

Hybridation entre chien et loup : analyse de la situation en Italie par E. Randi

Préambule de l'équipe du réseau loup

La publication en décembre 2014 d'une recommandation du comité permanent de la convention de Berne [Recommandation No. 173 (2014) sur le sujet de l'hybridation entre chien (*Canis lupus familiaris*) et loup (*Canis lupus lupus*)] a défrayé la chronique et engendré un large débat sur la toile. Un premier commentaire est de mise: cette recommandation fait état de la nécessité 1) de s'occuper de ce problème avec les procédures appropriées, pour minimiser le nombre de chiens errants ayant le potentiel de s'hybrider dans la nature en zone à loup; et (2) de s'assurer que ces hybrides soient retirés de la nature une fois acquise la certitude scientifique qu'il s'agit bien d'hybrides (NDLR il faut définir des critères objectifs validés auparavant et ne pas uniquement se focaliser par exemple sur une seule caractéristique morphologique). L'esprit de la rédaction de ce texte sous-entend donc une volonté politique de retirer les hybrides de la nature, mais en ayant recours à des procédures officielles, par dérogation à un statut de protection «par défaut» des cas suspectés d'hybrides tant qu'il n'aurait pas été clairement démontré qu'il s'agisse bien d'hybrides. Dès lors se pose la question des méthodes de caractérisation de l'hybridation, et de leur capacité de discrimination entre loup et hybride, notamment par les outils génétiques. Auparavant il faudra donc définir ce qu'on entend par «hybride»: si l'identification d'un croisement de première génération d'une louve avec un chien (ou inversement) ne pose pas de problème pour la qualification génétique d'hybride, les cas de suspicion d'hybridation à des générations plus éloignées nécessitent l'analyse du degré de mélange de gènes de chien dans le patrimoine génétique de loup. La question est donc de savoir à partir de quelle quantité de gènes communs doit-on décider de diagnostiquer un chien-loup ordinaire, un loup hybride, un chien hybride, sachant que les chiens descendent génétiquement des loups, et donc possèdent des gènes en commun avec eux. En tant qu'espèce humaine nous avons 98% de nos gènes en commun avec ceux du chimpanzé est-ce que cela fait de nous des hybrides ? Nous partageons aussi 35% de notre génome avec certaines fleurs ... là ça se corse encore plus de nous qualifier d'hybrides !

Du point de vue biologique, et en ricochet du point de vue juridique, la question n'est donc pas tant de savoir s'il existe un patrimoine génétique commun ou pas, mais à partir de quelles bases il faut le qualifier de problème d'hybridation ou pas, par rapport à la population de loups . Ces questions de la présence et de la détection des hybrides ont repris corps récemment en Italie (mais le phénomène est documenté depuis des décennies en Espagne par exemple), dans certaines zones bien définies et connues de longue date pour « héberger » de nombreux chiens errants. N'étant pas des généticiens de formation affûtés sur la question, nous nous sommes adressés à la principale personne spécialiste en la matière pour nous éclairer: le Pr Etorre Randi, auteur de recherches faisant autorité sur le sujet depuis longtemps, et que nous avons récemment rencontré lors de la dernière réunion du Groupe Loup Alpin. Nous rapportons ci-après la traduction de ses propos formulés à l'origine en anglais, avec des ajouts explicatifs de notre part, lorsque jugé utile, signalés entre crochets [].

ONCFS : Pourquoi avez vous mené une telle étude en Italie ?

