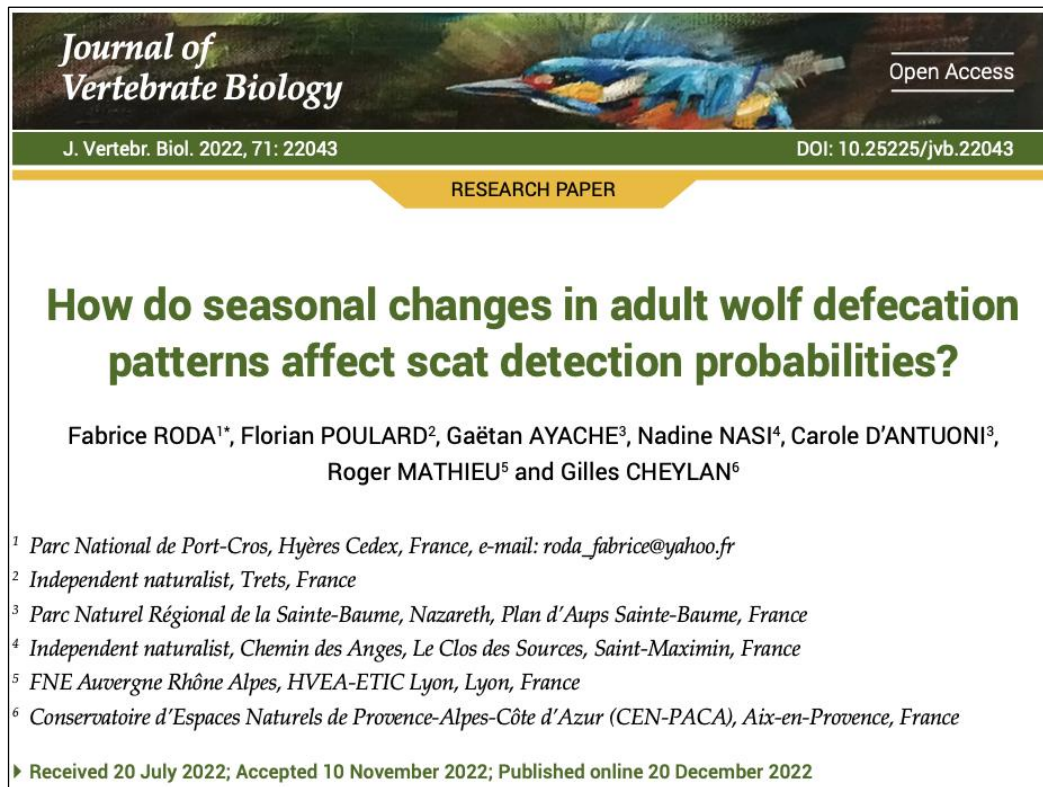


Comment les changements saisonniers dans les habitudes de défécation des loups adultes affectent-ils les probabilités de détection des excréments ?



Résumé

Les loups sont en train de recoloniser leur aire de répartition historique en France. La collecte d'excréments est une méthode d'enquête **non invasive** largement utilisée pour surveiller la taille des populations de loups. Cependant, les changements saisonniers dans les modèles de dépôt fécal des loups peuvent affecter les résultats des enquêtes. Nous avons utilisé un chien de détection et le piégeage par caméra (CI) pour comparer la **délectabilité** des excréments de loups en hiver et pendant la saison d'allaitement. Nous avons collecté 113 excréments déposés par des loups adultes sur 29 sites de marquage sur des routes forestières dans le parc régional de la Sainte-Baume, en Provence, France. Après la parturition, le nombre moyen d'excréments de loups adultes a augmenté de 160% à l'intérieur du territoire d'allaitement et a diminué de 80% en dehors de celui-ci. Au moment de la naissance des petits, les changements dans les modèles de dépôt fécal des adultes font qu'il est plus facile de trouver des excréments autour de la tanière du loup (87% de probabilité par site de marquage du loup) et plus difficile de trouver des excréments en dehors du territoire d'allaitement (11% de probabilité). En **hiver**, les chances de trouver des excréments sont égales (38 à 40% de probabilité par site de marquage) à l'intérieur et à l'extérieur du territoire d'allaitement. L'utilisation combinée d'un chien de détection et de pièges à caméra nous a permis de recueillir des données sur les habitudes de défécation des loups de manière non invasive. La **délectabilité** des excréments des loups adultes pendant la saison d'allaitement est très variable par rapport à l'hiver en raison des changements comportementaux saisonniers qui affectent la localisation des excréments. Nous concluons que les enquêtes visant à collecter des échantillons et à estimer la taille de la population de loups devraient être menées exclusivement en hiver pour éviter les biais d'échantillonnage.

