique du pays. Les deux haplotypes nouvellement détectés ont été observés chez des mâles, une tendance qui reflète probablement des effets d'échantillonnage plutôt qu'une structure de lignée spécifique au sexe.

Diversité et structure génétiques

Les analyses microsatellitaires indiquent des niveaux modérés de diversité génétique chez les loups de Mongolie, avec des valeurs d'hétérozygotie comparables à celles rapportées pour d'autres populations Eurasiennes vivant dans le Caucase, le centre de la Russie et certaines parties de la Sibérie. **De même**, le coefficient de consanguinité était faible et s'inscrivait dans la fourchette observée chez d'autres grandes populations de loups (Pilot et al. 2014 ; Korable et al. 2021 ; Talala et al. 2020). Bien que ces paramètres suggèrent que les loups de Mongolie ne présentent actuellement pas de signes marqués d'érosion génétique, leur interprétation appelle à la prudence.

Premièrement, une introgression limitée provenant de chiens domestiques, détectée chez un petit nombre d'individus, pourrait localement surélever les estimations de la diversité génétique, ce qui risquerait de gonfler les valeurs d'hétérozygotie. **Deuxièmement**, le rapport des sexes asymétrique observé, avec une prédominance de mâles, pourrait refléter un renouvellement élevé dû à la pression de chasse en dehors des zones protégées, bien qu'un biais d'échantillonnage lié au prélèvement non invasif ne puisse être exclu. Dans ce contexte, le parc national de Hustai pourrait faire office de **refuge** relatif au sein d'un paysage géré, où l'immigration en provenance des zones environnantes soumises à une pression de chasse plus forte pourrait contribuer au maintien de la diversité génétique, comme cela a déjà été documenté chez les populations de loups de Mongolie, où les zones protégées fonctionnaient comme des refuges relatifs plutôt que comme des unités démographiquement fermées (Kaczensky et al. 2008). Ensemble, ces processus pourraient contribuer à maintenir une diversité génétique modérée malgré les pressions anthropiques persistantes, sans pour autant indiquer une stabilité démographique à une échelle spatiale plus large. Les analyses de la structure de population ont révélé des signes de **sous-structuration** au sein de la Mongolie, y compris au sein du parc national de Hustai. Ces schémas pourraient refléter une combinaison d'organisation spatiale naturelle, de structure des groupes familiaux, de liens de parenté entre les individus échantillonnés et de caractéristiques du paysage, plutôt que de fortes barrières au flux génétique. Compte tenu du plan d'échantillonnage inégal et de la prédominance d'échantillons non invasifs, ces résultats doivent être interprétés avec

prudence. Ils indiquent néanmoins qu'une structure génétique peut exister même au sein de paysages de steppe relativement continus et mérite d'être étudiée plus en détail.

Hybridation loup-chien

Cette étude a identifié **quatre** individus présentant une forte probabilité d'origine hybride récente entre le loup et le chien, avec des signaux concordants issus des analyses STRUCTURE et NewHybrids. Les approches basées sur les microsatellites sont bien adaptées à la détection d'événements d'hybridation récents, mais leur capacité à mettre en évidence des rétrocroisements plus anciens est moindre (Randi 2008 ; Randi et al. 2014) ; elles peuvent également être sensibles à une structure intraspécifique non représentée au sein des populations de loups, ce qui peut compliquer l'attribution des individus issus de populations mal échantillonnées (Harmoinen et al. 2021 ; Stronen et al. 2022). Le nombre limité d'individus métissés détectés ici pourrait donc sous-estimer une introgression plus ancienne, tandis que l'attribution des candidats individuels doit être interprétée dans le contexte des échantillons de référence disponibles de loups et de chiens Mongols.