E. Randi : Après plusieurs décennies de déclin en Europe, les populations de loups ont commencé à se développer de nouveau depuis les années 70. Moins de 100 loups étaient confinés dans le sud des Apennins et ont commencé à recoloniser vers le nord à partir des années 80 pour atteindre les Alpes au début des années 90. Nous estimons aujourd'hui la population à au moins 1200 individus dans toute l'Italie. En parallèle, les chiens de villages ont également grandement augmenté en nombre, principalement en raison du fait que les hommes s'occupaient mieux de leurs chiens, mais aussi d'une augmentation des activités de chasse, de l'éradication de la rage, et d'une diminution des restrictions quant au contrôle de chiens errants et divagants. C'est particulièrement le cas dans les pays méditerranéens, où, par exemple dans le sud des Apennins, des "bandes" de chiens errants sont encore largement présentes. Cette situation créait donc un potentiel de croisement entre chien et loup sur ces zones, jusqu'ici caractérisé seulement à partir de l'observation d'animaux à l'allure de loups mais aux

Technique

pelages de couleurs atypiques. Cependant, savoir si un pelage "étrange" témoigne d'un hybride ou simplement d'un chien-loup dépendait uniquement de l'impression de l'observateur. D'où le fait que nous nous soyons intéressés à cette problématique de plus près, les nouveaux outils génétiques aujourd'hui disponibles aidant en ce sens.

ONCFS : Justement, quelles sont les évolutions des méthodes qui permettent aujourd'hui un meilleur diagnostic et quelles en sont les limites ?

E. Randi : Pour asseoir la différenciation [entre chiens, loups, hybrides], il a fallu attendre la mise au point et l'identification de fragments d'ADN particuliers, notamment ceux liés à l'amplification de l'ADN dit rare dans les crottes [multiplication de la quantité d'ADN disponible, en laboratoire]. Ces nouvelles techniques contribuent aujourd'hui grandement à traiter un plus grand nombre d'échantillons et de marqueurs ADN micro-satellites nucléaires nécessaires à cette problématique [portions du génome d'un animal issu de ses deux parents facilement reconnaissables et variables d'un animal à l'autre]. Les loups sont les ancêtres des chiens, dont la domestication a commencé il y a 15 à 30000 ans. Nous savons, depuis une décennie, différencier un chien d'un loup par leurs gènes maternels (par leur ADN dit mitochondrial). Cependant sur ce type

d'ADN, le croisement d'une louve avec un chien serait identifié loup et celui d'une chienne avec un loup serait identifié comme Chien. Explorer plus en profondeur l'ADN biparental nucléaire est donc essentiel : un hybride de première génération (appelé F1) va ainsi avoir 1/2 de son ADN de chien et 1/2 de loup. Cependant, plus les croisements vont se répéter ensuite dans la population d'accueil (croisement d'un F1 avec un loup par exemple etc...) plus il sera difficile de caractériser le degré de mélange du patrimoine génétique du chien dans celui du loup, par un simple effet de «dilution» [du génome initial de l'hybride F1 par apport de gènes de loups – ou de chien – lors des croisements en retour répétés au cours de générations].

ONCFS : Quel niveau d'investigation en génétique faut-il engager pour tenter d'identifier les bons marqueurs de diagnostic d'un hybride ?

E. Randi : Les tests que nous avons réalisés sur des échantillons de sang et de tissus de référence montrent que l'utilisation de 30 à 50 marqueurs micro satellites permettent de bien caractériser les hybrides jusqu'au stade F2, sous condition de bonne qualité des échantillons [en fait le nombre de marqueurs nécessaires dépend de l'ancienneté de l'hybridation, et de la proximité génétique naturelle entre population locale de chiens et de loups]. Bien sûr, la quantité de marqueurs peut potentiellement être augmentée mais cela entraîne ensuite des contraintes logistiques et financières qui deviendraient démesurées.

ONCFS : Quelle est le niveau d'hybridation observé dans les différents pays et particulièrement en Italie, et existe-t-il un niveau seuil de mélange d'ADN de chien et de loup qui puisse différencier un processus d'hybridation actif dans la population, d'un simple héritage ancestral ?