INTRODUCTION

Les loups recolonisent actuellement certaines parties de leur aire de répartition historique en France, après la première confirmation officielle de la présence de l'espèce au début des années 1990 dans les Alpes françaises (Peillon & Carbone 1993, Valière et al. 2003, Ciucci et al. 2009, Louvrier et al. 2018a). Le suivi des grands carnivores tels que les loups est exigeant car ils sont nocturnes, insaisissables, très mobiles et se retrouvent en faible densité sur de vastes territoires (Long et al. 2012, Ausband et al. 2014). Entre 2009 et 2012, quatre louveteaux ont été équipés de colliers émetteurs dans le sud-est de la France. Aucune n'a survécu plus de cinq mois après l'intervention humaine (Anceau et al. 2015). En raison de ces échecs, il n'existe actuellement aucun programme de suivi des loups radio-équipés, et le gouvernement français est réticent à autoriser la capture et le radio-pistage des loups. Actuellement, un modèle de « capture-marquage-recapture » (CMR) basé sur la collecte d'échantillons génétiques à partir d'excréments est utilisé par les autorités françaises pour estimer la taille de la population et les taux de survie (Duchamp et al. 2012). Les méthodes d'enquête non invasives pour les carnivores sont couramment utilisées (Long et al. 2007a, b, 2012, MacKay et al. 2008), et la combinaison du piège caméra (CT) et de l'échantillonnage génétique des excréments offre souvent une plus grande efficacité pour le suivi des carnivores qu'une technique d'enquête employée seule (Karanth et al. 2006, Long et al. 2007a, Mattioli et al. 2018) ; en plus de ces méthodes non invasives, un nouveau champ de recherche prometteur est basé sur les caractéristiques de la **structure** des hurlements des loups (Hennelly et al. 2017). Les crottes de loups sont ainsi collectées de **manière opportuniste** dans les Alpes françaises par un réseau d'observateurs de terrain supervisé par l'Office Français de la Biodiversité et constituent la principale source d'échantillons génétiques (600-700 chaque année), avec les carcasses de loups abattus légalement. La collecte des excréments de loups a lieu principalement en hiver, car la couverture neigeuse dans les Alpes françaises facilite la détection des signes de présence des loups. Cependant, le ramassage des excréments est plus difficile dans les zones nouvellement colonisées en dehors des montagnes alpines car les épisodes neigeux peuvent être rares. Par conséquent, les échantillons génétiques provenant des territoires français nouvellement colonisés sont limités.

Les autorités françaises ont récemment relevé ce défi en utilisant une équipe de chiens pour trouver des excréments de loups et fournir des informations sur la distribution et l'abondance relative des loups dans les zones nouvellement colonisées ; **l'utilisation d'un chien de détection a considérablement amélioré le suivi génétique des loups et a permis un gain de temps de 99,6% par rapport au suivi effectué par des observateurs humains formés** (Roda et al. 2020). Au cours des deux dernières décennies, les défenseurs de l'environnement ont utilisé l'extraordinaire sens de l'odorat des chiens domestiques pour localiser divers échantillons dans une variété d'habitats et de nombreuses espèces ; les chiens dressés trouvent plus de crottes que les observateurs humains et sont moins enclins aux biais d'échantillonnage de détection (Engeman et al. 2002, Smith et al. 2003, Wasser et al. 2004, Browne et al. 2006, Cablk et al. 2006, DeMatteo et al. 2014, Orkin et al. 2016, Richards et al. 2018). **Il ne faut pas oublier que les différences dans les modèles de dépôt fécal liées à l'âge, au sexe, au statut social ou reproductif des loups peuvent également conduire à une hétérogénéité de détection et à des erreurs dans les analyses basées sur les génotypes d'ADN fécal** (Cubaynes et al. 2010). L'hétérogénéité de détection pourrait être une conséquence directe de la biologie de l'espèce ou résulter d'hétérogénéités dans l'effort d'échantillonnage

(Devineau et al. 2006, Louvrier et al. 2018b). Des études précédentes ont montré que les changements saisonniers dans les habitudes de défécation des renards gris pouvaient modifier les probabilités de détection des excréments par les chiens et conduire à une sous-estimation de la taille de la population (Ralls et al. 2010).