Le **métissage** loup-chien détecté est vraisemblablement associé à des paysages modifiés par l'homme qui mettent les loups et les chiens domestiques en contact répété, tant sur le plan spatial que temporel. Les chiens de garde du bétail sont largement utilisés dans les systèmes pastoraux comme outil non létal pour réduire les prédations, mais ils restent souvent en liberté et, dans le cas des mâles, intacts sur le plan reproductif, ce qui peut involontairement multiplier les occasions de contact avec les loups (Lieb et al. 2021 ; Linnell et al. 1999 ; Van Bommel et Johnson 2012). Des études récentes menées en Mongolie fournissent des preuves écologiques directes de ces contacts, montrant que les loups coexistent avec des chiens en liberté, du bétail et l'activité humaine dans les zones de transition entre les espaces sauvages et urbains ainsi que dans les zones pastorales, y compris dans les zones adjacentes à Oulan-Bator (Dolphin et al. 2025). Dans cette étude, les loups coexistaient avec des chiens sur plusieurs sites et étaient plus abondants dans les zones où la présence de chiens était plus importante, ce qui indique que les rencontres entre loups et chiens en Mongolie semblent être récurrentes et associées à des paysages de plus en plus façonnés par la présence humaine.

Le flux génétique dans notre ensemble de données pourrait également être bidirectionnel plutôt que limité aux loups, puisqu'un chien Mongol de race Bankhar a montré une affinité génétique partielle avec un ancêtre loup, tant dans les analyses STRUCTURE que NewHybrids. Bien que ce schéma ne puisse être interprété comme une preuve définitive d'une ascendance lupine, il pourrait indiquer une introgression occasionnelle de gènes de loup dans la population canine domestique. Des retours de croisement similaires chez les chiens ont été signalés dans des régions comptant un grand nombre de chiens en liberté (Godinho et al. 2011 ; Salvatori et al. 2019). Cela suggère que le métissage en Mongolie pourrait ne pas se limiter aux seuls loups, bien que des ensembles de données plus importants sur les chiens soient nécessaires pour évaluer cette possibilité de manière plus rigoureuse. Les futures études menées en Mongolie devraient donc combiner des ensembles de données de référence plus vastes sur les chiens Bankhar locaux avec des marqueurs pangénomiques afin de distinguer l'hybridation récente entre loups et chiens des variations de fond plus anciennes au sein des lignées canines, et de mieux déterminer la direction et le moment du flux génétique.

La mortalité induite par l'homme pourrait favoriser davantage l'hybridation en perturbant la structure sociale des loups (Tironen et Kuznetsova 2025). Il a été démontré qu'une pression de chasse intensive perturbe la cohésion de la meute, réduit la disponibilité de partenaires de reproduction de la même espèce et augmente le renouvellement de la population, augmentant ainsi la probabilité d'accouplements interspécifiques (Mech 1999 ; Korablev et al. 2021 ; Tironen et Kuznetsova 2025). Ce mécanisme est probablement pertinent en Mongolie, où la chasse au loup reste légalement autorisée en dehors des zones protégées et peut déstabiliser l'organisation sociale même au sein de populations associées à des espaces protégés. Conformément à cette interprétation, Hindrikson et al. (2012) ont démontré que l'hybridation entre loups et chiens peut survenir même dans des populations par ailleurs étendues et génétiquement viables, ce qui indique que la **perturbation sociale**, plutôt que la seule petite taille de la population, peut suffire à faciliter les accouplements interspécifiques.

Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent que l'hybridation entre loups et chiens en Mongolie n'est probablement pas entièrement fortuite et pourrait être favorisée par des conditions dans lesquelles les activités humaines augmentent les contacts entre loups et chiens tout en perturbant l'organisation sociale des loups. Bien qu'un nombre limité d'hybrides ait été détecté, leur présence indique que les barrières reproductives entre loups et chiens peuvent être franchies dans le contexte actuel de présence canine et de chasse au loup. Dans ce contexte, l'hybridation observée doit être interprétée comme un signal méritant une attention particulière plutôt que comme une anomalie négligeable.

