

Suivi génétique non invasif tout au long de la vie d'une louve philopatric dans les Apennins Toscans, en Italie

European Journal of Wildlife Research (2021) 67:107
<https://doi.org/10.1007/s10344-021-01548-5>

SHORT COMMUNICATION



Lifelong non-invasive genetic monitoring of a philopatric female wolf in the Tuscan Apennines, Italy

Francesco Lugli^{1,2} · Romolo Caniglia³ · Luca Mattioli⁴ · Elena Fabbri³ · Marco Mencucci⁵ · Nadia Cappai⁶ · Nadia Mucci³ · Marco Apollonio² · Massimo Scandura²

¹Scuola Superiore di Sardegna, University of Sassari, Sassari, Italy,

²Department of Veterinary Medicine, University of Sassari, via Vienna 2, 07100 Sassari, Italy,

³Unit for Conservation Genetics (BIO-CGE), Italian Institute for Environmental Protection and Research (ISPRA), Ozzano dell'Emilia, Italy,

⁴Pesca Dilettantistica e Pesca in Mare, Settore Attività Faunistico Venatoria, Regione Toscana, Arezzo, Italy,

⁵Reparto Carabinieri Parco Nazionale Foreste Casentinesi, Pratovecchio, Italy,

⁶Parco Nazionale delle Foreste Casentinesi, Monte Falterona Campigna, Pratovecchio, Italy.

Résumé

Les loups (*Canis lupus*), comme la plupart des carnivores sauvages, sont insaisissables et vivent généralement en faible densité, ce qui rend difficile la surveillance d'individus spécifiques dans le temps. L'échantillonnage génétique non invasif, lorsqu'il est prolongé sur une longue période et à une échelle géographique suffisamment grande, s'est révélé être un outil efficace pour suivre les tendances individuelles dans une population. Au cours d'un projet à long terme axé sur le suivi de la présence et de la distribution des meutes de loups dans les Apennins Toscans en Italie, nous avons suivi la destinée d'une seule femelle (F82) exclusivement par l'analyse des génotypes multilocus microsattellites obtenus à partir d'échantillons non invasifs ($n = 118$ comprenant des excréments, des poils et des résidus sanguins) collectés de 2003 à 2014. Depuis la meute natale, elle s'est dispersée dans une zone voisine où elle a établi son territoire avec un mâle non apparenté. Le couple a persisté pendant 8 ans, s'accouplant au moins deux fois et occupant un territoire d'une taille minimale de 60-80 km². En décembre 2014, la carcasse de F82 a été retrouvée victime d'un accident de voiture. Son âge estimé à sa mort était d'au moins 11 ans (le temps écoulé entre le premier et le dernier échantillonnage). Ce record représente l'un des très rares cas de loups sauvages en liberté suivis pendant une aussi longue période en Europe et sa durée de vie représente la plus longue jamais enregistrée sur le vieux continent.

INTRODUCTION

Les projets de surveillance à long terme des populations d'animaux sauvages peuvent être des outils appropriés pour suivre des individus spécifiques pendant toute leur vie, en recueillant des données qui peuvent se révéler utiles pour modéliser la dynamique ou la viabilité des populations (Holyan et al. 2005).

Les loups (*Canis lupus*), comme de nombreux autres carnivores sauvages, sont insaisissables et vivent à faible densité. Il est donc difficile de suivre dans le temps les activités d'individus spécifiques au sein de leurs populations.

Une technique couramment adoptée est la télémétrie GPS, mais bien qu'elle puisse fournir des informations très précises et utiles (Byrne et al. 2018 ; Myslajek et al. 2018 ; Rio-Maior et al. 2018 ; Musto et al. 2020), cette méthode est invasive et présente certaines limites. En effet, elle nécessite des techniques stressantes de piégeage vivant (Santos et al. 2017) ou de poursuite par un véhicule terrestre ou aérien (Arnemo et al. 2013 ; Kirilyuk et al. 2020) pour équiper un loup du collier. De plus, le suivi à long terme est empêché par la durée limitée de la batterie, généralement inférieure à 2 ans (Myslajek et al. 2018).

