

## Précision de l'échantillonnage des excréments pour l'analyse du régime alimentaire des carnivores : le cas des loups dans les Alpes

*Journal of Mammalogy*, 89(3):665–673, 2008

### ACCURACY OF SCAT SAMPLING FOR CARNIVORE DIET ANALYSIS: WOLVES IN THE ALPS AS A CASE STUDY

FRANCESCA MARUCCO,\* DANIEL H. PLETSCHER, AND LUIGI BOITANI

*Wildlife Biology Program, Department of Ecosystem and Conservation Sciences, University of Montana, Missoula, MT 59812, USA (FM, DHP)*

*Department of Human and Animal Biology, University of Roma "La Sapienza," Roma, Italy (LB)*

#### Résumé

Nous avons évalué la précision des méthodes d'échantillonnage des excréments par rapport aux sources de biais (indépendance statistique des données et définition de l'unité d'échantillonnage) et à la précision (taille de l'échantillon). Nous avons développé une méthode permettant de quantifier avec précision les régimes alimentaires des prédateurs dans le cadre d'une étude sur la sélection du régime alimentaire par les loups (*Canis lupus*) pendant 3 saisons hivernales (1999-2002) dans les Alpes occidentales. Le meilleur plan d'échantillonnage pour éviter la pseudo-réplication était la « **méthode additive** », où la présence d'une carcasse, estimée soit par une collection d'excréments soit par une carcasse elle-même le long de la route du loup, était considérée comme une unité d'échantillonnage. Bien que les chevreuils (*Capreolus capreolus*) soient les principales proies utilisées par les loups dans la région, les cerfs rouges (*Cervus elaphus*), proies récemment réintroduites et présentes en faible densité, ont été sélectionnés en hiver 2001. Nous avons évalué la taille optimale de l'échantillon pour une question donnée en utilisant des simulations de Monte Carlo. Pour les échantillons de petite taille, de légères augmentations de la taille des échantillons ont entraîné de fortes réductions de l'erreur standard, améliorant grandement la précision des estimations du pourcentage d'éléments dans le régime alimentaire. L'estimation du nombre d'espèces de proies rares utilisées par les loups, comme le cerf rouge dans notre étude de cas (<2% des estimations du régime alimentaire), était possible si la taille minimale de l'échantillon était supérieure à 10-40% de la population de carcasses. Nous avons souligné l'importance de la **méthode additive** pour améliorer la précision des estimations de la sélection du régime alimentaire par les carnivores.

#### INTRODUCTION

L'analyse fécale pour évaluer les régimes alimentaires des carnivores est largement utilisée car l'approche est peu coûteuse, relativement rapide à appliquer et de grands échantillons peuvent être collectés (Litvaitis 2000). La méthode est non invasive et donc compatible avec le statut d'espèce menacée de nombreux carnivores dans différents pays (Mills 1996). Les chercheurs ont examiné le régime alimentaire des prédateurs en Afrique (Bailey 1993 ; Mills 1992) et des loups (*Canis lupus*) en Europe (Capitani et al. 2004 ; Gade-Jorgensen et Stagegaard 2000 ; Jedrzejewski et al. 2000) et en Amérique du Nord (Kohira et Rexstad 1997 ; Marquard-Petersen 1998) en utilisant l'analyse des excréments. L'analyse des excréments est utile pour construire une description de base du régime alimentaire d'un carnivore, en particulier lorsque d'autres méthodes sont difficiles ou lorsque l'on a besoin d'informations de base pour planifier des études à grande échelle sur l'écologie

comportementale (Mills 1996). L'analyse des excréments est également un complément particulièrement utile au radio-tracking, à l'observation directe et au snow-tracking dans les études sur la sélection du régime alimentaire.

L'analyse des excréments comporte trois parties principales : l'échantillonnage des excréments (collecte), l'analyse en laboratoire et l'analyse des données. Bien que les **biais** et les difficultés d'interprétation aient été pris en compte pour les analyses en laboratoire et les analyses de données (Ciucci et al. 1996 ; Reynolds et Aebischer 1991), les erreurs d'échantillonnage, les biais et les difficultés d'interprétation dus à l'échantillonnage des excréments ont rarement été discutés.

**L'échantillonnage aléatoire** des excréments sur le terrain est rarement réalisable, bien que l'utilisation de chiens détecteurs d'excréments puisse améliorer cette situation dans un avenir proche pour certaines espèces (Smith et al. 2005 ; Wasser et al. 2004). **Des biais potentiels peuvent se produire si des groupes non indépendants d'excréments collectés sur des sites de tanières, des sites d'abattage ou le long d'une piste provoquent une pseudo-réplication** (Hurlbert 1984) et une surreprésentation d'une espèce de proie dans le régime alimentaire (Carss et Parkinson 1996 ; Huggard 1993*b*). En particulier, les prédateurs qui ont de grandes proies par rapport à leur taille (par exemple, le loup et la belette [*Mustela*]), peuvent produire des groupes d'excréments fortement corrélés. À l'inverse, les carnivores solitaires qui mangent généralement de petites proies (par exemple, le coyote [*Canis latrans*]) produisent moins d'excréments par proie individuelle, ce qui entraîne probablement moins de problèmes d'indépendance. Des biais peuvent également se produire si des excréments non ciblés sont inclus dans l'analyse.

Un échantillon d'excréments qui est petit par rapport au nombre total d'excréments produits peut être non représentatif et sujet à des erreurs d'échantillonnage (Reynolds et Aebischer 1991 ; Trites et Joy 2005), en particulier pour détecter la présence d'espèces de proies petites ou rares dans le régime alimentaire du carnivore. **Si la taille de l'échantillon est trop petite, les tests d'hypothèses manquent de puissance** (Bros et Cowell 1987 ; Sheppard 1999), notamment dans les tests visant à comparer les régimes alimentaires (Reynolds et Aebischer 1991). Inversement, lorsque la taille de l'échantillon est très grande, la puissance d'un test spécifique peut être adéquate, mais l'effort peut avoir été gaspillé dans la collecte et le traitement de tant de crottes.