Plusieurs limites doivent être prises en compte lors de l'interprétation de ces résultats. L'échantillonnage en dehors du HNP était géographiquement clairsemé, et l'ensemble de référence disponible pour les chiens de Bankhar était restreint, ce qui a limité notre capacité à caractériser l'étendue complète de la structure de la population de loups et de la variation génétique des chiens à travers la Mongolie. **De plus**, le panel de microsatellites utilisé ici offre une résolution nettement supérieure pour les mélanges récents par rapport aux mélanges plus anciens. Un échantillonnage plus large des loups du HNP et des populations adjacentes, associé à des ensembles de données de référence plus importants sur les chiens locaux et à des données complémentaires sur les SNPs informatives sur l'ascendance ou à l'échelle du génome, sera donc essentiel pour affiner les estimations de la **prévalence**, de la répartition géographique et du moment du flux génétique entre loups et chiens en Mongolie.

Implications pour la conservation

Malgré ces limites, la détection d'un métissage récent entre loups et chiens au sein d'une population échantillonnée principalement dans une aire protégée met en évidence les risques génétiques potentiels associés à la pression humaine croissante sur les loups de Mongolie. L'utilisation extensive des terres à des fins pastorales, la présence généralisée de chiens en liberté et de chiens de garde du bétail, ainsi que la chasse légalement autorisée en dehors des aires protégées, peuvent, ensemble, créer des conditions qui augmentent la probabilité de contacts entre loups et chiens et pourraient contribuer à perturber la structure des meutes de loups. La détection d'hybrides loup-chien, même à faible fréquence, suggère que l'introgression peut se produire dans les conditions actuelles. Si ces conditions persistent ou s'intensifient, l'hybridation pourrait devenir plus fréquente, en particulier dans les régions où l'organisation sociale des loups est régulièrement perturbée et où les contacts avec les chiens

sont nombreux. À long terme, cela pourrait affecter l'intégrité génétique et le potentiel d'adaptation des loups de Mongolie, même en l'absence de déclins démographiques à grande échelle.

Les stratégies de conservation des loups en Mongolie devraient donc aller au-delà de simples évaluations de la taille et de la répartition des populations et prendre explicitement en compte les processus génétiques, y compris le risque d'hybridation. Des mesures visant à réduire les interactions incontrôlées entre loups et chiens, telles qu'une meilleure gestion des chiens en liberté et la limitation des possibilités de croisement, pourraient contribuer à réduire la probabilité d'une introgression supplémentaire.

References

Anderson EC, Thompson EA (2002) A model-based method for identifying species hybrids using multilocus genetic data. Genetics 160:1217–1229. https://doi.org/10.1093/genetics/160.3.1217

Buuveibaatar B, Young JK (2009) Mongolian Saiga in Sharga Nature Reserve: are domestic dogs a threat to Saiga? Saiga News 9:15–16. https://doi.org/10.22353/mjbs.2009.07.06

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. Sci Rep 10:2862. https://doi.org/10.1038/s41598-020-59521-2

Chapron G, Kaczensky P, Linnell JDC, von Arx M, Huber D, Andrén H, López-Bao JV, Adamec M, Álvares F, Anders O, Balečiauskas L, Balys V, Bedõ P, Bego F, Blanco JC, Breitenmoser U, Brøseth H, Bufka L, Bunikyte R, Ciucci P, Dutsov A, Engleder T, Fuxjäger C, Groff C, Holmala K, Hoxha B, Iliopoulos Y, Ionescu O, Jeremić J, Jerina K, Kluth G, Knauer F, Kojola I, Kos I, Krofel M, Kubala J, Kunovac S, Kusak J, Kutal M, Liberg O, Majić A, Männil P, Manz R, Marboutin E, Marucco F, Melovski D, Mersini K, Mertzanis Y, Myslajek RW, Nowak S, Odden J, Ozolins J, Palomero G, Paunović M, Persson J, Potočnik H, Quenette PY, Rauer G, Reinhardt I, Rigg R, Ryser A, Salvatori V, Skrbinšek T, Stojanov A, Swenson JE, Szemethy L, Trajçe A, Tsingarska-Sedefcheva E, Váňa M, Veeroja R, Wabakken P, Wölfl M, Wölfl S, Zimmermann F, Zlatanova D, Boitani L (2014) Recovery of large carnivores in Europe's modern human-dominated landscapes. Science 346:1517–1519. https://doi.org/10.1126/science.1257553