Le suivi génétique non invasif peut fournir des données pertinentes, notamment dans les paysages Européens, où les loups ne peuvent pas être facilement observés ou capturés (Randi 2011). C'est un outil fiable permettant de produire des données précieuses pour vérifier la reproduction et l'hybridation, identifier les couples nouvellement établis, les territoires de meute, les immigrants ou les floteurs, même dans de vastes zones d'étude, et déduire les taux de survie et les tendances de la population à l'aide de modèles de capture-recapture (Schwartz et al. 2007 ; Marucco et al. 2009 ; Stenglein et al. 2010 ; Stansbury et al. 2014 ; Godinho et al. 2015). Elle est rentable, adaptée à toutes les conditions et saisons, et n'entraîne pas de problèmes éthiques (Dufresnes et al. 2019). C'est pourquoi elle a déjà été utilisée avec succès pour le suivi des loups dans plusieurs régions d'Europe (Granroth-Wilding et al. 2017 ; Dufresnes et al. 2019 ; Karamanlidis et al. 2016), y compris en Italie (Scandura et al. 2011 ; Galaverni et al. 2012 ; Caniglia et al. 2014).

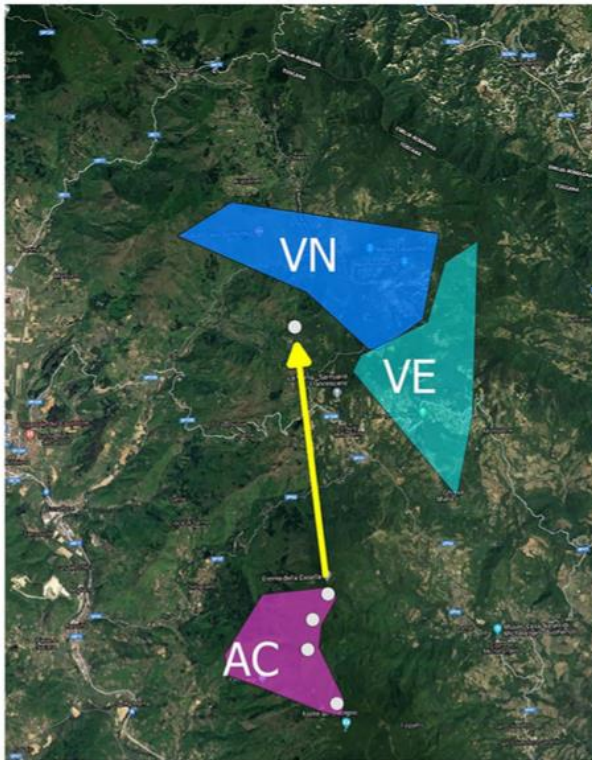
Ici, nous présentons le suivi non invasif à vie d'une femelle loup gris habitant les Apennins Toscans en Italie. Elle a été suivie pendant 11 ans, jusqu'à sa mort, en s'appuyant exclusivement sur des procédures d'échantillonnage génétique et de génotypage non invasives.

MATERIEL ET METHODES

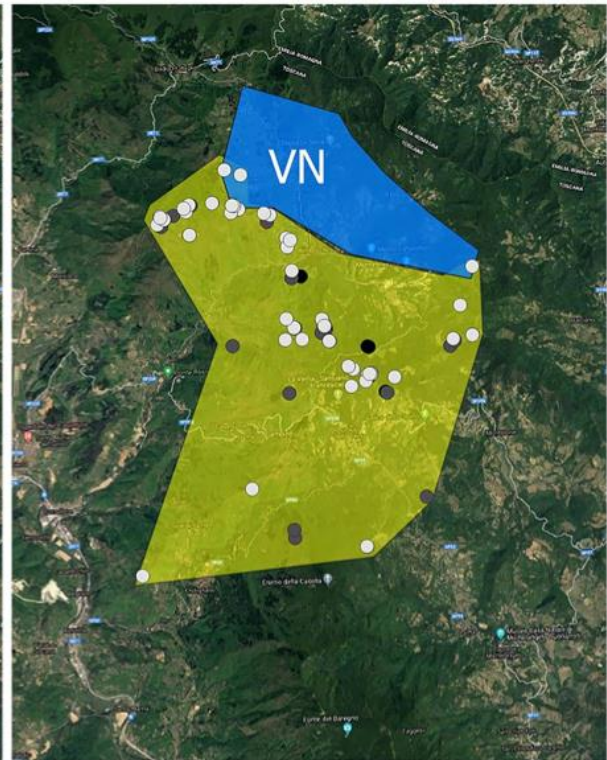
Cette étude fait partie d'un projet plus large de suivi de la présence et de la distribution de la population de *Canis lupus* dans les Apennins septentrionaux qui a débuté en 2000 et qui est toujours en cours, mené par plusieurs organisations (Université de Sassari, province d'Arezzo, Institut national Italien pour la protection et la recherche environnementales ISPRA, Parc national des Forêts Casentinesi) sur une zone des Apennins Toscans à la frontière avec la région Emilia-Romagna.