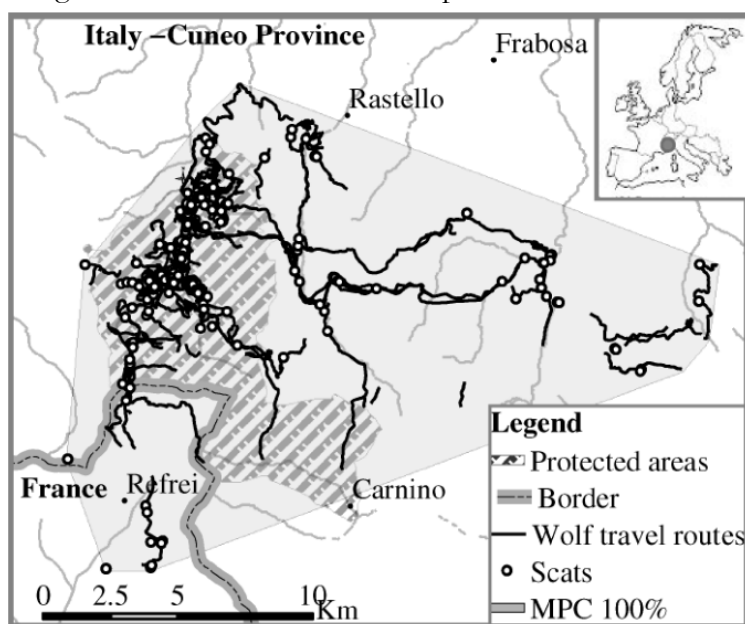
Nous avons développé et testé la « **méthode additive** » pour améliorer la précision des études sur la sélection du régime alimentaire en complétant les données sur les loups tués par des données sur les excréments collectés par le suivi de la neige dans une étude sur le régime alimentaire des loups dans les Alpes occidentales. Les données combinées de la méthode additive sont plus significatives d'un point de vue biologique que les données sur les excréments seuls, car l'unité d'échantillonnage est la carcasse de la proie elle-même et non un excrément. Avec cette approche, nous pourrions aborder la question de l'indépendance liée aux groupes de crottes et éviter la pseudo-réplication.

Les données sur les habitudes alimentaires et la sélection des proies des loups dans la zone récemment recolonisée des Alpes occidentales (Fabbri et al. 2007) peuvent dissiper les perceptions erronées, aider à orienter les décisions de gestion et conduire à des hypothèses de recherche plus affinées. **Nous avons donc étudié l'importance des ongulés dans le régime alimentaire des loups récemment installés.** Le cerf rouge (*Cervus elaphus*) présentait un intérêt particulier pour la gestion, car il a été récemment réintroduit et sa densité est faible. **Nous avons évalué la taille de l'échantillon nécessaire pour documenter le nombre de cerfs rouges dans l'alimentation.** Nous avons évalué la

taille optimale de l'échantillon en utilisant des simulations de Monte Carlo pour la question donnée et nous avons évalué les erreurs d'échantillonnage possibles. Nous avons discuté de l'importance de la méthode additive pour améliorer la précision des estimations de la sélection du régime alimentaire des carnivores et de l'applicabilité de la méthode à d'autres carnivores dans d'autres conditions et à d'autres saisons.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

**Zone d'étude** - La zone d'étude était définie par le territoire de la meute de loups de la « Valle Pesio » et était située dans une région montagneuse des Alpes occidentales d'Italie et de France (Fig. 1). La zone s'étendait sur environ 500 km<sup>2</sup> et englobait le parc naturel d'Alta Valle Pesio (67,7 km<sup>2</sup>) et les terres adjacentes. La zone centrale était caractérisée par des fonds de vallée longs et étroits entourés de montagnes accidentées atteignant des altitudes de 800 à 2 651 m au-dessus du niveau de la mer. Les précipitations annuelles étaient en moyenne de 1 285 mm et la saison de neige durait de novembre à avril. La densité humaine était de 138 personnes/km<sup>2</sup>. Les espèces d'ongulés sauvages dans la région étaient le chamois (*Rupicapra rupicapra*), le chevreuil (*Capreolus capreolus*), le sanglier (*Sus scrofa*) et le cerf. Le chevreuil, le chamois et le sanglier étaient abondants à la suite des réintroductions effectuées par les systèmes de parcs Italiens et Français à partir des années 1980 et en raison de l'expansion naturelle de l'aire de répartition des ongulés dans toute l'Italie (Mustoni et al. 2002). Les cerfs rouges ont été réintroduits dans le parc en 1996.



**FIGURE 1** - Zone d'étude définie par les traces de loups et les résultats des analyses génétiques effectuées sur les excréments de la meute de Valle Pesio suivie pendant 3 saisons hivernales (1999-2002) dans les Alpes occidentales, en Italie et en France

**Échantillonnage et analyse des excréments** - Nous avons recherché les traces de loups à ski ou en raquettes en utilisant des transects systématiques qui couvraient toute la zone. Lorsque nous trouvions des traces de loups, nous les suivions et considérions chaque trace continue comme un seul itinéraire de déplacement. Nous avons effectué un échantillonnage hivernal des excréments le long des itinéraires de déplacement des loups pendant 3 hivers, d'octobre 1999 à mai 2002 (c'est-à-dire que les excréments ont été recueillis le long des itinéraires utilisés par les loups, donc à la fois hors et sur les sentiers tracés par les humains, loin et près des carcasses de proies, etc.) Nous avons recueilli chaque excrément de loup que nous avons rencontré et l'avons congelé (-30°C) avant de l'analyser. Nous avons suivi les procédures de laboratoire de Reynolds et Aebischer (1991). Nous

avons identifié les poils de mammifères dans chaque excrément par un examen microscopique du motif cuticulaire, de la médulla et de la section transversale. La précision des observateurs dans l'identification des poils de mammifères, évaluée par un test en aveugle avant analyse sur un échantillon de 120 poils de mammifères locaux, était de 99% et la cohérence entre les observateurs était de 97% sur la base d'une nouvelle analyse de sous-échantillons aléatoires (Marucco 2003).

Nous avons estimé le régime alimentaire des loups en utilisant la fréquence d'apparition du contenu des excréments (Reynolds et Aebischer 1991). Nous avons généré des limites de confiance bootstrap non simultanées de 95% pour le pourcentage de chaque aliment dans le régime alimentaire. Ces limites représentent les effets de l'erreur d'échantillonnage aléatoire (Manly 1998). Nous avons simulé 2 000 ensembles pour chaque simulation bootstrap.

**Évaluation de la précision et des biais possibles** - Nous avons évalué l'exactitude de la méthode d'échantillonnage des excréments en fonction de la précision (taille de l'échantillon) pour une question donnée et de différentes sources de biais (inclusion dans l'analyse des excréments provenant d'autres espèces que le loup, indépendance des données et définition d'une **unité d'échantillonnage**).