Clark EL, Javzansuren M (2006) Mongolian red list of mammals, 1st edn. Zool Soc Lond, London

Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Mol Ecol 9:1657–1659. https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.01020.x

Di Bernardi C, Chapron G, Kaczensky P, Álvares F, Andrén H, Balys V, Blanco JC, Chiriac S, Ćirović D, Drouet-Hoguet N, Huber D, Iliopoulos Y, Kojola I, Krofel M, Kutal M, Linnell JDC, Skrbinšek AM, Männil P, Marucco F, Melovski D, Mengüllüoğlu D, Mergeay J, Mysłajek RW, Nowak S, Ozoliņš J, Ranc N, Reinhardt I, Rigg R, Salvatori V, Schley L, Sunde P, Trajçe A, Trbojević I, Trouwborst A, von Arx M, Zlatanova D, Boitani L (2025) Continuing recovery of wolves in Europe. PLOS Sustain Transf 4:e0000158. https://doi.org/10.1371/journal.pstr.0000158

Dolphin J, Mazzamuto MV, Gankhuyag G, Davaasuren D, Munkhtsog B, Bayanmunkh UU, Sukhchuluun G, Koprowski JL (2025) Urban Edge Predators: wolf spatial and temporal ecology at the wildland–urban interface in Mongolia. Biology 14:1292. https://doi.org/10.3390/biology14091292

Donfrancesco V, Ciucci P, Salvatori V, Benson D, Andersen LW, Bassi E, Blanco JC, Boitani L, Caniglia R, Canu A, Capitani C, Chapron G, Czarnomska SD, Fabbri E, Galaverni M, Galov A, Gimenez O, Godinho R, Greco C, Hindrikson M, Huber D, Hulva P, Jedrzejewski W, Kusak J, Linnell JDC, Llaneza L, López-Bao JV, Männil P, Marucco F, Mattioli L, Milanesi P, Milleret C, Myslajek RW, Ordiz A, Palacios V, Pedersen HC, Pertoldi C, Pilot M, Randi E, Rodríguez A, Saarma U, Sand H, Scandura M, Stronen AV, Tsingarska E, Mukherjee N (2019) Unravelling the scientific debate on how to address wolf-dog hybridization in Europe. Front Ecol Evol 7:175. https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00175

Hennelly LM, Parreira BR, Noble A, Scharff-Olsen CH, Aytekin MÇK, Şekercioğlu ÇH, Kosintsev P, Paule L, Hulva P, Stenøien HK, Habib B, Fatima H, Sarwar G, El-Haddad SP, Youssef A, Hailer F, Sun X, Martins NFG, Gilbert MTP, Sacks BN, Sinding M-HS, Gopalakrishnan S (2025) Continent-wide view of genomic diversity and divergence in the wolves of Asia. Commun Biol 8:245. https://doi.org/10.1038/s42003-025-09379-9

Hindrikson M, Männil P, Ozolins J, Krzywinski A, Saarma U (2012) Bucking the trend in wolf-dog hybridization: first evidence from Europe of hybridization between female dogs and male wolves. PLoS ONE 7:e46465. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046465

Hindrikson M, Remm J, Pilot M, Godinho R, Stronen AV, Baltrūnaité L, Czarnomska SD, Leonard JA, Randi E, Nowak C, Åkesson M, López-Bao JV, Álvares F, Llaneza L, Echegaray J, Vilà C, Ozolins J, Rungis D, Aspi J, Paule L, Skrbinšek T, Saarma U (2017) Wolf population genetics in Europe: a systematic review, meta-analysis and suggestions for conservation and management. Biol Rev 92:1601–1629. https://doi.org/10.1111/brv.12298

Hulva P, Collet S, Baránková L, Valentová K, Šrutová J, Bauer H, Gahbauer M, Mokrý J, Romportl D, Smith AF, Vorel A, Zýka V, Nowak C, Černá Bolfíková B, Heurich M (2024) Genetic admixture between Central European and Alpine wolf populations. Wildl Biol 2024:e01281. https://doi.org/10.1002/wlb3.01281