Les schémas de défécation et le marquage olfactif des loups ont fait l'objet de nombreuses études. Le marquage olfactif est considéré comme un mécanisme de défense du territoire chez les loups (Zub et al. 2003, Mech & Boitani 2010). Les loups marquent leur territoire par des marques visuelles (griffures et gouttes fécales) et olfactives (urine, gouttes fécales et sécrétions des sacs anaux et des glandes interdigitales ; Mech & Boitani 2010). Les membres de la meute accumulent ces marques à la limite de leurs territoires ou autour des sites de rendez-vous (Zub et al. 2003, Barja et al. 2005, Mech & Boitani 2010, Stenglein et al. 2011). L'activité des loups est très flexible et peut être adaptée à diverses conditions environnementales avec un pic d'activité pendant l'été, qui correspond à la période d'allaitement (Fancy & Ballard 1995, Eggermann et al. 2008) ; cependant, les femelles reproductrices diminuent leur mobilité pendant l'été (Eggermann et al. 2008). Les raisons de cette mobilité réduite pendant l'été sont la mise bas et l'allaitement, lorsque l'activité des loups se concentre sur le site de la tanière et que la femelle reproductrice ne s'en éloigne pas (Eggermann et al. 2008, Tsunoda et al. 2009). L'intensité du marquage territorial prédit la reproduction des loups (Llaneza et al. 2014). L'accumulation de crottes laissées par les adultes à des endroits spécifiques de la zone de la tanière semble être la conséquence de visites répétées pendant la période de reproduction ; les dépôts de crottes peuvent être beaucoup plus élevés dans la zone de la tanière que dans les zones extérieures (Barja et al. 2005).

Dans les territoires nouvellement colonisés en France, la localisation des tanières de loups est inconnue. Pendant la période d'allaitement, le transect d'échantillonnage choisi peut passer à proximité d'une tanière de loup ou dans les zones extérieures du territoire. Si tel est le cas, les enquêtes basées sur la collecte d'excréments pendant la période d'allaitement pourraient donner une impression trompeuse de la distribution, de l'utilisation de l'espace et de l'abondance relative des loups. Par conséquent, nous avons cherché à évaluer comment les changements saisonniers dans les habitudes de défécation des loups peuvent affecter les probabilités de détection des enquêtes d'échantillonnage prédéterminées. **Nous avons supposé que les habitudes de défécation pendant la période d'allaitement pouvaient entraîner des hétérogénéités significatives dans la détection.** Pour évaluer cette hypothèse, nous avons collecté des excréments de loups à l'aide d'un chien chaque mois entre décembre 2019 et août 2020 dans le territoire d'allaitement connu et les zones extérieures. L'utilisation du CT a complété le suivi des loups basé sur la collecte des excréments de loups.

MATERIEL ET METHODES

Entraînement des chiens

L'équipe canine était composée d'un chien et du maître-chien (premier auteur). Le chien (une femelle berger belge sélectionnée par un éleveur professionnel) vivait avec son maître depuis l'âge de deux mois et a été entraîné à distinguer les excréments de loups des espèces non ciblées (Roda et al. 2020). Basé sur le renforcement positif, le protocole de formation a été adapté à partir de travaux antérieurs de détection de conservation (Smith et al. 2003, Wasser et al. 2004, Sentilles et al. 2016, DeMatteo et al. 2019) et reste fondamentalement le même.

