




Marquage olfactif chez les loups *Canis lupus* habitant des forêts de plaine gérées en Pologne

Mammal Research
<https://doi.org/10.1007/s13364-020-00514-x>

ORIGINAL PAPER

Scent marking in wolves *Canis lupus* inhabiting managed lowland forests in Poland

Kinga M. Stępnia¹  · Natalia Niedźwiecka² · Maciej Szewczyk³  · Robert W. Mysłajek⁴ 

Received: 25 August 2019 / Accepted: 2 June 2020
© The Author(s) 2020

Résumé

Chez les loups *Canis lupus*, le marquage olfactif joue un rôle important dans la défense du territoire. En Europe, les études sur les caractéristiques du marquage olfactif chez les loups ont surtout été menées dans les montagnes ou les forêts vierges, mais comme ces zones sont caractérisées par une faible activité humaine, l'impact de l'homme sur ce comportement a été négligé. Nous avons mené une étude combinant des méthodes génétiques et une analyse de la distribution spatiale des marques de territoire des loups dans des forêts gérées de plaine à forte activité humaine. **Nous avons constaté que les marques olfactives sont déposées par tous les membres des groupes familiaux de loups.** Les loups ont marqué le plus intensivement les carrefours et leurs environs, en particulier sur les routes accessibles uniquement aux voitures à quatre roues motrices. Notre étude fournit des preuves supplémentaires que les carrefours des routes forestières jouent un rôle crucial dans le marquage olfactif des loups. Les résultats de notre étude peuvent être utiles lors d'inventaires de populations de loups basés sur la collecte de signes indirects de leur présence ou sur un échantillonnage génétique non invasif.

INTRODUCTION

La population de loups a connu un fort déclin historique, mais récemment, le rôle écologique clé du loup a été de plus en plus reconnu, ce qui a conduit à l'introduction de programmes de conservation (Mysłajek et Nowak 2015), à la création d'aires protégées (Diserens et al. 2017) et à sa réintroduction dans plusieurs endroits (Fritts et al. 1997). Par conséquent, les effectifs de loups ont augmenté tant en Europe (Chapron et al. 2014) qu'en Amérique du Nord (Phillips et al. 2004). Cette augmentation des populations de loups coïncide avec la recolonisation de paysages dominés et façonnés par l'homme (Kuijper et al. 2016). Les loups sont l'espèce de grand carnivore la plus largement distribuée avec laquelle les humains partagent le paysage (Mech et Boitani 2003). Bien que le fait de vivre à proximité des humains puisse apporter des avantages aux loups sous la forme de ressources dérivées de l'homme (Newsome et al. 2015), la peur de l'homme en tant que prédateur ultime peut avoir un impact négatif sur les grands carnivores. Le risque corrélé à la présence humaine peut avoir un impact sur les mouvements des loups, ce qui peut limiter leur comportement de chasse et d'alimentation (Berger 2007 ; Kuijper et al. 2016 ; Suraci et al. 2019). La sélection des sites de reproduction des loups est fortement influencée par la **perception du risque** envers les humains (Iliopoulos et al. 2014 ; Sazatornil et al. 2016). Dans les forêts, les loups évitent également

la présence humaine (trafic, opérations forestières) en sélectionnant temporairement des zones éloignées des hommes (Theuerkauf et al. 2003). Cela suggère que le comportement de **marquage olfactif** peut également être modifié par la présence humaine.

La conservation des loups, y compris la gestion des zones qu'ils habitent, nécessite une bonne connaissance de leur nombre et de leur distribution (Boitani et al. 2015). Malheureusement, le suivi des loups est un défi, car ils vivent en faible densité, utilisent de vastes territoires (Mysłajek et al. 2018), et les jeunes individus dispersent sur de grandes distances (Andersen et al. 2015). Les techniques modernes, comme la télémétrie, permettent une évaluation précise des paramètres de la population, mais contrairement à l'Amérique du Nord, en Europe, ces outils ne sont généralement utilisés que dans des études locales à court terme sur un nombre limité d'individus (par exemple Ciucci et al. 1997 ; Blanco et al. 2005 ; Kusak et al. 2005 ; Jędrzejewski et al. 2007 ; Mysłajek et al. 2018), à l'exception de la Scandinavie et de la Finlande (Mattisson et al. 2013 ; Kojola et al. 2018). Les différentes techniques donnent différents types d'informations : la télémétrie donne des informations sur l'utilisation de l'espace et l'activité des individus (Merrill 2002 ; Demma et al. 2007), tandis que les pièges à caméra peuvent être utilisés pour accéder à des informations sur la taille de la meute et l'utilisation de l'espace par tous les membres du groupe familial (Campos-Candela et al. 2017). Cependant, il est souvent coûteux de collecter suffisamment de données de bonne qualité à l'aide de ces techniques, et dans le cas de la télémétrie, dans les pays où les loups sont protégés par la loi (comme la Pologne), l'obtention d'autorisations pour effectuer ce type de recherche peut prendre du temps. Des méthodes moins coûteuses et plus simples de surveillance des loups au niveau du paysage sont basées sur l'enregistrement de signes indirects de leur présence, comme les sécrétions (excréments, urine) qu'ils utilisent pour la communication olfactive. Le comptage des signes a été utilisé comme un indice de l'abondance relative des grands carnivores (Llaneza et al. 2014). Les **techniques moléculaires** sont d'une importance capitale en génétique de la conservation et en écologie comportementale, et elles peuvent être ajoutées pour augmenter la puissance des efforts de suivi. Les études utilisant des techniques génétiques basées sur un échantillonnage non invasif sont de plus en plus populaires (Fabbri et al. 2007 ; Steinglein et al. 2010). Ainsi, la connaissance des modèles de marquage olfactif est cruciale pour le succès des efforts de surveillance.