Ito TY, Miura N, Lhagvasuren B, Enkhbileg D, Takatsuki S, Tsunekawa A, Jiang Z (2005) Preliminary evidence of a barrier effect of a railroad on the migration of Mongolian gazelles. Conserv Biol 19:945–948. https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.004364.x

Ito TY, Lhagvasuren B, Tsunekawa A, Shinoda M, Takatsuki S, Buuveibaatar B, Chimeddorj B (2013) Fragmentation of the habitat of wild ungulates by anthropogenic barriers in Mongolia. PLoS ONE 8:e56995. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056995

Joshi BD, Lyngdoh S, Singh SK, Sharma R, Kumar V, Prakash TV, Dar SA, Maheswari A, Pal R, Bashir T, Reshamwala HS, Shrotriya S, Sathyakumar S, Habib B, Kvist L, Goyal SP (2020) Revisiting the Woolly Wolf (*Canis lupus chanco*) phylogeny in Himalaya: Addressing taxonomy, spatial extent and distribution of an ancient lineage in Asia. PLoS ONE 15:e0231621. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231621

Kaczensky P, Enkhsaikhan N, Ganbaatar O, Walzer C (2008) The great

Dziech A (2021) Identification of wolf-dog hybrids in Europe – an overview of genetic studies. Front Ecol Evol 9:760160. https://doi.org/10.3389/fevo.2021.760160

Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. Mol Ecol 14:2611–2620. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x

Gankhuyag G, Ceacero F, Yansanjav A, Hejcmanová P, Davaa L, Namkhaidorj S, Černá Bolfíková B (2021) Long-term trends in livestock and wildlife interactions: do livestock numbers predict recent trends of wolves, foxes, and rodents' populations in Mongolian rangelands? J Nat Conserv 60:125969. https://doi.org/10.1016/j.jnc.2021.125969

Godinho R, Llaneza L, Blanco JC, Lopes S, Álvares F, García EJ, Palacios V, Cortés Y, Talegóns J, Ferrand N (2011) Genetic evidence for multiple events of hybridization between wolves and domestic dogs in the Iberian Peninsula. Mol Ecol 20:5154–5166. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05345.x

Harmoinen J, von Thaden A, Aspi J, Kvist L, Cocchiararo B, Jarausch A, Gazzola A, Sin T, Lohi H, Hytönen MK, Kojola I, Stronen AV, Caniglia R, Mattucci F, Galaverni M, Godinho R, Ruiz-González A, Randi E, Muñoz-Fuentes V, Nowak C (2021) Reliable wolf-dog hybrid detection in Europe using a reduced SNP panel developed for non-invasively collected samples. BMC Genomics 22:473. https://doi.org/10.1186/s12864-021-07761-5

Kopaliani N, Shakarashvili M, Gurielidze Z, Qurkhuli T, Tarkhnishvili D (2014) Gene Flow between wolf and shepherd dog populations in Georgia (Caucasus). J Hered 105:345–353. https://doi.org/10.1093/jhered/esu014

Korablev MP, Korablev NP, Korablev PN (2021) Genetic diversity and population structure of the grey wolf (*Canis lupus* Linnaeus, 1758) and evidence of wolf × dog hybridisation in the centre of European Russia. Mamm Biol 101:91–104. https://doi.org/10.1007/s42991-020-00074-2

Krofel M, Hatlauf J, Bogdanowicz W, Campbell LAD, Godinho R, Jhala YV, Kitchener AC, Koepfli K-P, Moehlman P, Senn H, Sillero-Zubiri C, Viranta S, Werhahn G, Álvares F (2022) Towards resolving taxonomic uncertainties in wolf, dog and jackal lineages of Africa, Eurasia and Australasia. J Zool 316:155–168. https://doi.org/10.1111/jzo.12946

Li Y, Liu J (2018) StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. Mol Ecol Resour 18:176–177. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12719