Le chien a suivi une formation intermédiaire similaire à celle décrite par Statham et al. (2020), passant d'un environnement contrôlé avec des excréments artificiels à des territoires de loups connus et occupés pour rencontrer des excréments de loups naturels. Le maître-chien a d'abord entraîné le chien avec des échantillons de 60 excréments de loups génétiquement confirmés provenant des Alpes françaises et fournis par l'Office français de la biodiversité (Roda et al. 2020). La sélection des excréments pour l'entraînement comprenait des échantillons génétiquement confirmés de l'espèce cible (excréments de loups mâles et femelles du groupe haplotype w22 (sensu Pilot et al. 2010), c'est-à-dire l'haplotype caractéristique des loups gris originaires de la péninsule des Apennins et des Alpes françaises). Des excréments connus pour provenir d'espèces non ciblées (excréments de renard roux *Vulpes vulpes* identifiés génétiquement et excréments de chiens domestiques reproducteurs nourris avec de la viande d'ongulés sauvages) ont également été fournis pendant la formation (selon DeMatteo et al. 2019). Le protocole de formation consistait en une recherche sans laisse, le chien indiquant avoir trouvé une crotte de loup en se figeant, en se couchant et en aboyant. Pour chaque découverte, le chien était récompensé en jouant avec une balle. Une fois que le chien a montré qu'il reconnaissait et détectait régulièrement les excréments de loups présents dans la nature, le maître-chien l'a jugé prêt à être déployé lors des enquêtes. Dans une étude précédente (Roda et al. 2020), l'équipe cynophile a été déployée dans 12 territoires de meutes de loups pour collecter des échantillons d'excréments de loups. Tous les échantillons de cette étude précédente ont été analysés génétiquement et ont démontré que le chien était constamment précis (96%) pour trouver uniquement des excréments de loups (et ignorer ceux des espèces non ciblées) dans des conditions naturelles de terrain. Dans une autre étude réalisée en octobre 2021 avec le même chien de détection expérimenté, des excréments ont été collectés dans la meute de loups adjacente (appelée « Sirius Black », Fig. 1). Tous les excréments collectés ont été génotypés, et la précision du chien de détection a été confirmée à 95% (F. Roda & J.N. Philibert, données non publiées). Comme la précision du chien de détection était constante dans le temps et dans la même région (meute de loups adjacente), nous avons considéré que le même taux de détection (95-96%) du chien pouvait être extrapolé dans la présente étude (voir modélisation des données pour plus de détails). Nous avons utilisé le même chien dans notre étude afin de réduire le biais d'échantillonnage. Le chien était âgé de quatre ans pendant l'étude et avait trois ans d'expérience de détection sur le terrain.

Zone d'étude

La zone d'étude est située dans le sud-est de la France, dans les limites du parc régional de la Sainte-Baume (43°32 N ; 5°83 E) et couvre environ 810 km². La carte du Parc Régional de la Sainte-Baume est disponible sur [https:// inpn.mnhn.fr/espace/protege/FR8000053](https://inpn.mnhn.fr/espace/protege/FR8000053). L'altitude varie de 286 à 1 148 m. Le climat du Parc régional de la Sainte-Baume est méditerranéen, avec des étés chauds et secs, des hivers doux et des automnes et printemps modérément pluvieux (température maximale moyenne en juillet 27,6°C ; température minimale moyenne en juillet 19,4°C ; précipitations moyennes en juillet 5,6 mm ; moyenne annuelle 613,4 mm). La forêt couvre 70% de la superficie et présente différents profils de végétation selon les stades de gestion forestière, principalement le chêne pubescent (*Quercus pubescens*), le chêne vert (*Quercus ilex*), le pin sylvestre (*Pinus sylvestris*), le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) avec des parcelles de hêtre européen (*Fagus sylvatica*). De nombreux peuplements contiennent un mélange de pins et de chênes.