Nous avons estimé la population d'excréments de la meute de loups de Valle Pesio pour les 3 saisons hivernales (1999-2002) en nous basant sur le nombre de loups présents dans la meute, un taux de défécation quotidien (de 2 à 4 excréments/loup/jour), et une saison hivernale de 181 jours (novembre-avril). Nous avons estimé cette fourchette de taux de défécation en nous basant sur un taux de défécation de 3 ou 4 crottes/loup/jour pour des loups captifs nourris ad libitum pendant de courtes périodes (Floyd et al. 1978 ; Weaver 1993) et en considérant que les loups sauvages mangent de façon variable, ce qui réduit probablement le nombre moyen de crottes produites par jour. Nous avons estimé le nombre minimum de membres de la meute par mois grâce au suivi de la neige et aux résultats génétiques sur les échantillons de crottes pour chaque saison hivernale (Marucco 2003). En utilisant les résultats de l'analyse génétique effectuée sur les excréments, nous avons exclu de l'analyse les excréments appartenant à des individus d'autres meutes. Nous avons estimé la précision des estimations alimentaires en utilisant une analyse de la variance d'échantillonnage, qui est mesurée par l'erreur standard au carré. Nous avons déterminé la taille de l'échantillon nécessaire pour un niveau de précision donné en utilisant une forme de simulation de Monte Carlo (Bros et Cowell 1987 ; Trites et Joy 2005). La procédure de Monte Carlo que nous avons utilisée pour générer la fonction d'erreur standard était une procédure d'échantillonnage à partir d'une population réaliste et finie, générée par un rééchantillonnage sans remplacement. Pour chaque taille d'échantillon, nous avons tiré au hasard 1 000 échantillons de la population estimée d'excréments et calculé l'erreur standard. Ce nombre de rééchantillons était un minimum réaliste pour un test de signification  $\alpha = 0,05$  (Manly 1998).

Des analyses génétiques ont été réalisées sur un sous-échantillon de 150 excréments par les laboratoires génétiques de l'Instituto Nazionale della Fauna Selvatica de Bologne (Italie) afin de discriminer les différentes espèces de canidés (Randi et al. 2000). Nous avons calculé la proportion de crottes faites par des espèces autres que les loups présents dans la collection d'échantillons.

**Indépendance des données - la méthode additive** - Nous avons regroupé les excréments de loups en « collections » définies comme l'ensemble des excréments de loups collectés le long d'une

route continue utilisée par les loups, non interrompue par une carcasse identifiable utilisée ou attaquée par les loups, ou par manque de neige. Les carcasses de proies ont été localisées lorsque nous avons remonté la piste des loups pendant les 3 hivers 1999-2002 (Huggard 1993a ; Kunkel et al. 1999). Les carcasses de proies trouvées représentaient un nombre minimum connu de proies consommées pour la meute de loups. Nous avons complété la liste des carcasses de proies trouvées lors des sessions de pistage dans la neige avec les données des collections de crottes. Nous avons supposé qu'il s'agissait d'une carcasse manquée lorsque la collecte des excréments d'un certain jour contenait des poils d'une espèce différente de celle de la précédente mise à mort connue ou >0,3 jour après la précédente mise à mort connue de cette espèce (Huggard 1993b ; Jedrzejewski et al. 2002). Lors d'une expérience d'alimentation contrôlée, **Floyd et al. (1978) ont constaté que les loups déféquaient les restes de proies non digérées 8-56 h (0,3-2,3 jours) après leur consommation.** Nous avons estimé la date de défécation pour chaque excrément en nous basant sur les données de suivi des loups dans la neige et sur la fraîcheur des excréments selon Jedrzejewski et al. (2002). De cette façon, nous avons réduit la corrélation sérielle sur le contenu et rendu les données sur les excréments et les carcasses additives. Ainsi, une carcasse de proie utilisée par les loups, estimée soit par une collection d'excréments soit par une carcasse elle-même le long d'une route de déplacement des loups, a été considérée comme une unité d'échantillonnage pour cette analyse. La description du régime alimentaire utilisant cette méthode a été définie comme « l'estimation additive ». Nous avons utilisé la même procédure de Monte Carlo décrite ci-dessus pour estimer la précision relative aux différentes tailles d'échantillon de cette nouvelle approche. Nous avons estimé la « population de carcasses » utilisée par les loups dans la zone de la meute pour les 3 saisons hivernales (1999-2002) en nous basant sur le nombre de loups présents dans la meute, les poids vivants estimés des proies (Mustoni et al. 2002), une saison hivernale de 181 jours (novembre-avril), **et un taux de consommation alimentaire quotidien de 2,6 à 5,6 kg/loup.** Nous avons calculé le taux de consommation alimentaire minimal en nous basant sur le taux métabolique de terrain (FMR) dérivé de la formule de Nagy (1987) :  $FMR (kJ/jour) = 2,58W^{0,862}$ , où W est le poids corporel en grammes (Glowacinski et Profus 1997). En Italie, un loup adulte a un poids corporel moyen de 32 kg (Gazzola 2005). Les besoins énergétiques basés sur le taux métabolique de terrain s'élèvent à 19,727 kJ/jour, ce qui correspond à 2,6 kg de viande par jour pour un loup adulte (Gazzola 2005). Par conséquent, nous avons estimé un besoin alimentaire minimum par loup adulte de 2,6 kg et un besoin alimentaire maximum par loup adulte de 5,6 kg en nous basant sur l'une des estimations les plus élevées en Europe de Jedrzejewski et al. (2002).

Nous avons évalué **l'effort d'échantillonnage** pour rechercher les traces de loups et pour suivre les traces afin de collecter les crottes et les dépouilles pour chaque saison hivernale. Nous avons considéré l'effort comme des jours de travail pour une personne.

Nous avons testé l'efficacité de la méthode additive pour éliminer l'autocorrélation dans l'ensemble des données en utilisant des modèles de régression logistique à effets mixtes de données groupées, où les excréments ont été regroupés dans des collections d'excréments qui ont été échantillonnées le long de la même piste de loup ou sur un site de prédation. Nous avons analysé la présence ou l'absence de chaque espèce de proie importante dans chaque excrément en utilisant l'année et l'abondance de la proie comme variables indépendantes, et le code de la collection d'excréments comme facteur aléatoire. Une comparaison avec une analyse utilisant un modèle de régression logistique à effets fixes, qui ignorait le regroupement des données, a illustré l'importance de prendre en compte le regroupement des données. Nous avons utilisé le logiciel MIXNO pour les analyses de modèles mixtes linéaires généralisés (Hedeker 1999).

Nous avons comparé les estimations de régime alimentaire évaluées en utilisant uniquement les données sur les excréments, uniquement les données sur les animaux tués, et l'ensemble des données additives, en utilisant les tests d'indépendance du chi-carré.