Lieb Z, Tumurbaatar B, Elfström B, Bull J (2021) Impact of livestock guardian dogs on livestock predation in rural Mongolia. Conserv Sci Pract 3:e509. https://doi.org/10.1111/csp2.509

Lin AT, Fairbanks RA, Barba-Montoya J, Liu H, Kistler L (2025) A legacy of genetic entanglement with wolves shapes modern dogs. Proc Natl Acad Sci U S A 122:e2421768122. https://doi.org/10.1073/pnas.2421768122

Linnell JDC, Odden J, Smith ME, Aanes R, Swenson JE (1999) Large carnivores that kill livestock: do problem individuals really exist? Wildl Soc Bull 27:698–705

Mallil K, Justy F, Rueness EK, Dufour S, Totis T, Bloch C, Baarman J, Amroun M, Gaubert P (2020) Population genetics of the African wolf (*Canis lupaster*) across its range: first evidence of hybridization with domestic dogs in Africa. Mamm Biol 100:645–658. https://doi.org/10.1007/s42991-020-00059-1

Mech LD (1999) Alpha status, dominance, leadership, and division of labor in wolf packs. Can J Zool 77:1196–1203. https://doi.org/10.1139/z99-099

Gobi B strictly protected area in Mongolia - refuge or sink for wolves *Canis lupus* in the Gobi? Wildl Biol 14:444–456. https://doi.org/10.2981/0909-6396-14.4.444

Kaczensky P, Kuehn R, Lhagvasuren B, Pietsch S, Yang W, Walzer C (2011) Connectivity of the Asiatic wild ass population in the Mongolian Gobi. Biol Conserv 144:920–929. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.12.013

Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC (2007) Revising how the computer program cervus accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. Mol Ecol 16:1099–1106. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03089.x

Kazimirov PA, Leontyev SV, Nechaeva AV, Belokon MM, Belokon YS, Bondarev AYa, Davydov AV, Politov DV (2022) Population genetic structure of the steppe wolf of Russia and Kazakhstan by microsatellite loci. Russ J Genet 58:1306–1316. https://doi.org/10.1134/S1022795422110047

Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A (2012) Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. Bioinformatics 28:1647–1649. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199

Kolesnikov VV, Brandler OV, Badmaev BB, ZojeD, Adiya YA (2009) Factors that lead to a decline in numbers of Mongolian marmot populations. Ethol Ecol Evol 21:371–379. https://doi.org/10.1080/08927014.2009.9522492

Widespread, long-term admixture between grey wolves and domestic dogs across Eurasia and its implications for the conservation status of hybrids. Evol Appl 11:662–680. https://doi.org/10.1111/eva.12595

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155:945–959. https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945

Puechmaille SJ (2016) The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: Subsampling and new estimators alleviate the problem. Mol Ecol Resour 16:608–627. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12512

Randi E (2008) Detecting hybridization between wild species and their domesticated relatives. Mol Ecol 17:285–293. 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, Bolfíková BČ, Smetanová M, Caniglia R (2014) Multilocus detection of wolf x dog hybridization in Italy, and guidelines for marker selection. PLoS ONE 9:e86409. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086409

Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (Version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. J Hered 86:248–249. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573

Ripple WJ, Estes JA, Beschta RL, Wilmers CC, Ritchie EG, Hebblewhite M, Berger J, Elmhagen B, Letnic M, Nelson MP, Schmitz OJ, Smith DW, Wallach AD, Wirsing AJ (2014) Status and ecological effects of the world's largest carnivores. Science 343:1241484. https://doi.org/10.1126/science.1241484

Rousset F (2008) genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. Mol Ecol Resour 8:103–106. https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x

Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. Mol Biol Evol 34:3299–3302. https://doi.org/10.1093/molbev/msx248

Salvatori V, Godinho R, Braschi C, Boitani L, Ciucci P (2019) High

Mech LD, Boitani L (2003) Wolves: behavior, ecology, and conservation. University of Chicago Press, Chicago