E. Randi : Les nouveaux projets collaboratifs d'échanges entre les pays sur le monitoring des loups (par exemple France-Italie-Suisse, Suède-Norvège) ont permis de développer des procédures standards de suivi individuel des loups. Souvent le nombre de marqueurs dédiés à cet objectif reste insuffisant pour traiter de la problématique des hybrides [surtout s'il s'agit d'hybridation ancestrale] mais ouvre la porte sur un sujet considéré aujourd'hui comme important en terme de conservation et de gestion du loup. Durant la phase de



Figure 1 : localisation de la province de Grosseto (It) territoire sur lequel les meutes de loups montrent des signes morphologiques et génétiques d'hybridation

Technique

colonisation, un loup en dispersion peut s'accoupler avec une chienne [si elle est en chaleur] simplement par absence de louve aux alentours. Dans ce cas, il est très probable que cette chienne et ses descendants hybrides n'aient quasiment aucune chance de former une meute dans la nature et qu'ils disparaissent. A l'inverse dans les zones où des couples de loups sont déjà formés, la présence de chiens errants peut potentiellement conduire à ce qu'un chien couvre une louve, et produire une descendance hybride survivante en nature. Les études montrent des taux qui varient souvent entre 5% et 10% d'hybrides, parfois plus faibles (e.g. 1% dans les pays baltes, 4% dans le nord du Portugal), parfois un peu plus forts (11% en Finlande et nord de la Russie). En Italie, nous avons regardé plus intensément la distribution de ces hybrides : les zones des Apennins du

nord et central sont quasiment indemnes, alors que d'autres zones montre une fréquence de 5% sur plus de 5000 échantillons analysés. Le projet HybriWolf a révélé cependant un cas très à part dans la province de Grosseto (Toscane du Sud) pour laquelle 4 des 5 meutes montraient des signatures morphologiques et génétiques d'hybridation. Sur cette zone spécifique, 33% des échantillons (n=103) en 2014 ont été assignés à des hybrides. Ce cas particulier de diffusion des hybrides est probablement lié à la récente colonisation des loups dans la plaine de Toscane où la présence massive de chiens de chasse et de chiens de bergers en liberté est prégnante. Nous n'avons pas de vue d'ensemble sur l'Italie car les méthodes de monitoring ne sont pas uniformes et systématiques sur tout le territoire et nous n'avons pas assez de données pour extrapoler. A l'heure

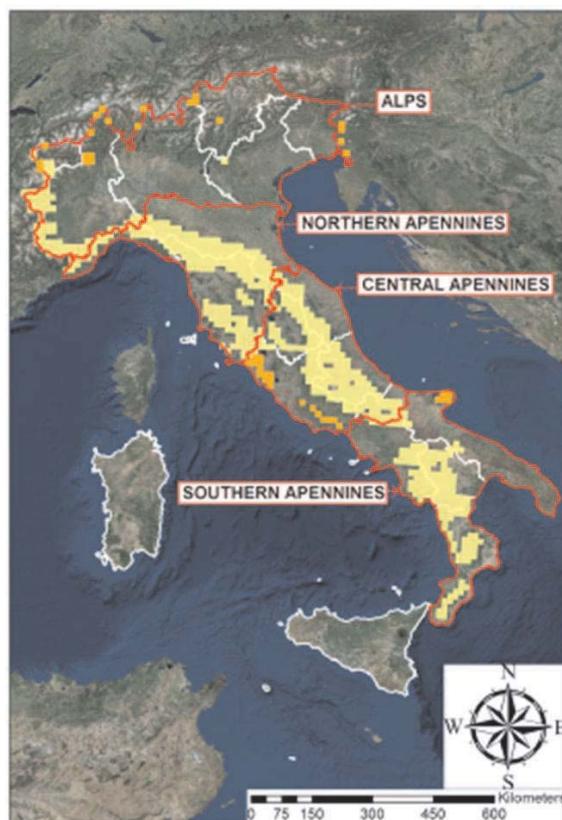
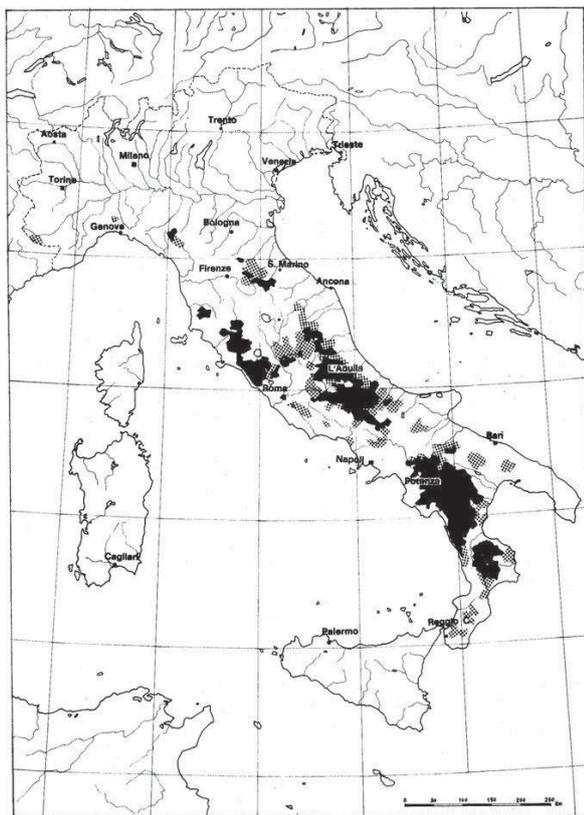