Les loups marquent leur territoire à l'aide de fèces, d'urine et de sécrétions provenant de glandes situées entre les doigts et déposées lors du grattage du sol (Harrington et Asa 2003). Le marquage du territoire joue un rôle important dans la défense du territoire, la formation de couples et la synchronisation de la reproduction (Peters et Mech 1975 ; Rothman et Mech 1979 ; Harrington 1981 ; Asa et al. 1984 ; Paquet et Fuller 1990 ; Paquet 1991 ; Vilà et al. 1994). **L'intensité** du marquage olfactif varie selon les saisons et est affectée par le statut physiologique des individus et les interactions avec les congénères (Kleiman 1966 ; Peters et Mech 1975 ; Asa et al. 1990 ; Zub et al. 2003). Les loups augmentent la probabilité de détection des marques olfactives par d'autres individus en déposant des sécrétions dans des endroits bien visibles (Barja et al. 2004, 2005). Des études antérieures, menées en Amérique du Nord, ont suggéré que les loups marquent principalement les limites de leur territoire (modèle du bol olfactif, Peters et Mech 1975) ; **cependant, des résultats plus récents ont révélé que certaines des parties les plus importantes de leur territoire, par exemple le voisinage des sites de tanières, sont également marquées de manière intensive** (modèle du point chaud, Zub et al. 2003 ; Llaneza et al. 2014).

En Europe, les études sur le marquage olfactif des loups ont surtout été menées en montagne (Vilà et al. 1994 ; Barja et al. 2004, 2005, 2008*a, b* ; Martín et al. 2010 ; Llaneza et al. 2014) ou dans des forêts vierges (Zub et al. 2003), tandis que les forêts gérées, principal habitat des loups dans les plaines d'Europe du Nord (Jędrzejewski et al. 2008 ; Huck et al. 2011 ; Nowak et al. 2017), ont été négligées. Comme la présence humaine peut être le facteur prépondérant qui détermine le comportement des loups et l'utilisation de l'espace (Theuerkauf et al. 2003 ; Iliopoulos et al. 2014 ; Sazatornil et al. 2016 ; Kuijper et al. 2016 ; Suraci et al. 2019), nous avons cherché à évaluer les **modèles de marquage du territoire** des loups avec des excréments et de l'urine dans les forêts de plaine gérées de manière intensive. En suivant les études de Barja et al. (2004, 2005), nous avons émis **l'hypothèse** que les loups déposent leurs excréments et leur urine dans des endroits où ils sont plus susceptibles d'être détectés par d'autres individus, comme aux intersections de chemins forestiers ou à proximité. Nous pensons également que pour maximiser l'efficacité de leurs marquages, les loups utiliseront différents types d'intersections de routes forestières, caractérisées par une anthropopression plus faible que dans Barja et al. (2004). Il n'y a presque pas de différence entre le nombre de marquages laissés à l'intérieur des forêts, et le long des routes ou des chemins (Zub et al. 2003), donc comme les routes sont souvent utilisées par les loups, nous avons choisi de les étudier, en nous concentrant sur leur utilité dans la gestion forestière. En particulier, nous avons utilisé une nouvelle approche combinant la méthode traditionnelle d'analyse du comportement de marquage olfactif avec des techniques génétiques non invasives pour révéler le rôle du sexe et du statut social d'un individu dans le marquage du territoire.

METHODES

Zone d'étude

Nous avons mené l'étude dans la forêt de Napiwoda-Ramuki (ci-après NRF) au nord-ouest de la Pologne (53°33'40"-53°14'42"N, 20°33'23"-20°56'59"E) (Fig. 1). La région se trouve dans quatre districts forestiers (Nidzica, Szczytno, Przasnysz, Wielbark). Le terrain (1300 km²) est plat avec quelques petites collines atteignant jusqu'à 200 m au-dessus du niveau de la mer. Le climat est continental, avec une longue persistance de la couverture neigeuse (94 jours/an), et des températures moyennes en janvier et juillet de -3,1 et 16,8 °C, respectivement. Les forêts sont des peuplements commerciaux dominés par des pins sylvestres plantés relativement jeunes (principalement âgés de 40 à 80 ans) *Pinus sylvestris* (85 %), tandis que les parcelles plus humides sont principalement recouvertes d'aulnes noirs *Alnus glutinosa* (8 %).

Bien que la communauté d'ongulés de la NRF se compose de quatre grandes espèces d'herbivores, dont l'élan *Alces alces*, le cerf élaphe *Cervus elaphus*, le chevreuil *Capreolus capreolus* et le sanglier *Sus scrofa* (Borowik et al. 2013), les loups de cette région s'attaquent principalement au chevreuil et au sanglier, avec comme nourriture supplémentaire le lièvre brun et le castor d'Eurasie (Jędrzejewski et al. 2012). Les loups qui habitent la NRF appartiennent à la population de loups de la Baltique, qui est à l'origine de la population de loups d'Europe centrale qui se reconstitue actuellement dans l'ouest de la Pologne, en Allemagne, dans l'ouest de la République Tchèque, aux Pays-Bas et au Danemark (Czarnomska et al. 2013 ; Szewczyk et al. 2019). La zone d'étude est occupée par trois meutes de loups (Geldoń et al. 2015, K.M. Stepniak unpubl.). La zone est également peu habitée par le lynx eurasiens *Lynx lynx* (Niedzialkowska et al. 2006). La zone d'étude englobe l'ancienne zone d'entraînement militaire « Muszaki », et en raison de leur utilisation commerciale, les forêts locales sont entrecoupées par un réseau dense de routes de gravier et de terre. Cependant,

l'utilisation des routes administrées par le service forestier de l'État est principalement limitée aux opérations forestières, et l'accès public est restreint.