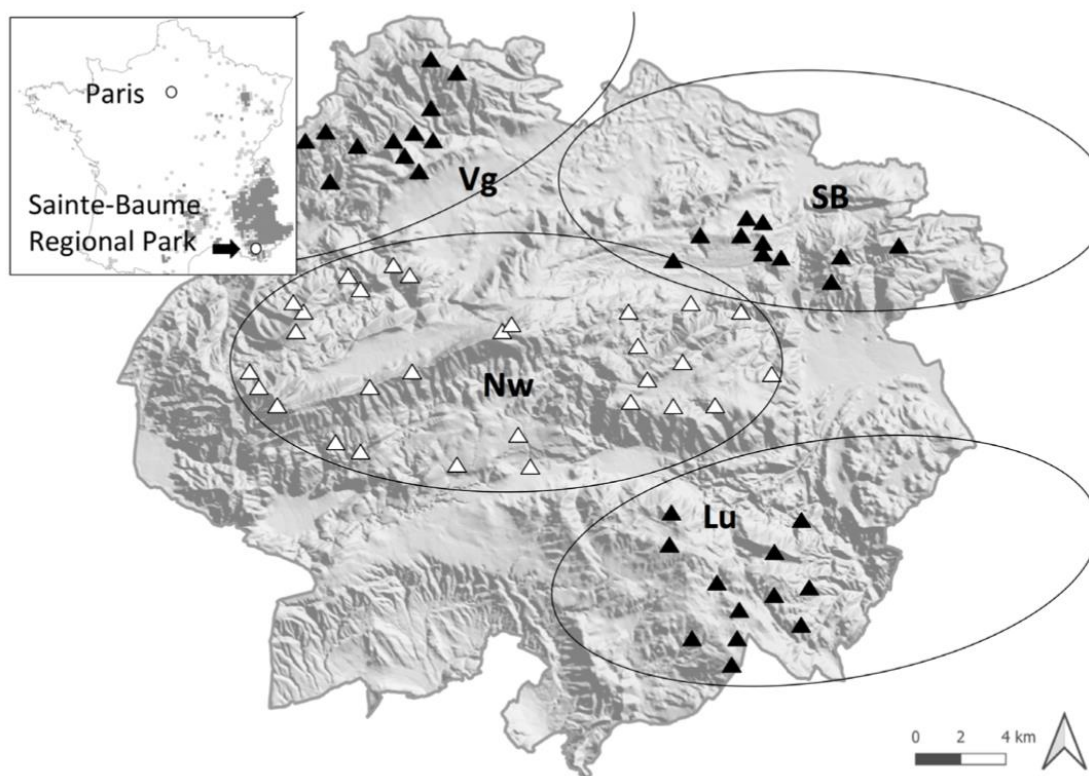


Fig. 1. Zone d'étude, montrant le territoire des quatre meutes de loups présentes dans le parc régional de la Sainte-Baume. Les limites administratives du Parc sont représentées en gris clair. Les triangles blancs indiquent les sites de marquage de la meute « Neowise » ; les triangles noirs indiquent les sites de marquage de trois meutes adjacentes. Nw : meute de Neowise ; Lu : meute de Lupi ; SB : meute de Sirius Black ; Vg : meute de Véga. Les sites de marquage des meutes Lu, SB et Vg en dehors des limites du parc ne sont pas représentés

La chasse sportive est principalement axée sur les espèces de grand gibier, notamment le sanglier (*Sus scrofa*). L'abondance des sangliers est élevée sur l'ensemble du terrain forestier, et les prélèvements sont importants (de 3,0 à 6,3 sangliers tués/km²/an). En revanche, le chevreuil (*Capreolus capreolus*) est plus rare (de 0,4 à 1,0 animal tué/km²/an). En outre, de petits groupes de cerfs rouges (*Cervus elaphus*), de chamois (*Rupicapra rupicapra*) et de daims (*Dama dama*) ont été introduits par les gestionnaires du gibier (Office Français de la Biodiversité 2021a). Les animaux de rente sont rares ou absents dans les zones prospectées. Nos pièges à caméra n'ont pas réussi à capturer des chiens en liberté pendant les deux années précédant cette étude ou pendant l'étude actuelle (neuf mois), nous avons donc supposé qu'il n'y avait pas de chiens en liberté dans le Parc.

Le Parc régional de la Sainte-Baume abrite quatre meutes de loups référencées (Fig. 1). Nous avons décidé d'étudier la meute de loups nommée « Neowise » car elle occupe un territoire central dans le Parc régional de la Sainte-Baume qui est entièrement compris dans les limites du Parc. La meute de Neowise était constituée d'un couple de loups reproducteurs élevant leurs petits sans l'aide de jeunes loups issus d'événements reproductifs antérieurs. Les deux loups reproducteurs étaient déjà connus et génotypés sous les noms de s58-02 (le mâle) et s69-09 (la femelle), respectivement (Office Français de la Biodiversité 2021b). Les sites de marquage des autres meutes de loups sont bien connus et les loups individuels sont identifiés génétiquement (F. Roda & J.N. Philibert, données non publiées). Au cours de l'étude, aucune

incursion de loups adultes provenant des meutes adjacentes n'a été enregistrée par CT sur le territoire de Neowise.

La densité des chemins forestiers est presque uniformément de 4 km/ km² sur l'ensemble du territoire du loup. Aucune route pavée ne traverse le territoire de la meute Neowise. Le public n'est pas autorisé à utiliser des véhicules à moteur sur les chemins forestiers. Le trafic humain sur les routes est important tout au long de l'année en raison de la cueillette des champignons, de la chasse au gros gibier et des randonnées de loisirs lors des journées ensoleillées.