**Sélection du régime alimentaire par les loups** - Nous avons comparé l'utilisation des proies évaluée par la méthode additive à la disponibilité des proies. La sélectivité des proies, la représentation non aléatoire de la nourriture disponible dans le régime observé (Chesson 1978), peut être générée à plusieurs niveaux (Huggard 1993*b*). Ici, nous avons évalué la disponibilité au niveau de la rencontre, où les loups ont déjà choisi où se déplacer en raison des complexités spatiales et environnementales. La disponibilité des proies a été évaluée le long de transects systématiques afin d'estimer les proportions relatives de proies le long des routes de déplacement utilisées par les loups (Kunkel et al. 1999). Nous avons skié deux transects de 100 m dans des directions opposées et perpendiculaires à la route de déplacement utilisée par les loups à des intervalles de 1 km. L'emplacement du 1<sup>er</sup> transect a été choisi au hasard. La distance jusqu'aux premières traces de chevreuil, de chamois, de cerf ou de sanglier sur chaque transect a été enregistrée ; la distance enregistrée était de 100 m si aucune trace n'était rencontrée. Le nombre de traces de proies localisées sur les deux transects (0, 1 ou 2 ; seule la 1<sup>ère</sup> trace sur chaque transect a été enregistrée) a été divisé par la distance à cette trace (par exemple, 1/190 si 1 trace de chevreuil a été trouvée à 90 m dans une direction et si aucune trace n'a été trouvée dans la direction opposée) pour obtenir le nombre de traces de proies par mètre. Cette valeur a été divisée par le nombre de jours depuis la plus récente chute de neige > 5 cm pour ajuster les effets des chutes de neige (Kunkel et al. 1999). Nous n'avons pas effectué de transects après que plus de 7 jours se soient écoulés depuis une chute de neige, car le dépôt de traces plafonne et les traces se détériorent après cette période (Kunkel et al. 1999).

Nous avons calculé l'indice  $\alpha$  de Manly (1974) pour chaque espèce de proie (Krebs 1998) afin d'estimer la préférence alimentaire de la meute de loups de Valle Pesio :

$$\alpha_i = (r_i/n_i) \left[ 1 / \sum_{i=1}^m (r_i/n_i) \right],$$

où  $r_i$  est la proportion de l'espèce de proie  $i$  dans le régime alimentaire ( $i = 1, 2, \dots, m$ ),  $n_i$  est la proportion de l'espèce de proie  $i$  dans l'environnement ( $i = 1, 2, \dots, m$ ), et  $m$  est le nombre d'espèces de proies possibles.

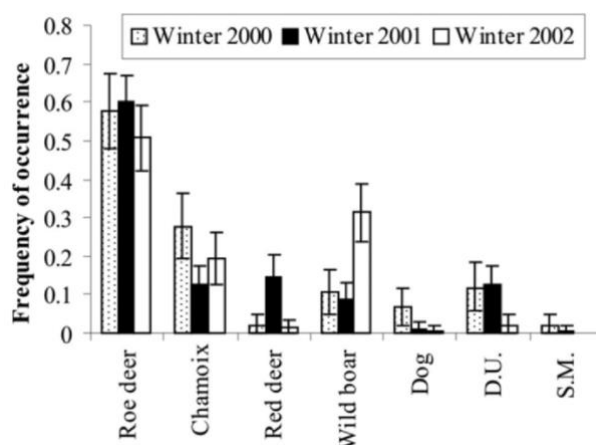
Nous avons normalisé les valeurs de  $\alpha$  afin que leur somme soit égale à 1,0. Ainsi, si la prédation n'était pas sélective,  $\alpha = 1/m$  ; si une proie était préférée,  $\alpha > 1/m$  (Manly 1974). La méthode additive nous a permis d'estimer les erreurs standard des valeurs de  $\alpha$  en suivant Manly (1974).

## RÉSULTATS

**Utilisation des proies à partir de l'analyse des excréments** - Nous avons collecté 435 excréments le long de 694,1 km de pistes de loups (112 excréments durant l'hiver 1999-2000 [hiver 00], 179 durant l'hiver 2000-2001 [hiver 01] et 144 durant l'hiver 2001-2002 [hiver 02]). En utilisant uniquement l'analyse des excréments, le régime alimentaire hivernal de la meute de Valle Pesio différait significativement d'une année à l'autre ( $\chi^2 = 74,01$ ,  $d.f. = 8$ ,  $P < 0,001$  ; Figure 2). Les ongulés sauvages (en particulier le chevreuil) constituaient la majorité du régime alimentaire au



cours de chaque hiver (Fig. 2). Au sein des espèces, le chevreuil était plus important durant l'hiver 2001, tandis que le sanglier était plus important durant l'hiver 2002.



**FIGURE 2** - Fréquence d'occurrence des aliments dans le régime alimentaire estimée à partir des données provenant uniquement des excréments de la meute de loups de Valle Pesio pendant 3 saisons hivernales (1999-2002), dans les Alpes occidentales d'Italie et de France, avec intervalles de confiance non simultanés bootstrap à 95% pour la proportion de chaque aliment dans les excréments ( $n = 435$ ). D.U. = ongulés domestiques ; S.M. = petits mammifères

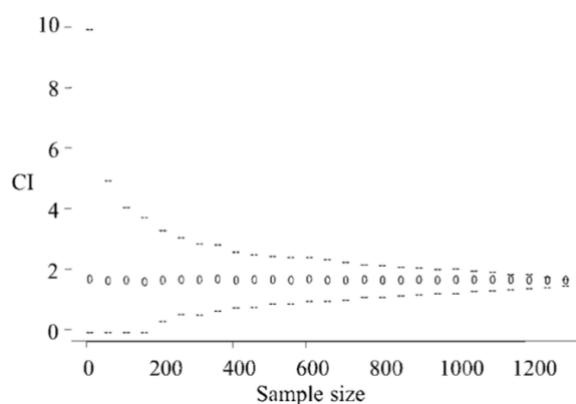
**Évaluation de la précision et des biais éventuels** - Le nombre minimum de loups par mois variait de 2 à 8, avec une moyenne ( $\pm$  SD) de  $4,8 \pm 1,6$  individus par mois (la taille des meutes était de 5 durant l'hiver 2000, 7 durant l'hiver 2001, et 5 durant l'hiver 2002). Nous avons estimé que la population totale des excréments variait de 1 510 à 3 020 pour l'hiver 2000, de 1 790 à 3 580 pour l'hiver 2001, et de 1 186 à 2 372 excréments pour l'hiver 2002. L'échantillon de 112 excréments de l'hiver 2000, 179 excréments de l'hiver 2001 et 144 excréments de l'hiver 2002 représentait 3,7-7,4%, 5,0-10,0% et 6,1-12,1% des populations d'excréments estimées respectivement.