Ici, on pense que les loups n'ont jamais disparu (Cagnolaro et al. 1974), et depuis le début des années 1980, ils se sont rapidement répandus à partir du parc national (Apollonio et al. 2004), occupant toutes les principales chaînes de montagnes, ainsi que plusieurs zones de collines environnantes (Scandura et al. 2011).

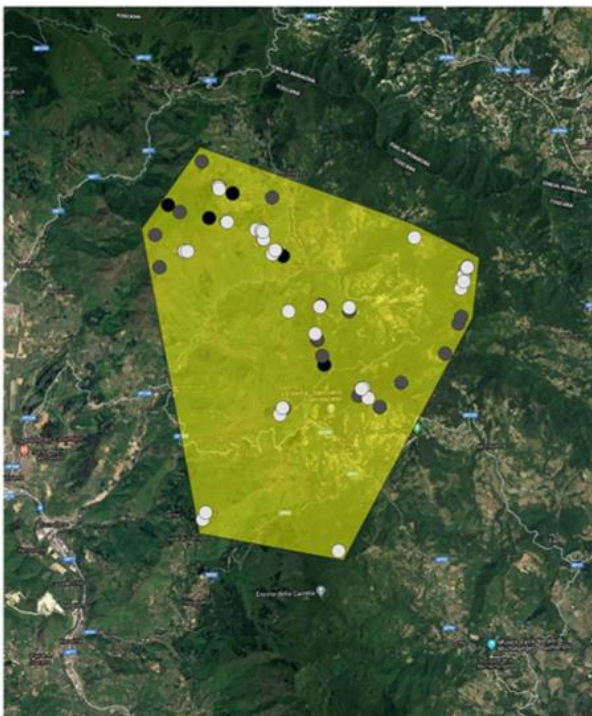
Au cours du projet de suivi à long terme, la collecte d'échantillons a été principalement effectuée de manière **opportuniste**, en recueillant des échantillons non invasifs sur des individus en liberté et des échantillons de tissus sur des carcasses. Pour cette étude, nous avons considéré un sous-ensemble d'échantillons génotypés avec succès qui avaient été collectés entre 2003 et 2014. Il s'agit de la période pendant laquelle une louve spécifique, nommée F82 (où F indique le sexe féminin du génotype numéro 82, correspondant à la femelle FO82 dans Caniglia et al. (2014) et à W60 dans Scandura et al. (2011)), a été identifiée dans la zone d'étude. Les échantillons sélectionnés tombaient dans une zone comprenant tous les emplacements de F82 et de son compagnon M97 (où M indique le sexe masculin du génotype numéro 97) et une zone tampon environnante de 1 km.



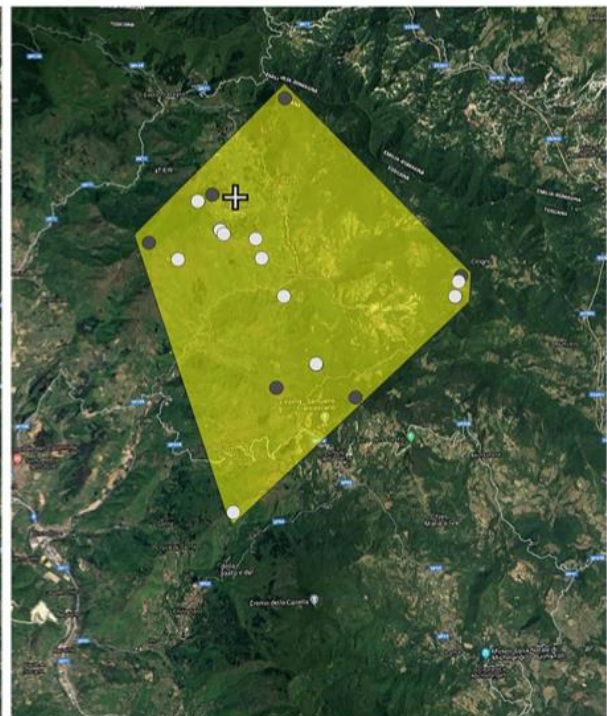
a) 2003-2005
Dispersal ~ 7.5 km from the natal pack.



b) 2006-2008
Pack formation and reproduction.
($A=77.16$ km²)



c) 2009-2010
Reproduction ($A=78.16$ km²)



d) 2011-2014
No evidence of reproduction and death
($A=66.09$ km²)

Fig.1 Distribution spatiale des échantillons de la femelle loup F82 (points blancs ; la croix blanche représente la carcasse), de son compagnon (M97, points gris), de leur progéniture (points noirs), et localisation approximative des autres meutes de la zone (AC - meute natale de F82 ; VE et VN - meutes voisines). A - zone approximative (km²) couverte par les emplacements de la paire M97-F82

Sur les **407 échantillons collectés** et génotypés avec succès, 376 (92,4%) étaient des excréments, 15 (3,7%) des poils, 10 (2,4%) des résidus sanguins et 6 (1,5%) des échantillons de tissus musculaires provenant de carcasses.