Collecte des données

L'équipe a parcouru des **transects prédéterminés**, de préférence circulaires pour des raisons logistiques (retour au véhicule) ; dans certains cas, un membre de l'équipe de l'auteur (Poulard F.) a transporté le chien et son maître, permettant ainsi un transect linéaire le long des chemins forestiers. L'équipe cynophile a parcouru les sentiers précédemment couverts par d'autres observateurs (Poulard F., D'Antuoni C. ou Nasi N.) au cours des années précédentes ou sur lesquels le piégeage par caméra a permis de capturer au moins un loup. Les transects n'ont pas été sélectionnés au hasard mais ont été choisis pour couvrir toute la zone du territoire de la meute de loups et pour reproduire l'échantillonnage utilisé par les observateurs précédents ou les détections basées sur le CT. Tous les transects ont été effectués sur des routes forestières ; aucune trace n'a été recherchée ou collectée en dehors des routes. Nous avons équipé le chien et son maître d'un dispositif GPS (Dogtra pathfinder) pour enregistrer les traces de l'enquête et la distance parcourue et pour permettre de cartographier toutes les traces indiquées par le chien. Dans un travail préliminaire (données non publiées), nous avons recensé 29 sites de marquage (Fig. 1) avec le chien de détection. **Nous avons considéré qu'un « site de marquage » était un endroit dans un rayon de 50 m où au moins une crotte fécale a été laissée à deux dates différentes.** Chaque site de marquage a été relevé mensuellement du 1^{er} décembre 2020 au 1^{er} septembre 2021. Le protocole de collecte des excréments a été standardisé avec un effort d'observation similaire entre chaque site de marquage, en utilisant le même chien de détection. Toutes les crottes marquées par le chien ont été collectées (des adultes + des petits). Pour cette étude, seules les excréments déposés par les loups adultes ont été comptés (les excréments des adultes sont beaucoup plus gros que ceux produits par les jeunes louveteaux ; **pendant la période d'allaitement, aucun excrément laissé par les jeunes louveteaux n'a été détecté au-delà de 600 m de la tanière**). Les fèces collectées dans la présente étude seront analysées dans le cadre du programme de suivi génétique de l'Office français de la biodiversité (Duchamp et al. 2012). Les résultats génétiques fournis par l'Office français de la biodiversité concernant principalement les zones de nouvelles colonisations de loups (ce qui n'est pas le cas du Parc régional de la Sainte-Baume), nous ne savons donc pas quand ces résultats seront disponibles. Les données génétiques n'étant pas disponibles, et afin de considérer que les erreurs de détection des chiens sur des espèces non ciblées peuvent conduire à une surestimation du nombre de crottes de loup, nous avons modélisé et appliqué une correction sur les données (voir modélisation des données).

Le piégeage par caméra a été réalisé sur le territoire de la meute de loups Neowise entre le 1^{er} décembre 2020 et le 1^{er} septembre 2021, à l'aide de cinq caméras laissées sur le territoire de soins pendant 990 jours de piégeage. Une caméra a été placée à proximité de la zone de la tanière (à une distance de 600 m). En plus de ces cinq caméras, cinq autres caméras ont été utilisées en dehors du territoire d'allaitement en tant que « CT supplémentaire ». Ces cinq

caméras supplémentaires étaient souvent déplacées et n'étaient jamais laissées au même endroit pendant plus de trois semaines. Ces caméras supplémentaires ont été utilisées pour mieux suivre les déplacements des loups en dehors du territoire d'allaitement. Des caméras à distance activées par le mouvement (Browning spec obs BTC8A) ont été placées sur les chemins forestiers utilisés par les loups. Chaque piège-caméra était actif 24 heures sur 24, sept jours par semaine, et était visité par des observateurs (Poulard F., Ayache G., Nasi N., D'Antuoni C.) à intervalles variables (de 2 à 20 jours) pour changer les piles et les cartes SD. Le mâle du couple reproducteur de la meute de loups étudiée était facilement reconnaissable grâce à une cicatrice sur la patte arrière. Toutes les caméras étaient équipées d'un capteur infrarouge passif et d'un flash LED.