Une plus grande taille d'échantillon d'excréments a réduit l'erreur standard et a augmenté la précision de l'estimation du régime alimentaire basée sur les données des excréments seuls pour chaque espèce de proie d'ongulé sauvage (chamois, chevreuil, cerf et sanglier) pendant chaque hiver (par exemple, Fig. 3). Si nous considérons des tailles d'échantillon de crottes  $<200$ , l'intervalle de confiance de 95% pour le cerf rouge inclut 0 pendant les hivers 2000 et 2002 (Fig. 3). L'erreur standard pour chaque espèce de proie a diminué rapidement jusqu'à ce qu'une taille d'échantillon d'environ 200 excréments soit atteinte (Fig. 4). Par conséquent, une taille d'échantillon  $> 6-16\%$  de la population des excréments devrait être collectée pour détecter les espèces proies qui ont un faible pourcentage d'occurrence ( $<2\%$ ) dans l'estimation du régime alimentaire basée sur les données des excréments seuls, comme l'a fait le cerf rouge pendant les hivers 2000 et 2002. Dans notre étude, il nous a fallu au moins un effort de 200-250 jours de travail pour y parvenir. De cette façon, la taille de l'échantillon est au-delà de la région où le changement de la pente de la fonction d'erreur standard est le plus important (Figs. 3 et 4).

Seul 1 des 150 excréments testés génétiquement n'appartenait pas à un loup (il appartenait à un renard). L'inclusion d'excréments d'espèces autres que le loup est donc trop rare pour fausser l'analyse du régime alimentaire.

**Indépendance des données - la méthode additive** - Grâce à l'analyse génétique, nous avons constaté que des excréments le long d'un même itinéraire de déplacement pouvaient appartenir au même individu ; par exemple, pendant l'hiver 2002, 4 excréments consécutifs le long du même

itinéraire de déplacement provenaient du loup F3 (tous les excréments contenaient des poils de chamois), et 3 excréments consécutifs provenaient du loup M25 (tous les excréments contenaient des poils de chevreuil). Ces excréments n'étaient pas des échantillons indépendants pour une étude de la sélection du régime alimentaire par les loups.



**FIGURE 3** - Effet de la taille de l'échantillon sur les intervalles de confiance (IC) de Monte Carlo à 95% de la fréquence d'apparition du cerf au cours de l'hiver 2000 dans les excréments des loups de la meute de Valle Pesio dans les Alpes occidentales ; l'axe vertical représente la proportion d'excréments de loups contenant des poils de l'espèce proie, pour des échantillons de taille croissante (axe horizontal)

Nous avons trouvé 51 carcasses prédatées et 4 événements de charognage le long de 694,1 km de pistes de loups. Les chevreuils représentaient la plus grande proportion des carcasses de proies au cours de chaque hiver (hiver 2000 : 0,91 ; hiver 2001 : 0,69 ; et hiver 2002 : 0,83 ; Tableau 1).

Le nombre moyen de crottes par collecte ( $\pm 1 SD$ ) était de  $3,5 \pm 2,5$  ( $n = 46$ , intervalle 1-10 ; hiver 2000 :  $2,6 \pm 1,3$ ,  $n = 16$ , intervalle = 1- 6 ; hiver 2001 :  $4,3 \pm 2,9$ ,  $n = 13$ , intervalle = 1-10 ; hiver 2002 :  $3,8 \pm 2,7$ ,  $n = 17$ , intervalle = 1-9). La méthode additive a donné un total de 27 carcasses de proies en hiver 2000, 38 en hiver 2001 et 34 en hiver 2002 (Tableau 1).

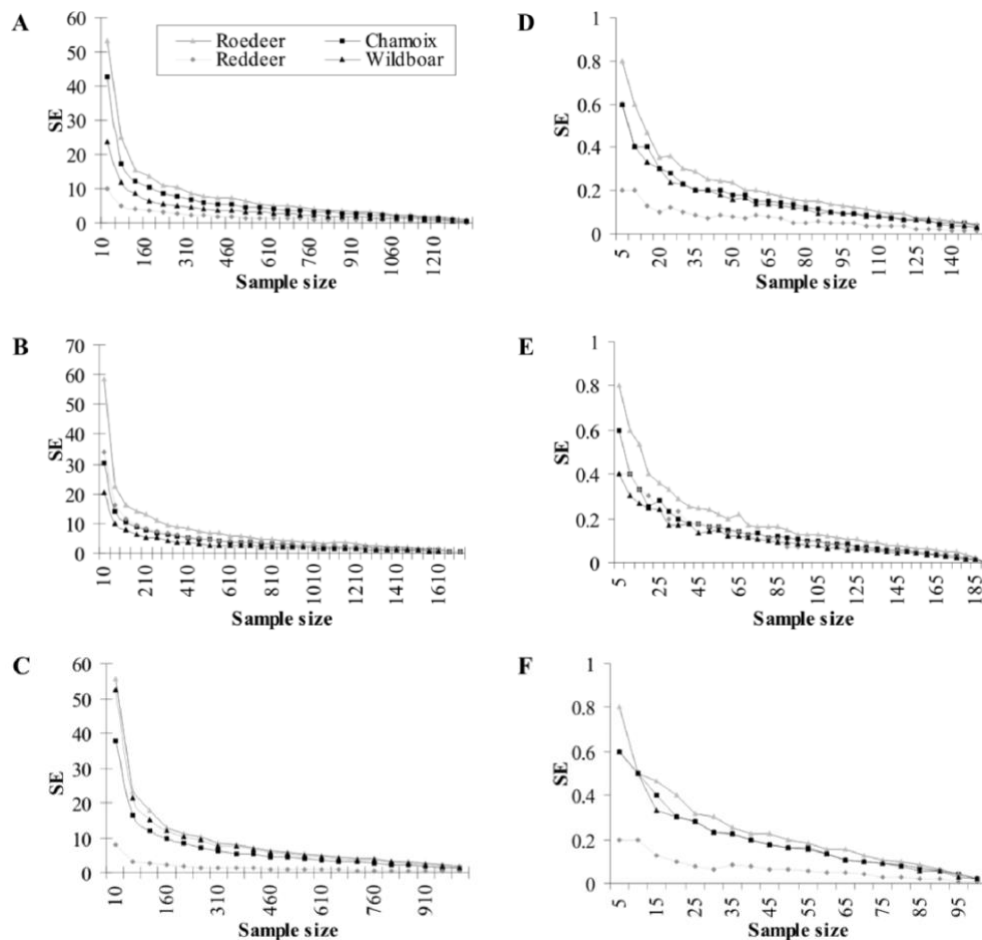
Nous avons estimé une fourchette de la population totale de carcasses dans la zone utilisée par les loups de 79 à 171 pour l'hiver 2000, de 92 à 198 pour l'hiver 2001, et de 46 à 98 pour l'hiver 2002. L'échantillon de 27 carcasses durant l'hiver 2000, 38 durant l'hiver 2001 et 34 durant l'hiver 2002 représentait 15,8-34,2%, 19,2-41,3% et 34,7-73,9% de la population de carcasses respectivement estimée.