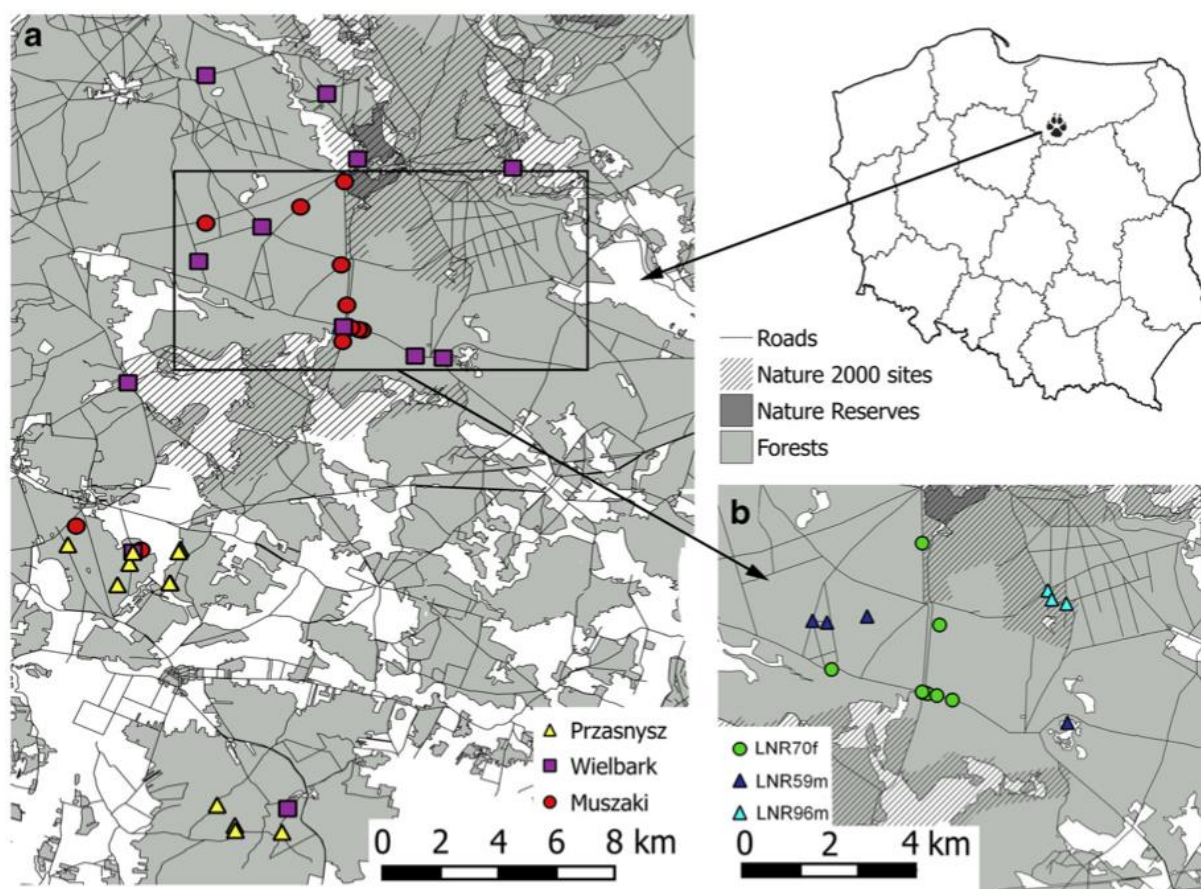


Fig. 1 Carte de la zone d'étude. **a** Emplacement des marques olfactives laissées par des loups génétiquement assignés à trois groupes familiaux locaux, appelés Przasnysz (triangles jaunes), Wielbark (carrés violets) et Muszaki (cercles rouges). **b** Emplacement des marques olfactives laissées par des loups qui n'ont été assignés à aucun groupe familial (c'est-à-dire des flottants putatifs), une femelle appelée LNR70f (cercles verts) et deux mâles LNR59m et LNR96m (cercles bleu foncé et bleu clair, respectivement)

Analyse génétique

Nous avons effectué des analyses génétiques pour évaluer le sexe, le nombre et les relations génétiques des loups en utilisant l'ADN isolé à partir d'échantillons non invasifs. Seuls les échantillons dont l'ADN était de qualité suffisante (101 crottes et 20 urinations) ont été utilisés dans ces analyses. Les échantillons ont été collectés durant l'hiver, de décembre 2016 à mars 2018. En raison du faible nombre de jours avec une couverture neigeuse pendant la période d'étude, les possibilités de trouver des échantillons d'urine étaient limitées.

Nous avons conservé des fragments de 3-4 cm de crottes fraîches dans des tubes en plastique (30 ml) remplis d'alcool éthylique à 96 %, tandis que l'urine a été collectée avec la neige sur laquelle elle a été laissée et placée dans des tubes en plastique de 50 ml contenant 30 ml d'alcool éthylique à 96 % et 1,5 ml d'acétate de sodium 3 M.