Figure 2 : Distribution du loup en Italie passée (à gauche) et actuelle (à droite)
 A) Les zones noires indiquent la répartition du loup en Italie à la fin des années 1960
 B) Les zones jaunes indiquent la répartition du loup en cours en Italie. Les carrés orange indiquent les zones de colonisation plus récente (Galaverni et al. 2015)

Technique



Photo 1 : Un "loup noir" d'origine hybride photographié dans les Apennins du Nord en Italie - Photo : E. Randi ©

actuelle, nous n'avons trouvé aucun signal [génétique] d'hybridation dans la population qui colonise les Alpes, mais la colonisation continue et la dispersion d'éventuels animaux hybrides depuis le centre de l'Italie ne peut jamais être exclue.

ONCFS : Une procédure a récemment été mise en place pour le contrôle des hybrides en Italie à l'occasion du projet HybriWolf. Comment cela se passe-t-il ?

E. Randi : Les gestionnaires sont effectivement en train d'expérimenter des procédures pratiques pour identifier et retirer les éventuelles meutes issues d'hybridation en respectant les cadres législatifs et sous le contrôle des ministères. En Italie, cette procédure commence par la capture des individus suspects (morphologie atypique), et mise en quarantaine dans les centres autorisés. Des échantillons de sang sont prélevés

à des fins d'analyses génétiques approfondies. Si l'animal ne présente pas de signe génétique d'hybridation, il est relâché sous quelques jours si possible avec un collier émetteur. Dans le cas inverse, il est stérilisé et mis en captivité, ou euthanasié.

ONCFS : Les variations de pelages ou de traits morphologiques sont courantes chez les loups comme chez beaucoup d'espèces. Quels signes morphologiques particuliers peuvent être des marqueurs diagnostics d'un cas d'hybridation ?

E. Randi : Un des principaux éléments diagnostics repose sur la couleur noire des animaux, une caractéristique déterminée comme ayant une origine domestique passée dans le patrimoine génétique des loups par le phénomène d'hybridation (Figure 2). Dans l'état de nos connaissances, les loups noirs sont relativement bien présents dans certaines régions