Un échantillon de carcasses plus important a permis de réduire l'erreur standard et d'augmenter la précision des estimations de l'utilisation des proies pour chaque espèce d'ongulés sauvages (Fig. 4). **L'erreur standard pour chaque espèce de proie a diminué rapidement jusqu'à ce qu'un échantillon d'environ 20 carcasses soit atteint** (Fig. 4). Par conséquent, nous devrions collecter une taille d'échantillon supérieure à 10-40% de la population de carcasses pour détecter les cerfs rouges, ce qui nécessiterait un effort d'au moins 200-250 jours de travail.

Dans les modèles de régression mixte pour les données groupées (Tableau 2), le terme aléatoire est inclus pour tenir compte de la non-indépendance des excréments dans les collections. Le terme aléatoire, qui décrit la manière dont les excréments d'une même collection sont similaires et non indépendants par rapport à l'échantillon dans son ensemble, et la part de covariance correspondant à cette source de pseudo-réplication, est hautement significatif pour chaque espèce, à l'exception du chamois (Tableau 2). Les covariables, telles que l'année et la disponibilité des proies, ont une



importance significative selon l'espèce de proie considérée (Tableau 2). Pour chaque paramètre du modèle, les estimations de la vraisemblance marginale maximale, les erreurs standard et les valeurs  $P$  sont fournies. La valeur de vraisemblance  $2\log$  (c'est-à-dire la déviance) à la convergence est donnée ; seul le meilleur modèle est rapporté ainsi que le modèle relatif à effets fixes sans effet aléatoire (Tableau 2).



**FIGURE 4** - Erreur standard (SE) de l'occurrence de chaque espèce de proie dans le régime alimentaire des loups en fonction de la taille de l'échantillon de crottes pour **A)** l'hiver 2000, **B)** l'hiver 2001 et **C)** l'hiver 2002, et en fonction de la taille de l'échantillon de carcasses de proies utilisées par les loups, estimée par la méthode additive pour **D)** l'hiver 2000, **E)** l'hiver 2001 et **F)** l'hiver 2002, dans les Alpes occidentales

Nous avons comparé les estimations de régime alimentaire évaluées avec les 3 différents ensembles de données (seulement les excréments, seulement les animaux tués, et l'ensemble de données additives ; Tableau 1). Les estimations du régime alimentaire analysées à l'aide de la méthode additive et à l'aide des données provenant uniquement des animaux tués différaient de façon significative ( $P < 0.05$ ).

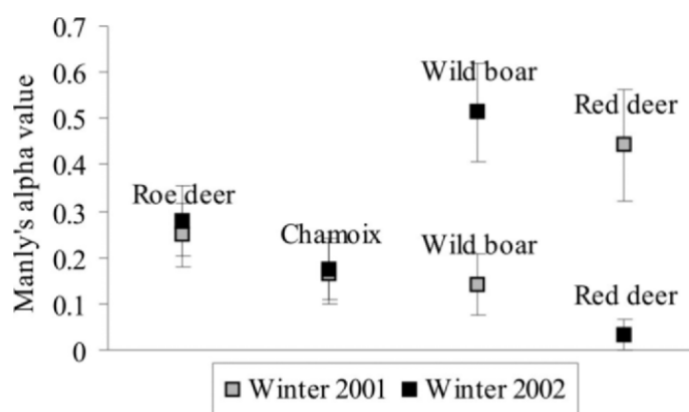
**Sélection des proies** - Comme 4 espèces de proies primaires sont présentes dans notre zone d'étude, une valeur  $\alpha$  de 0,25 indiquerait que l'utilisation reflète la disponibilité. En utilisant la méthode additive, les loups de la meute de Valle Pesio ont sélectionné le cerf rouge (Manly's  $\alpha = 0,44$ , SE = 0,12) par rapport au chamois et au sanglier durant l'hiver 01, alors que le chevreuil était consommé selon la disponibilité (Fig. 5). Durant l'hiver 02, les loups ont choisi le sanglier (Manly's  $\alpha = 0,51$ , SE = 0,11) plutôt que le chamois et le cerf élaphe, alors que le chevreuil était consommé selon les disponibilités (Fig. 5).

**TABLEAU 1** - Proportion des différentes espèces d'ongulés utilisées par les loups (estimée par la méthode additive, en utilisant les données sur les seules carcasses de proies, et les données sur les seules excréments) avec 95% bootstrap non simultané SE, dans les Alpes occidentales, en Italie et en France

	Winter	Roe deer		Chamois		Wild boar		Red deer	
		Proportion	SE	Proportion	SE	Proportion	SE	Proportion	SE
Additive	2000	0.630	0.095	0.185	0.076	0.148	0.068	0.038	0.037
	2001	0.605	0.081	0.158	0.060	0.105	0.051	0.132	0.055
	2002	0.559	0.086	0.206	0.069	0.206	0.068	0.030	0.029
Only kill	2000	0.909	0.085	0	0	0.091	0.086	0	0
	2001	0.692	0.089	0.038	0.038	0.078	0.053	0.192	0.079
	2002	0.833	0.087	0.111	0.073	0.056	0.053	0	0
Only scat	2000	0.588	0.050	0.284	0.043	0.108	0.031	0.020	0.013
	2001	0.627	0.037	0.130	0.026	0.089	0.022	0.154	0.029
	2002	0.490	0.041	0.190	0.032	0.306	0.038	0.014	0.010

**TABLEAU 2** - Résultats des modèles de régression logistique à effets mixtes et des modèles de régression logistique sans effets aléatoires utilisant l'ensemble de données additives séparément pour le chevreuil, le cerf rouge, le chamois et le sanglier, collectés pendant 3 saisons d'hiver (1999-2002), dans les Alpes occidentales. Pour chaque paramètre du modèle, les estimations de la vraisemblance marginale maximale, les erreurs standard et les valeurs *P* sont fournies. La valeur de 2log-vraisemblance (c'est-à-dire la déviance) à la convergence est donnée. Ces valeurs *P* sont bilatérales, sauf pour la variance de l'effet aléatoire pour laquelle des valeurs *P* unilatérales sont données