Nous avons isolé l'ADN des échantillons fécaux à l'aide du mini kit Exgene™ Stool DNA (GeneAll, Corée) et celui de l'urine à l'aide du micro-kit Exgene™ Genomic DNA (GeneAll, Corée) en suivant les instructions du fabricant. Chaque extrait d'ADN a été amplifié trois fois dans des réactions PCR. Pour réduire le risque de contamination, nous avons effectué les extractions

d'ADN dans une salle dédiée au traitement des échantillons non invasifs. Nous avons inclus des contrôles négatifs dans chaque ensemble d'extraction afin de surveiller la contamination.

Nous avons amplifié les **microsatellites autosomiques** non liés suivants, précédemment utilisés par les membres du Central European Wolf Consortium pour étudier la génétique des populations de loups (de Groot et al. 2016) : PEZ17 (Neff et al. 1999), CPH5 (Fredholm et Wintero 1995), vWF (Shibuya et al. 1994), FH2001, FH2010, FH2017, FH2137, FH2088, FH2096, FH2097, FH2140, FH2054, FH2161 (Francisco et al. 1996). Nous avons également amplifié les fragments de l'intron 6 du DBX et de l'intron 7 du DBY pour déterminer le sexe des individus. Nous avons réalisé des PCR multiplex dans une solution de 10 µl contenant le mélange maître HotStarTaq (Qiagen), chaque amorce à une concentration de 0,2 µM, 0,2 mg/ml de BSA et 3,8 µl d'isolat d'ADN. Les réactions d'amplification ont été réalisées dans un thermocycleur Peltier MJResearch Dyad PTC-220 (BioRad) (pour plus de détails, voir Lesniak et al. 2017). Les produits des réactions PCR ont été analysés sur un analyseur d'ADN ABI3130 (Life Technologies, États-Unis) et la taille des fragments a été déterminée à l'aide du PeakScanner (Applied Biosystems, États-Unis). Chaque échantillon de crotte a été amplifié au moins trois fois par une approche à tubes multiples (Taberlet et al. 1996). Nous avons accepté les allèles confirmés par un minimum de deux amplifications PCR indépendantes, et dans les analyses suivantes, nous avons inclus uniquement les individus pour lesquels neuf loci ou plus avaient été amplifiés avec succès. Nous avons évalué la parenté des individus en utilisant un logiciel d'analyse de la filiation à partir de marqueurs génétiques co-dominants tels que les microsatellites : Cervus (Kalinowski et al. 2007) et Colony (Jones et Wang 2010).

Évaluation des modèles de marquage olfactif

Nous avons mené des études sur le marquage olfactif des loups de décembre 2016 à mars 2017. Au cours de cette période, nous avons réalisé 18 transects, d'une longueur totale de 110,93 km (I) et vérifié les intersections forestières 436 fois (C) (Tableau 3). Nous avons inspecté 5,34 km de carrefours, 30,56 km de périphéries de carrefours et 352,36 km de routes. Lorsque nous avons contrôlé plusieurs fois le même carrefour, seuls les marquages déposés après notre dernier contrôle ont été considérés comme de nouveaux marquages. La largeur moyenne (W) des routes était de 3,5 m. Les emplacements des marques olfactives (crottes et urinations) des loups ont été enregistrés à l'aide d'un appareil GPS portatif (GPSMAP 64st, Garmin, USA). Une description de l'environnement de chaque marquage a été faite en utilisant les paramètres suivants (Fig. 2) : (1) emplacement du marquage : sur la route, sur un croisement ou à la périphérie d'un croisement ; (2) distance entre le marquage et la limite de l'intersection ; (3) facilité de conduite : **type 1** (croisement élevé, facile) - route sans obstacles, facilement accessible pour tout type de voiture, **type 2** (croisement moyen, moyen) - route avec de petits obstacles qui rendent la conduite plus difficile pour une voiture à deux roues motrices, **type 3** (croisement bas, difficile) - route traversable uniquement avec un véhicule à quatre roues motrices ; et (4) type d'intersection. Lorsque les intersections étaient composées de routes ayant des capacités de conduite différentes, elles étaient classées selon la route la moins praticable. Nous avons également divisé les intersections en type 1 (simple) avec un maximum de trois routes de sortie, et type 2 (multiple) avec quatre, cinq ou six routes de sortie. Nous avons supposé qu'un « carrefour » (Fig. 2) était un carré dont la longueur des côtés était égale à la largeur moyenne des routes. Nous avons calculé la superficie totale des carrefours étudiés à l'aide de la formule $T_c = W^2 \times \Sigma C$. La zone comprise entre la limite d'un carrefour et une distance de 30 m a été définie comme la « périphérie d'un carrefour ». Nous avons divisé cette zone en trois parties : 0-10 m, 11-20 m et 21-30 m du bord du carrefour. Nous avons

calculé la surface totale à l'aide de la formule $T_s = W \times \Sigma S \times L$. La zone située en dehors des carrefours et de leurs périphéries a été classée dans la catégorie « route ». La formule pour ce calcul était $T_r = T_t - (T_c + T_p)$. Nous avons calculé la surface totale étudiée avec la formule $T_t = T \times 3,5$. Nous avons toujours étudié la totalité de la zone des carrefours, des périphéries de carrefours et des routes. Pour faciliter les comparaisons, toutes les formules de calcul de la superficie et des catégories d'aptitude à la conduite sont inspirées de Barja et al. (2004).