d'Amérique du nord, et également documentés dans le centre et le nord des Apennins en Italie, où 10-20% des animaux observés ont un phénotype noir ou très sombre. Nous en connaissons aujourd'hui l'origine, due à une mutation génétique qui permet de produire une protéine appelée "Beta-defensin" [qui, à la base, intervient dans le fonctionnement du système immunitaire, mais interfère, par réaction croisée, avec les gènes codant la couleur du pelage]. En fait, il s'avère que cette protéine produite a également des actions similaires à celle d'un "antibiotique naturel" protégeant [de certaines infections] la peau, les cavités nasales, l'intestin et le système reproductif. De ce fait, il est possible mais pour l'instant non démontré, que cette mutation confère un avantage sélectif aux individus qui la possèdent. [du coup, même si le phénomène d'hybridation est simplement occasionnel voire même seulement ancestral, le nombre de cas d'animaux noirs pourrait augmenter dans la population de loups par avantage sélectif de ceux qui sont porteurs de cette mutation génétique, et qui survivraient mieux].

Un autre signe d'hybridation possible repose sur la présence d'un cinquième doigt sur les pattes de devant, d'un ou plusieurs ongles blancs, d'oreilles pendantes... [pour l'heure aucune règle absolue n'existe sur ces critères, les résultats de Randi et al. 2014 montrant que 12 parmi 16 animaux présentant certains de ces phénotypes atypiques étaient réellement des hybrides sur le plan génétique]. Des programmes de monitoring à long terme associant en même temps analyses génétiques et morphologiques, pourraient sans doute permettre d'établir des marqueurs phénotypiques caractéristiques de cas d'hybridation. Ainsi les procédures de contrôle des hybrides pourraient ensuite permettre d'éviter les risques de pollutions génétiques.

Pour en savoir plus : Randi et al. (2014) : Multilocus Detection of Wolf x Dog Hybridization in Italy, and Guidelines for Marker Selection ? PLOSone N°9(1) : 1-13. <http://www.plosone.org>

*Ettore Randi - Conservation Genetics (ISPRA)
Via Cà Fornacetta, 9 - 40064 Ozzano dell'Emilia (BO),
Italy
E-mail: ettore.randi@isprambiente.it*

Note de l'équipe du Réseau loup :

Les analyses d'E. Randi montrent bien la distinction à faire entre les résultats d'une hybridation ancestrale (simple partage de gènes en commun) et ceux d'une hybridation active, comment la diagnostiquer, et le fait que ce soit à relier à la présence massive de chiens en liberté. Assez peu d'études directes existent en matière de mesure de l'abondance de ces chiens. On peut citer Boitani (1983, "Wolf and dog competition in Italy.", Acta Zoologica Fennica 174:259-264) qui précise, pour l'Italie que "dans les zones avec présence de loups, où la densité est de l'ordre de 1 animal pour 100 km², il y a 150 à 310 chiens en divagation aux 100 km², et 24 à 82 chiens ensauvagés aux 100 km²". En France, Garde (2005, "Attaques de chiens sur les troupeaux ovins dans le Luberon et comparaison avec la prédation en territoires à loups.", Anthropozoologica 40(2) :7-26), dans un cadre différent car dédié à l'analyse de typologie des attaques de loups et de chiens sur les troupeaux rapporte que : «...les chiens « errants » proprement dits sont rares, voire exceptionnels, dans nos régions. La prédation des chiens sur les troupeaux est due à des individus divagants, laissés libres pour quelques heures ou même, en présence de leur maître mais non-tenus en laisse". L'auteur précise ensuite "Pour clarifier les termes, les définitions suivantes sont proposées :

– chiens divagants : animaux non-tenus en laisse, ou faisant une fugue pour un temps limité; ces chiens ont un maître et sont habituellement nourris et logés ; ils peuvent former des bandes provisoires ;

– chiens errants : animaux abandonnés, dormant dehors et se nourrissant par leurs propres moyens;

chiens ensauvagés : animaux retournés à l'état sauvage, vivant en meutes et se reproduisant dans la nature; il n'y a pas en France de populations de chiens ensauvagés comme il s'en trouve dans de nombreux pays."