Les analyses ont été effectuées dans deux laboratoires en utilisant des loci microsatellites autosomiques canins non liés qui ont été employés avec succès pour l'identification individuelle dans des projets de surveillance génétique non invasive à long terme de la population Italienne de loups (Scandura et al. 2011 ; Caniglia et al. 2014 ; Canu et al. 2017 ; Fabbri et al. 2018). Jusqu'en 2008, le génotypage individuel était recueilli à l'aide de deux panels de microsatellites se chevauchant partiellement (13 et 12 loci dans chaque laboratoire respectivement, 7 marqueurs partagés). Après 2018, les données ont été collectées à l'aide des mêmes 12 microsatellites et la comparabilité totale des génotypes a été obtenue par une calibration inter-laboratoires. Deux ensembles de données étaient donc disponibles : l'un comprenant les 18 microsatellites (mais avec quelques données manquantes) et l'autre uniquement les 12 loci partagés utilisés dans la deuxième période. Toutes les informations concernant le jeu de données complet de tous les microsatellites analysés dans cette étude sont disponibles sur le lien suivant :

https://osf.io/n6m3q/?view_only=aff4eb2014f348c397d3_d06915f1f3fa

Les génotypes consensuels ont été utilisés pour identifier les correspondances à l'aide de Gimlet v. 1.3.3 (Valière 2002), révélant ainsi les individus qui avaient été rééchantillonnés dans la région. Une analyse de parenté a ensuite été réalisée avec Colony v. 2.0.6.6 (Jones et Wang 2010) afin d'identifier les parents possibles de F82 dans la région et de reconstruire les unités sociales (c'est-à-dire les meutes). Des analyses géographiques ont été réalisées à l'aide de QGIS 3.10.11 afin de définir l'aire de répartition de l'individu focal et d'étudier la distribution spatio-temporelle des autres individus et meutes identifiés.

RESULTATS ET DISCUSSION

La louve F82 a été suivie en continu dans la zone entre 2003 et 2014 avec un total de **118** prélèvements. Le premier échantillonnage est daté de septembre 2003, ce qui correspond probablement à son année de naissance. Dans la même zone (AC ; Fig. 1a), le couple parental et un minimum de trois frères et sœurs ont été échantillonnés la même année.

Elle a continué à être échantillonnée dans la zone natale jusqu'en juin 2005, lorsque F82 a été génétiquement détectée dans une zone voisine à environ 7,5 km au nord (Fig. 1a) ; depuis lors, elle a toujours été trouvée dans cette zone qui borde le territoire natal. Les différentes étapes reconstituées de sa vie sont rapportées dans le Tableau 1.

En février 2006, le mâle M97 a été échantillonné pour la première fois dans la même zone (il n'avait jamais été détecté auparavant dans les zones voisines), mais aucune preuve de reproduction n'a été trouvée pour cette année-là. Deux autres meutes étaient présentes dans les zones nord et est, respectivement, VN (comprenant au moins sept individus échantillonnés sur toute la période d'étude) et VE (fondée par une femelle née dans la meute VN et comprenant au moins sept animaux génotypés) (Fig. 1a). La première correspond à la meute de La Verna décrite dans Caniglia et al. (2014), pour laquelle les auteurs ont suggéré sa présence depuis 2001 et reconstruit des pedigrees pluriannuels attestant de plusieurs événements de reproduction. En 2007 et 2009, nous avons des preuves de la reproduction du couple F82-M97, consistant en l'apparition de nouveaux