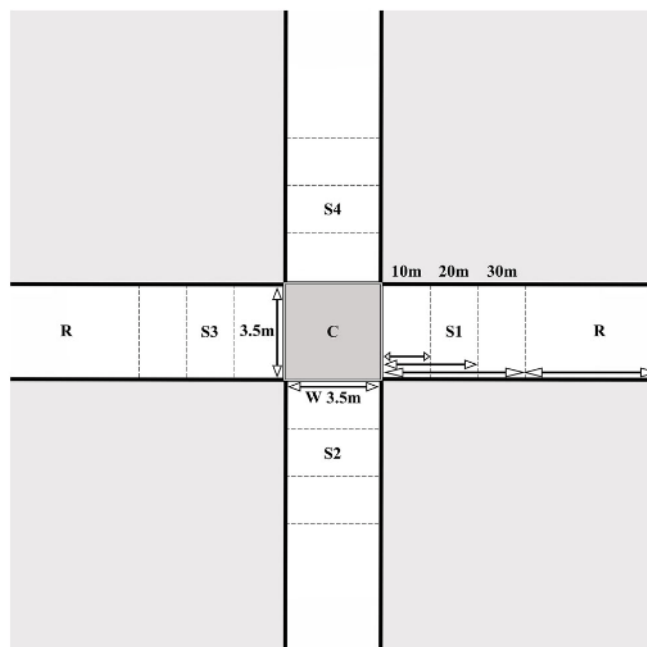


Fig. 2 Description d'un carrefour de routes forestières. La zone grise indique la surface du carrefour, la zone lignée la surface de la périphérie du carrefour et la zone blanche les routes ; S_n est le nombre de routes quittant le carrefour

RESULTATS

Population de loups dans la zone d'étude

Nous avons identifié génétiquement 25 loups dans la zone d'étude : 17 mâles et 8 femelles, qui ont laissé respectivement 34 et 23 marques (Tableau 1). Nous avons obtenu 2,0 échantillons par mâle ($\chi^2 = 0,468$, $df = 1$, $P > 0,05$) et 2,9 échantillons par femelle ($\chi^2 = 1$, $df = 1$, $P > 0,05$), mais il n'y avait aucune différence statistique entre le nombre d'échantillons et les valeurs attendues. Nous avons trouvé trois groupes hautement apparentés (groupes Wielbark, Przasnysz et Muszaki) et plusieurs individus qui n'étaient apparentés à aucun des trois membres du groupe familial, probablement des floteurs (Fig. 1b). Dans le groupe Wielbark, nous avons identifié sept individus, dont le mâle reproducteur et six de ses descendants. Dans le groupe Przasnysz, nous avons identifié six individus, dont le couple reproducteur et quatre de ses descendants. Dans le groupe Muszaki, nous avons identifié sept individus, dont la femelle reproductrice et six de ses descendants (Tableau 1).

Le plus grand nombre de marques a été laissé par deux individus non liés à l'un ou l'autre des groupes identifiés - la femelle LNR70F et le mâle LNR59M (Tableau 2). En hiver 2017, la femelle LNR70F a laissé 11 marques sur l'une des plus grandes routes et sur l'un des plus grands carrefours de la zone d'étude - principalement de l'urine avec du sang, ce qui suggère qu'elle était en chaleur. Au même moment, LNR59M a laissé cinq marques, également de l'urine, près des marques de LNR70F. Nous avons identifié trois autres individus non apparentés - le mâle 132M qui a laissé un

excrément sur le territoire du groupe Przasnysz et deux autres, LNR85M et LNR96M - tous deux marqués à l'urine près des marques de LNR70F.

Tableau 1. Nombre de marques fluorescentes laissées par les individus identifiés par l'analyse de 13 loci microsattélites

Family	Individual	Sex	Number of m. w. scats	Number of m. w. urine
Muszaki	LNR36F*	Female	1	0
Muszaki	LNR60M	Male	1	4
Muszaki	LNR102F	Female	1	0
Muszaki	LNR144M	Male	1	0
Muszaki	LNR111M	Male	2	0
Muszaki	LNR52F	Female	1	0
Muszaki	LNR108M	Male	1	0
Total	7	3F/4M	8	4
Przasnysz	LNR46M*	Male	2	0
Przasnysz	LNR34F*	Female	1	0
Przasnysz	LNR49F	Female	2	0
Przasnysz	LNR119M	Male	2	0
Przasnysz	LNR129F	Female	3	0
Przasnysz	LNR48M	Male	2	0
Total	6	3F/3M	12	0
Wielbark	LNR69M*	Male	1	0
Wielbark	LNR151M	Male	3	0
Wielbark	LNR76M	Male	0	2
Wielbark	LNR98F	Female	3	0
Wielbark	LNR130M	Male	1	0
Wielbark	LNR49M	Male	1	0
Wielbark	LNR127M	Male	1	0
Total	7	1F/6M	10	2
unknown	LNR70F	Female	3	8
unknown	LNR59M	Male	1	4
unknown	LNR96M	Male	1	0
unknown	LNR85M	Male	0	3
unknown	LNR132M	Male	1	0
Total	5	1F/4M	6	15

Un symbole d'étoile (*) indique l'individu reproducteur le plus probable. La relation entre les individus et leur statut dans le groupe familial a été déterminée dans les logiciels Cervus (Kalinowski et al. 2007) et Colony (Jones et Wang 2010).