	Parameter	Mixed effect logistic regression model			Logistic regression model		
		Estimated	SE	<i>P</i> -value	Estimated	SE	<i>P</i> -value
Roedeer	Random intercept	15.833	4.722	0.000			
	Year	-1.801	0.571	0.002	-0.264	0.130	0.053
	Availability	-0.025	0.008	0.001	0.002	0.001	0.007
	Random effect variance	3.403	0.632	0.000			
	-2log-likelihood		324.348			456.685	
Reddeer	Random intercept	-5.271	1.942	0.007			
	Availability	0.038	0.049	0.439	-0.007	0.008	0.354
	Random effect variance	4.943	1.967	0.006			
	-2log-likelihood		76.168			185.311	
Chamois	Random intercept	-1.887	1.142	0.098			
	Year	-0.163	0.495	0.742	-0.308	0.146	0.035
	Random effect variance	2.677	0.617	0.000			
	-2log-likelihood		227.381			282.936	
Wild boar	Random intercept	-1.087	1.180	0.035			
	Year	-0.517	0.274	0.059	0.297	0.122	0.015
	Availability	-0.015	0.004	0.001	-0.019	0.003	0.000
	-2log-likelihood		257.865			258.410	



**FIGURE 5** - Sélection des proies par les loups de la meute de Valle Pesio à l'aide des valeurs  $\alpha$  de Manly (les barres d'erreur correspondent à 1 SE), dans les Alpes occidentales, en Italie et en France. L'utilisation des proies est évaluée par la méthode additive et la disponibilité des proies (proportions relatives) par le comptage des traces des espèces de proies le long des routes de déplacement utilisées par les loups

## DISCUSSION

Une estimation du régime alimentaire est souvent la première étape pour fournir le contexte nécessaire à des études plus détaillées et plus larges de l'écologie prédateur-proie (Mills 1996), mais il faut garder à l'esprit les limites de la méthode fécale. La procédure que nous avons adoptée fournit

un outil permettant d'améliorer et d'évaluer la précision du **plan d'échantillonnage** pour la collecte des excréments pour des questions spécifiques dans les études sur les habitudes alimentaires des loups et autres carnivores. Une inférence solide peut être obtenue grâce à un plan d'échantillonnage précis, à la réduction des biais et à l'augmentation de la précision (Manly 1996 ; Sheppard 1999). La combinaison d'ensembles de données provenant de collectes d'excréments avec des données collectées sur les kill-sites peut améliorer la précision des estimations de la sélection des proies ; cependant, cette approche peut conduire à des résultats erronés si les 2 ensembles de données ne sont pas compatibles et ne sont pas précis (Mills 1996).

**Biais** - Les biais et les conclusions trompeuses associés au prélèvement des excréments peuvent résulter de l'inclusion d'excréments d'espèces autres que le loup dans l'analyse, de la **non-indépendance** des données et d'une définition incorrecte de l'unité d'échantillonnage. Une approche conservatrice et **multicritères** pour différencier les excréments de loups de ceux d'autres canidés est généralement utilisée (Ciucci et al. 1996), mais des biais peuvent encore se produire en raison de l'inclusion d'excréments d'autres espèces ou du rejet de certains excréments de loups. En utilisant l'analyse génétique, nous avons détecté seulement 1 excrément de renard sur 150 échantillons d'excréments. Dans les zones où l'on trouve des excréments de loups et de chiens, le problème de l'inclusion incorrecte d'excréments d'autres espèces devrait être régulièrement évalué par un échantillonnage génétique approprié.

Des biais potentiels peuvent se produire si l'échantillonnage d'excréments sur des sites de rendez-vous, des kill-sites ou le long d'une piste ou d'un sentier entraîne une **surreprésentation** d'une espèce proie dans le régime alimentaire (Marquard-Petersen 1998 ; Scott et Shackleton 1980) en raison de la non-indépendance des échantillons d'excréments. Theberge et al. (1978) ont trouvé des proportions plus élevées de castors (*Castor canadensis*) dans les excréments provenant de sites de rendez-vous par rapport aux collections provenant d'autres zones utilisées par les loups dans le parc Algonquin, en Ontario, au Canada. Des groupes d'excréments collectés sur un kill-site peuvent également surestimer l'espèce de proie dans le régime alimentaire. Mattson et al. (1991) ont sous-échantillonné les excréments lorsque plus de 5 ont été trouvés sur un kill-site. Dans notre étude, nous avons constaté que les groupes d'excréments collectés le même jour, le long de la même piste de loup ou sur un kill-site, qui contenaient des poils provenant de la même proie, n'étaient **pas indépendants** ; par conséquent, nous avons considéré une collection d'excréments et non un seul excrément comme une unité d'échantillonnage pour éviter la **pseudo-réplication** (Hurlbert 1984).

L'utilisation de l'analyse des excréments peut être importante pour documenter la sélection du régime alimentaire ou estimer les taux de consommation ou de capture des carnivores, si l'ensemble de données est combiné avec les données des kill-sites. Cet ensemble de données final était plus significatif d'un point de vue biologique que les données provenant uniquement des excréments, car **l'unité d'échantillonnage** était la carcasse de la proie elle-même et non les excréments. La **méthode additive** est optimale dans les études sur la sélection du régime alimentaire car elle traite la question de **l'indépendance**, qui est fondamentale pour les études de sélection (Thomas et Taylor 1990). L'analyse de l'effet mixte a montré l'importance de considérer des collections et non des excréments individuels comme unités d'échantillonnage afin de minimiser le problème de la non-indépendance des excréments. La méthode additive permet également aux chercheurs d'estimer l'erreur standard de l'indice de sélection de Manly (1974). La même approche peut être adoptée en été, et dans les régions où la neige est absente, si d'autres techniques, telles que les observations directes ou le radio-tracking, sont utilisées pour recueillir des données sur les kill-sites.