rejetons putatifs sur leur territoire. En 2007, la meute VE s'est dissoute ou déplacée vers l'est et le couple F82-M97 a agrandi son territoire en occupant la zone laissée vacante par la meute VE (Fig. 1b). Depuis 2009, la meute VN n'a plus été détectée et une partie de son ancien territoire a été lentement occupée par la meute F82-M97 (Fig. 1c). A partir de 2010, nous n'avons plus de preuve de la reproduction du couple, mais il semble qu'il ait réussi à maintenir son territoire. De même, nous n'avons pas d'autres preuves d'événements de reproduction, même pour les meutes VN et VE, et aucun de leurs membres n'a été ré-échantillonné dans d'autres zones ; cela suggère une forte rotation des individus dans cette partie des Apennins Italiens, comme l'ont soutenu des études précédentes (Scandura et al. 2011 ; Caniglia et al. 2014). En 2013, les derniers échantillons non invasifs de F82 et M97 ont été collectés. En décembre 2014, F82 a été retrouvée morte dans la zone, victime d'un accident de la circulation (Fig. 1d). Son corps pesait 37 kg et présentait une gale, des calcifications aux genoux dues à un traumatisme antérieur et des cicatrices utérines dues à des reproductions antérieures. Elle était âgée d'au moins 11 ans.

Tableau 1 Suivi historique de F82 et de son compagnon M97. Les événements pertinents ont été déduits du suivi génétique non invasif de l'individu focal et d'autres individus dans la zone. Le nombre d'échantillons entièrement génotypés pour F82, M97 et tous les individus de la zone est indiqué. L'année fait référence au cycle biologique (c'est-à-dire de mai à avril de l'année suivante)

Year	Age	Life events	Notes	#samples F82	#samples M97	#samples total
2003	0	Possible birth in AC pack	First sampling in the natal pack	1	-	23
2004	1	-	Still in natal pack	1	-	24
2005	2	Short-range dispersal	Northward dispersal between June and November	4	-	21
2006	3	Pair formation with M97	No evidence of reproduction	12	3	57
2007	4	Mating with M97	3 offspring sampled: F110, M136, F137	17	17	43
2008	5	-	F110 and M136 still in the pack territory	35	23	83
2009	6	Mating with M97	2 offspring sampled: M153, M154	22	18	54
2010	7	-	M153 still in the pack territory	12	23	56
2011	8	-	No offspring sampled in the pack territory	4	5	22
2012	9	-	No offspring sampled in the pack territory	5	2	10
2013	10	-	Last sampling of M97	4	3	12
2014	11	Death	Last sampling (carcass). Traffic accident	1	-	1
			Total	118	94	406

Le lien de couple F82-M97 a duré 8 ans, ce qui est une période assez longue pour les loups (Ausband 2019). Cependant, nous n'avons eu que des preuves de deux reproductions pendant cette période, qui ont commencé à un âge estimé à 4 ans. Cet âge est considéré comme habituel dans les populations de loups, bien que le début de la reproduction chez les femelles puisse être à 2 ans (Fuller et al. 2003) et puisse avoir lieu jusqu'à 11 ans (Mech 1988). Cependant, l'âge de reproduction observé est en accord avec les données précédentes pour les loups Italiens (Lovari et al. 2007).

F82 était une femelle philopatrique ne se dispersant que sur quelques kilomètres (~7,5) pour former une nouvelle meute à elle dans une zone tampon entre sa meute natale et deux meutes existantes. En revanche, le mâle M97 n'avait jamais été identifié auparavant dans les zones voisines, ce qui suggère une origine lointaine et confirme ce qui est rapporté dans la plupart des études sur les loups concernant un comportement de dispersion biaisé par les mâles chez les jeunes individus (Caniglia et al. 2014 ; Sanz-Pérez et al. 2018).

Malgré son succès reproductif apparemment faible, le nouveau couple a étendu son territoire et a patrouillé avec succès une zone d'une taille minimale de 60-80 km² pendant 8 ans.

En Amérique du Nord, les loups sauvages ont été signalés comme pouvant vivre jusqu'à 13 ans, bien que la plupart d'entre eux meurent avant d'avoir 4 ou 5 ans (Mech 1988 ; Holyan et al. 2005). En revanche, en Europe, même si des taux de mortalité juvénile élevés similaires ont été généralement confirmés (Marucco et al. 2009), des valeurs de longévité élevées comparables ne sont pas rapportées. Huber et al. (2002) ont estimé l'âge à partir de carcasses de loups collectées en Croatie entre 1986 et 2001, et Lovari et al. (2007) ont fait de même en Italie entre 1991 et 2001 : le plus vieux loup qu'ils ont trouvé avait un âge estimé à 9 ans.

Par conséquent, à notre connaissance, F82 est le loup sauvage ayant la plus longue durée de vie rapportée en Europe jusqu'à présent. Ceci est d'autant plus pertinent que son âge ne résulte pas d'une simple estimation mais du suivi réel d'une louve pendant toute sa vie, en s'appuyant exclusivement sur des techniques non invasives.