Tableau 2. Nombre de marques, fréquences attendues et observées des marques de loup laissées par des individus apparentés et non apparentés

	Number of individuals	Markings		Frequency	
		Scat	Urine	Observed	Expected
Related	20	30	6	36	45.6
Unrelated	5	6	15	21	11.4
Total	25	36	21	57	57

Emplacements des marquages de loups

Nous avons inspecté 436 intersections de forêts et seulement **26 %** ($n = 112$) d'entre elles étaient marquées. Au total, nous avons trouvé 130 marquages. Leur densité (n/km^2) était la plus élevée à la périphérie des carrefours (3,4 échantillons, moy. = 5,61, SE \pm 0,19), moyenne sur les carrefours (1,5, moy. = 0,44, SE \pm 0,45) et la plus faible sur les routes (0,15, moy. = 1, SE \pm 0,10). La densité totale des marquages aux carrefours et à leur périphérie (ces catégories ont été combinées en raison du petit nombre d'échantillons) était beaucoup plus importante ($\chi^2 = 840,1951$, $df = 2$, $P < 0,001$) que la valeur attendue, tandis que la densité des marquages sur les routes était significativement plus faible ($\chi^2 = 83,8824$, $df = 2$, $P < 0,001$) (Tableau 3). Nous avons trouvé un nombre de marquages significativement plus élevé que prévu aux intersections multiples (56 marquages sur

186 carrefours étudiés) ($\chi^2 = 19,185$, $df = 1$, $P < 0,001$). Aux intersections simples, le nombre de marquages était plus faible que prévu (19 marquages sur 252 carrefours étudiés) ($\chi^2 = 13,002$, $df = 1$, $P < 0,001$).

Tableau 3. Fréquences attendues et observées des marquages de loups dans les deux types de zones : carrefours avec leurs périphéries et routes

	Frequency		Kilometres Surveyed
	Observed	Expected	
Crossroads (T_c) and periphery of crossroads (T_s)	112	12.02	35.89
Roads (T_r)	18	117.98	352.36
Total (T_t)	130	130	388.25

Les plus marqués étaient les carrefours avec une motricité moyenne (56 marquages sur 213 carrefours). La fréquence des marquages sur ce type de carrefour était plus élevée que prévu ($\chi^2 = 10,19$, $df = 1$, $P < 0,001$). En revanche, sur les carrefours à faible motricité, la fréquence de marquage était plus faible que prévu ($\chi^2 = 10,42$, $df = 1$, $P < 0,001$). Pour le type à forte motricité, nous n'avons pas trouvé de différence statistique entre les fréquences attendues et observées ($\chi^2 = 0,08$, $df = 1$, $P > 0,05$). De plus, ce type d'intersection était le moins fréquemment marqué (Fig. 5).

Les marquages n'ont pas été déposés au hasard. Leur nombre diminuait avec la distance de la bordure des carrefours : 65 % ont été déposés entre 1 et 10 m de la frontière, 28,2 % entre 10 et 20 m et seulement 6,3 % entre 20 et 30 m (Fig. 3). Séparément, la plupart des marques d'urine se trouvaient entre 1 et 10 m (73 %), puis 16,1 % entre 10 et 20 m et 10,9 % entre 20 et 30 m. Le nombre de marques d'excréments diminuait également avec la distance : 62,1% se trouvaient entre 1 et 10 m, 34,5 % entre 10 et 20 m et seulement 3,4 % entre 20 et 30 m (Fig. 4).

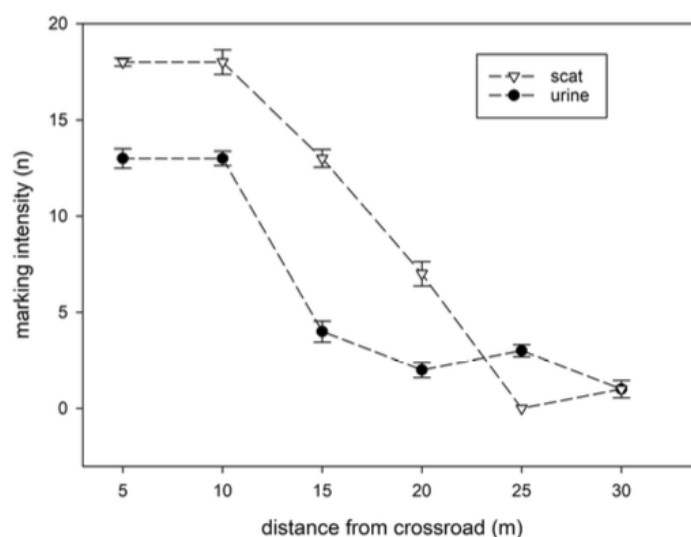


Fig. 3 Distance et densité de tous les types de marquage olfactif à la périphérie d'un carrefour

Les 20 individus apparentés ont laissé en tout 36 marques (1,8 marque/individu), tandis que les 5 individus non apparentés ont laissé en tout 21 marques (4,2 marques/individu) (Fig. 5). Nous avons trouvé une différence statistique dans le taux de marquage entre les fréquences attendues et observées chez les individus apparentés et non apparentés ($\chi^2 = 10,746$, $df = 1$, $P < 0,05$) (Tableau 2).