Dans notre étude, les données additionnées des carcasses et des collections de crottes étaient plus représentatives que les données basées uniquement sur les carcasses. Elles représentaient un pourcentage plus élevé de la population totale des échantillons de carcasses présents dans cette zone à cette période. **En fait, le chamois était sous-représenté dans les analyses portant uniquement sur les proies tuées ; cette apparente absence de chamois était probablement un artefact de la difficulté à documenter les carcasses de chamois en terrain accidenté.** Ce problème a été pris en compte en ajoutant les résultats des collectes d'excréments dans l'ensemble final de données additives. Jedrzejewski et al. (2002) ont recommandé de compléter les analyses du contenu des excréments par des données sur les carcasses de proies dans les études sur la prédation par les loups dans les forêts denses et dans les régions où les loups consomment des ongulés de petite et moyenne taille (chevreuils et marcassins de sangliers). La méthode additive peut encore sous-estimer les petites espèces de proies si deux individus de la même espèce de proie, tués et consommés par les loups en peu de temps, sont comptés comme une seule proie s'ils ne sont récupérés que dans les collections de crottes. **De plus, il n'est pas possible de différencier les proies charognées des proies tuées avec l'analyse des excréments ; par conséquent, on détermine la consommation des proies et pas nécessairement la prédation.**

**Précision -** **Le chevreuil constituait la majorité du régime alimentaire estimé des loups au cours de chaque hiver.** Le cerf rouge et le sanglier étaient moins abondants dans l'estimation additive mais ont été sélectionnés respectivement lors des hivers 2001 et 2002, ce qui suggère un **changement** de proie. Les ongulés domestiques, principalement les chèvres et les moutons, sont apparus dans le régime alimentaire estimé des loups en hiver lorsque les données provenant uniquement des excréments ont été utilisées, en conséquence des déprédations du bétail pendant l'été. La présence de bétail dans le régime alimentaire en hiver était le résultat d'une « cache de nourriture » (Mech 1970) ou d'une récupération car aucun bétail n'était disponible pour les loups pendant la saison hivernale. Pour cette raison, nous n'avons pas pris en compte les ongulés domestiques dans l'analyse de la sélection du régime alimentaire.

Nous avons comparé la **puissance** de différentes tailles d'échantillon pour détecter chaque aliment dans les estimations du régime alimentaire, et la relation était une fonction asymptotique décroissante s'approchant de 0. La procédure de Monte Carlo que nous avons utilisée permet d'estimer l'erreur standard d'une statistique, en utilisant des échantillons répétés de l'ensemble de données original (Manly 1998). Pour traiter une population finie, telle que la population des excréments d'une meute de loups, nous avons obtenu de bonnes estimations de la précision en estimant l'erreur standard à l'aide d'échantillons répétés de l'ensemble de données original sans remplacement, en utilisant cette forme de simulation de Monte Carlo (Manly 1996). Avec des échantillons provenant de la distribution hautement non normale que l'on rencontre souvent dans les études biologiques, cette méthode a le potentiel d'être l'approche disponible la plus utile pour déterminer la taille des échantillons (Manly 1998).

Pour les petits échantillons de crottes et de carcasses, de légères augmentations de la taille des échantillons ont entraîné de fortes réductions de l'erreur standard, tandis que pour les grands échantillons, de nouvelles augmentations de la taille des échantillons n'ont pas beaucoup affecté la précision. En particulier, pour documenter avec précision les espèces de proies communes dans le régime alimentaire (comme le chevreuil dans notre étude de cas), un grand échantillon n'est pas nécessaire (<5% de la population de crottes et <10% de la population de carcasses). Le cerf rouge a été l'espèce sélectionnée durant l'hiver 2001. Le cerf représente une faible proportion du régime

alimentaire de la meute de Valle Pesio en hiver, mais il est moins abondant et moins fréquemment rencontré dans la zone d'étude que les autres espèces d'ongulés. **Malgré leur faible disponibilité, les cerfs rouges ont été sélectionnés pendant l'hiver rigoureux de 2001, lorsque la meute de loups la plus importante était présente (6-8 individus).** Okarma et al. (1995) ont documenté une corrélation positive significative entre la taille de la meute et le nombre de cerfs rouges tués en Pologne. Pour détecter les cerfs rouges en utilisant l'estimation additive, nous avons besoin d'une taille minimale d'échantillon supérieure à 10-40% de la population de carcasses. En utilisant uniquement les données des crottes, nous avons besoin d'un échantillon supérieur à 6-16% de la population de crottes. La collecte de l'ensemble de données additives n'a pas nécessité d'effort supplémentaire, et pour les deux ensembles de données, nous avons eu besoin d'au moins 200-250 jours de travail dans un hiver pour le cerf rouge. La prédation sur les espèces qui sont présentes à un faible pourcentage dans le régime alimentaire peut être importante à estimer si les espèces-proies sont sélectionnées par les prédateurs mais ont une faible disponibilité, parce que la prédation pourrait avoir un impact élevé sur ces espèces ; et si l'espèce-proie peu commune est d'un grand intérêt pour la gestion. Dans notre étude de cas, nous avons déterminé que cette analyse pour le cerf rouge ne vaut pas la peine d'être effectuée à l'avenir. Au lieu de cela, une étude approfondie axée sur la dynamique et le comportement de la population de cerfs rouges peut être justifiée pour évaluer l'impact de la prédation du loup sur cette espèce.

**Pour détecter les différences de régime alimentaire entre les meutes (ou les années), ou pour répondre à d'autres questions, un chercheur devrait évaluer la taille de l'échantillon de crottes ou de carcasses nécessaire pour un niveau de fiabilité spécifié, en tenant compte de la taille de la population de crottes ou de carcasses** (liée au nombre de loups présents dans une meute, au nombre de meutes suivies, au taux de défécation ou au taux de mortalité des loups, et à la période considérée). Nous suggérons l'utilisation de cette approche de Monte Carlo. Cette approche est fondamentale pour comparer et interpréter les résultats entre les études sur les régimes alimentaires.

**Applicabilité** - L'examen simultané du plan d'échantillonnage, de la puissance et de l'effort d'échantillonnage a permis d'évaluer les coûts et les avantages de l'utilisation de **l'approche additive** dans une étude sur la sélection du régime alimentaire des loups. En utilisant cette procédure dans d'autres études sur les régimes alimentaires des carnivores, il est possible d'évaluer les compromis entre l'augmentation de la taille de l'échantillon et l'augmentation de l'effort (en fonction d'une question de recherche spécifique), et en même temps d'éviter la pseudo-réplication. La **méthode additive** sera utile pour la plupart des grands carnivores qui consomment de grandes proies par rapport à leur taille (par exemple, le lion [*Panthera leo*] et le chien sauvage [*Lycan pictus*]), ainsi que pour les carnivores solitaires qui passent beaucoup de temps sur les kill-sites (par exemple, le lynx européen [*Lynx lynx*] - Molinari et al. 2000), produisant des groupes d'excréments hautement corrélés. Les carnivores qui consomment généralement des proies de plus petite taille produisent probablement moins d'excréments par proie individuelle, ce qui n'entraînera probablement pas de problèmes d'indépendance. D'un autre côté, il sera difficile de documenter ces proies, si la proie est si petite qu'elle sera entièrement consommée en peu de temps. Dans ces cas, la combinaison des analyses du contenu des excréments avec les données sur les carcasses de proies permettra une meilleure représentation des carcasses de proies manquées non documentées par les autres techniques. Par conséquent, la **méthode additive** peut être largement appliquée et sera utile dans une variété de situations.