Múrias Dos Santos A, Cabezas MP, Tavares AI, Xavier R, Branco M (2016) tcsBU: a tool to extend TCS network layout and visualization. Bioinformatics 32:627–628. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv636

Nielsen EEG, Bach LA, Kotlicki P (2006) hybridlab (version 1.0): a program for generating simulated hybrids from population samples. Mol Ecol Notes 6:971–973. https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01433.x

Peakall R, Smouse PE (2006) GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Mol Ecol Notes 6:288–295. https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research–an update. Bioinformatics 28:2537–2539. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460

Pilot M, Branicki W, Jędrzejewski W, Goszczyński J, Jędrzejewska B, Dykyy I, Shkvyrya M, Tsingarska E (2010) Phylogeographic history of grey wolves in Europe. BMC Evol Biol 10:104. https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-104

Pilot M, Greco C, vonHoldt BM, Jędrzejewska B, Randi E, Jędrzejewski W, Sidorovich VE, Ostrander EA, Wayne RK (2014) Genome-wide signatures of population bottlenecks and diversifying selection in European wolves. Heredity 112:428–442. https://doi.org/10.1038/hdy.2013.122

Pilot M, Greco C, vonHoldt BM, Randi E, Jędrzejewski W, Sidorovich VE, Konopiński MK, Ostrander EA, Wayne RK (2018) grazing systems. Wildl Res 39:220–229. https://doi.org/10.1071/WR11135

Vilà C, Amorim IR, Leonard JA, Posada D, Castroviejo J, Petrucci-Fonseca F, Crandall KA, Ellegren H, Wayne RK (1999) Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf *Canis lupus*. Mol Ecol 8:2089–2103. https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00825.x

Wingard JR, Zahler P (2006) Silent steppe: the illegal wildlife trade crisis, 1st edn. World Bank, Washington DC

Wolf C, Ripple WJ (2017) Range contractions of the world's large carnivores. R Soc Open Sci 4:170052. https://doi.org/10.1098/rsos.170052

Woodroffe R (2000) Predators and people: using human densities to interpret declines of large carnivores. Anim Conserv 3:165–173. https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2000.tb00241.x

levels of recent wolf × dog introgressive hybridization in agricultural landscapes of central Italy. Eur J Wildl Res 65:65. https://doi.org/10.1007/s10344-019-1313-3

State Great Khural of Mongolia (2012) Law of Mongolia on animals. https://legalinfo.mn/en/edtl/16532634566601

State Great Khural of Mongolia (1994) Law of Mongolia on specially protected areas. https://legalinfo.mn/en/edtl/16230948087431

Stronen AV, Mattucci F, Fabbri E, Galaverni M, Cocchiararo B, Nowak C, Godinho R, Ruiz-González A, Kusak J, Skrbinšek T, Randi E, Vlasseva A, Mucci N, Caniglia R (2022) A reduced SNP panel to trace gene flow across southern European wolf populations and detect hybridization with other Canis taxa. Sci Rep 12:4195. https://doi.org/10.1038/s41598-022-08132-0

Talala MS, Bondarev AYa, Zakharov ES, Politov DV (2020) Genetic differentiation of the wolf *Canis lupus L.* populations from Siberia at microsatellite loci. Russ J Genet 56:59–68. https://doi.org/10.1134/S1022795420010123

Templeton AR, Crandall KA, Sing CF (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. Genetics 132:619–633. https://doi.org/10.1093/genetics/132.2.619

Tirronen KF, Kuznetsova AS (2025) Wolf-dog hybrids in the eastern fringe Northern European wolf population on the background of increased hunting pressure. Polar Biol 48:1. https://doi.org/10.1007/s00300-024-03330-0

van Bommel L, Johnson C (2012) Good dog! Using livestock guardian dogs to protect livestock from predators in Australia's extensive

Young JK, Olson KA, Reading RP, Amgalanbaatar S, Berger J (2011) Is wildlife going to the dogs? Impacts of feral and free-roaming dogs on wildlife populations. Bioscience 61:125–132. https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.2.7

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

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.