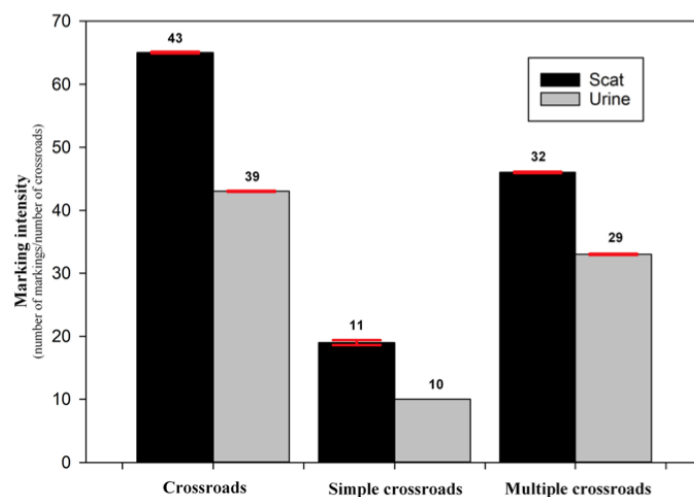


Fig. 4 Intensité du marquage (nombre de marquages/nombre de carrefours) avec des excréments et de l'urine sur tous les carrefours marqués, les carrefours simples et les carrefours multiples. Les moyennes (\pm SE) sont basées sur le nombre de marquages olfactifs trouvés sur chaque type de carrefour. Le nombre de carrefours est indiqué en haut de la colonne

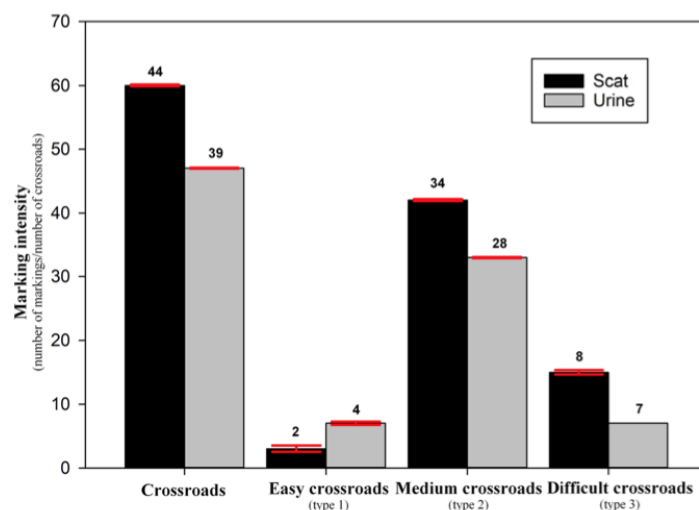


Fig. 5 Intensité du marquage (nombre de marques/nombre de carrefours) avec des excréments et de l'urine sur tous les carrefours marqués à l'odeur, type 1 (carrefour facile, grande facilité de conduite), type 2 (carrefour moyen, facilité de conduite moyenne) et type 3 (carrefour difficile, faible facilité de conduite). Les moyennes (\pm SE) sont basées sur le nombre de marquages olfactifs trouvés sur chaque type de carrefour. Le nombre de carrefours est indiqué en haut de la colonne

DISCUSSION

Peters et Mech (1975) ont révélé que chez les loups, le marquage olfactif territorial est effectué principalement par le couple parental, tandis que les autres membres des groupes familiaux jouent un rôle mineur. Notre étude confirme cependant que **tous** les membres des groupes familiaux de loups laissent des excréments et de l'urine sur les routes. Nous sommes conscients que toutes les défécations et les urinations ne sont pas laissées pour servir de marques olfactives. Néanmoins, l'accumulation d'excréments et d'urine provenant d'individus différents mais apparentés constitue en soi une information claire sur la force du groupe et peut dissuader les intrus potentiels. Lors d'interactions agressives entre des groupes familiaux de loups voisins, les chances qu'une meute déplace son adversaire sont grandement améliorées par sa taille (Gese 2001), et les groupes comptant plus d'individus âgés ou de mâles adultes ont plus de chances de l'emporter même en cas de désavantage numérique (Cassidy et al. 2015). Les marques olfactives peuvent indiquer l'identité des individus, y compris des informations sur le statut sexuel et l'âge (Johnson 1973) ; **ainsi, les**

intrus qui découvrent les excréments et l'urine de **divers** individus peuvent également acquérir des informations sur le nombre et la composition du groupe qui habite un territoire donné, ce qui leur permet d'évaluer leurs chances de gagner lors d'éventuelles rencontres agressives.

Chez les carnivores, la fréquence du marquage varie en fonction du statut reproductif de l'individu, étant la plus intense pendant la saison des amours (Macdonald 1980). Nos observations montrent une fréquence élevée de marquage chez une femelle présentant des signes de chaleur, c'est-à-dire une femelle avec du sang œstral dans l'urine. **Cette femelle n'était apparentée à aucun des groupes familiaux de loups vivant dans la zone d'étude, et présentait néanmoins un taux élevé de marquage olfactif (urine avec du sang), ce qui peut suggérer qu'elle recherchait un mâle pour former un couple** (Russell, Rothman et Mech 1979). Au même moment, trois mâles non apparentés ont laissé des marques près de la sienne, ce qui suggère qu'elle a pu être la raison de ce comportement. La différence entre les taux de marquage des résidents à part entière des territoires et des loups non apparentés était statistiquement significative ; cependant, la majorité des marquages non apparentés ont été laissés par seulement deux individus. Les meutes de loups sont généralement composées d'unités familiales comprenant un couple accouplé et leur progéniture d'un an ou plus (Mech et Boitani 2003). Les individus qui ne présentaient aucune relation génétique avec les familles identifiées ont été considérés comme des loups flottants. **Les loups flottants peuvent être de vieux animaux qui ont quitté leur ancienne meute ou de jeunes individus dispersés qui tentent d'acquérir leurs propres territoires** (Mech et Boitani 2003). **Néanmoins, ils représentent un tampon reproducteur important, car ils peuvent facilement remplacer les pertes de reproducteurs familiaux résidents** (Fuller et al. 2003). Par conséquent, il est difficile d'évaluer si ce comportement est spécifique à tous les flotteurs ou seulement à ces individus particuliers. D'autres études sont nécessaires pour explorer cette question.

Notre étude confirme les suggestions antérieures (Peters et Mech 1975 ; Vilà et al. 1994 ; Barja et al. 2004 ; Zub et al. 2003) **selon lesquelles les carrefours forestiers et leurs environs immédiats jouent un rôle crucial dans le marquage olfactif des loups, comme chez d'autres canidés** (Barja et al. 2001 ; Barja et List 2014) ; cependant, elle a également mis en évidence l'impact possible d'une présence humaine plus importante sur le comportement des loups dans les paysages plus anthropiques. Dans la forêt de Ramuki-Napiwoda, trois facteurs importants ont influencé l'intensité du marquage : la distance par rapport au carrefour, le nombre de routes partant du carrefour et la praticabilité des routes. Il y avait plus de chances de trouver les deux types de marquage à proximité (entre 0 et 10 m) des carrefours, et ce jusqu'à 20 m d'un carrefour pour les urines et jusqu'à 25 m pour les défécations. Puisque les loups recherchent activement les marques lorsqu'ils entrent dans les carrefours (Barja et al. 2004), cette relation semble être logique, puisque les marques laissées près de la jonction des routes auront une plus grande probabilité d'être détectées que celles laissées plus loin. Les loups utilisent volontiers les chemins de terre pour faciliter leurs déplacements (Bojarska et al. 2020), ce qui augmente leur taux de recherche de proies (Whittington et al. 2011 ; Dickie et al. 2017). **Ainsi, un marquage plus intensif de plusieurs carrefours maximise l'efficacité de leur communication olfactive.** Le taux d'un marquage dépend également du type de carrefour. Un nombre significativement plus élevé de marquages a été trouvé aux carrefours de routes praticables uniquement avec des voitures à quatre roues motrices (type 2). L'intensité plus élevée du trafic sur les routes de meilleure qualité augmente probablement la probabilité que les marquages soient détruits. Cela peut également expliquer pourquoi, sur les carrefours de routes très praticables (type 1), nous avons trouvé peu de traces en général et une fréquence plus élevée de marques d'urine par rapport aux traces.

Il existe des différences entre les parties du territoire des loups qui sont le plus souvent marquées entre notre étude et les zones d'étude en Espagne (Barja et al. 2004) et dans la forêt primaire de Bialowieza (Zub et al. 2003). En Espagne, le plus grand nombre d'excréments a été laissé sur les carrefours, tandis que dans la forêt primaire de Bialowieza et dans notre étude, l'intensité de marquage la plus élevée (excréments et urine) a eu lieu à la périphérie des carrefours. Cette variation peut être le résultat du nombre plus faible de carrefours/km dans l'étude de Barja et al. (2004) (0,12 carrefour/km) comparé à 1,12 carrefour/km dans notre zone d'étude. De plus, la comparaison du nombre de marquages/km sur les carrefours et les périphéries de carrefours et de routes en Espagne (8,3, 1,67 et 0,15, respectivement ; 10,12 au total) avec ceux observés dans notre étude (1,5, 3,4 et 0,15, respectivement, 5,05 au total) suggère que les loups étudiés par Barja et al. (2004) faisaient l'objet d'un marquage 2 fois plus intensif que les loups habitant les forêts de plaine gérées en Pologne. En général, les résultats de notre étude sont concordants avec ceux de Barja et al. (2004) car dans les deux zones, les loups préfèrent déposer leurs marquages sur les carrefours des routes forestières ou dans leur proche voisinage. De manière plus détaillée, nous pouvons constater un dépôt plus important de marques en périphérie contrairement à Barja et al. (2004), mais toujours à proximité du carrefour. Cela peut indiquer une adaptation comportementale des loups qui vivent dans des zones à forte présence humaine, où les excréments en périphérie ont plus de chance d'être trouvés par d'autres individus et moins de chance d'être détruits par les véhicules. Au contraire, certains de nos résultats contrastent avec ceux de Bojarska et al. (2020) qui ont rapporté qu'une majorité d'excréments et une minorité de marques d'urine ont été trouvées sur des routes à fort trafic, ces routes forestières à fort trafic offrant la plus grande probabilité de trouver des excréments de loups. Il est donc possible que d'autres facteurs, tels que la présence de différentes meutes de loups, le relief ou les modèles comportementaux hérités des groupes familiaux natals, soient plus importants pour les loups dans le maintien des territoires et que la présence humaine joue un rôle mineur. Les schémas de marquage olfactif des loups sont encore mal compris, et il est donc nécessaire de poursuivre les recherches.

En plus de fournir un aperçu des modèles de marquage de territoire, les résultats de notre étude sont utiles pour le suivi des populations de loups basé sur la collecte de signes indirects de présence de loups ou d'échantillons génétiques non invasifs (Reinhardt et al. 2015). Lors du travail de terrain, une attention particulière doit être accordée aux intersections de chemins forestiers, qui servent de points chauds de marquage. **En raison de la plus grande activité des loups aux carrefours, ils constituent également un bon endroit pour installer des pièges à caméra.** Une telle approche semble être la plus rentable pour obtenir des données précieuses sur la présence des loups dans les forêts gérées caractérisées par une forte densité de routes forestières.