Pour cette étude, nous avons considéré la période de décembre à avril comme « hiver » et celle de mai à août comme « été ». La date de la parturition a été estimée entre le 1^{er} et le 6 mai (grâce au CT), la période de « l'été » est donc également la « période d'allaitement ». Les frontières approximatives des territoires « d'allaitement » et « extérieurs » ont été définies a posteriori (voir Modélisation et analyse des données).

Modélisation et analyse des données

Nous avons réalisé l'analyse spatiale des épreintes de loup géoréférencées avec « Magrit », un logiciel de cartographie thématique interopérable (<http://magrit.cnrs.fr/> ; Commenges 2017). L'outil de lissage de Magrit (version 0.8.14) a été utilisé, calculant un modèle de distance inverse de la probabilité d'occurrence, ou « potentiels de population » ; la fonction est exponentielle. Magrit calcule le même algorithme que le paquet R « Potential » (<https://riatelab.github.io/potential/>), écrit par la même équipe qui édite Magrit. Avec une grille de 1 km, nous avons utilisé un indice de 2 et un intervalle de 0,8. Les cartes ont été conçues sur le logiciel GIS QGIS.

Pour modéliser la probabilité de détection par l'équipe cynophile, nous avons utilisé un modèle d'occupation du site pour une seule saison afin de tenir compte de ce que nous appelons la détection imparfaite (sensu Kéry 2010 ; c'est-à-dire manquer un excrément lorsqu'il est présent) et d'estimer la puissance de la méthode d'enquête cynophile (MacKenzie 2006, MacKenzie et al. 2009). L'enquête a été menée sur 29 sites de marquage (Fig. 1) chaque mois, et elle a duré moins de trois demi-journées dans l'unité d'échantillonnage « i » (c'est-à-dire le territoire de la meute de loups Neowise). Au sein de l'unité d'échantillonnage « i », le protocole garantissait que l'équipe cynophile passait chaque mois par 29 sites de marquage où des signes de présence de loups avaient été précédemment détectés.

Le modèle (adapté de Hines et al. 2010, Roda et al. 2020 ; Annexe S1) a été implémenté dans WinBugs (Kéry 2010) avec 30 000 itérations et trois chaînes. Chaque site de marquage a été conçu comme « j » dans l'analyse d'occupation. Les données ont été subdivisées en répliquats temporels (chaque mois) pour l'enquête sur chaque site de marquage « j » (Annexe S2). Nous avons vérifié la convergence visuellement en inspectant les chaînes et en vérifiant que la statistique Rhat était inférieure à 1,1 (Kéry 2010, Brooks & Gelman 2012).

Nous avons défini à partir d'une analyse a posteriori le « **territoire d'allaitement** » comme le territoire compris dans un rayon de 4 km autour de la tanière (correspondant approximativement à une zone de 50 km²). Nous avons choisi cette distance car une étude

précédente de Tsunoda et al. (2009) a montré que la distance moyenne de déplacement à partir de la tanière pour les loups radio-pistés des deux sexes pendant la période d'allaitement dépassait rarement une distance totale (aller-retour) de 8 km/nuits ou jour, avec une étendue quotidienne moyenne de $11,3 \pm 3,6 \text{ km}^2$ centrée autour de la tanière.

Par conséquent, sept sites de marquage ont été inclus dans le territoire d'allaitement. Nous avons utilisé un test *t* pour comparer les probabilités de détection moyennes par site de marquage pendant l'hiver et l'été (c'est-à-dire la période d'allaitement) ; pour comparer les probabilités de détection moyennes par site de marquage à l'intérieur et à l'extérieur du territoire d'allaitement ; et pour comparer les probabilités de photo-capture des loups en hiver et en été, à l'intérieur et à l'extérieur du territoire d'allaitement.

Comme l'utilisation du même chien dans des études précédentes a montré une détection réussie de 95-96% des excréments de loups par rapport aux espèces non ciblées (Roda et al. 2020, F. Roda & J.N. Philibert, données non publiées), l'erreur de 4-5% pourrait conduire à une surestimation du nombre d'excréments de loups et potentiellement biaiser les résultats. Après avoir collecté les données, nous avons testé quatre scénarios probables : deux scénarios dans lesquels le taux d'erreur de détection du chien était constant tout au long de l'année ; et deux scénarios supposant que toutes les erreurs étaient faites en été. Nous avons simulé les données et appliqué un facteur de correction en supposant une erreur de 5% répartie sur toute l'année et sur l'ensemble du territoire (modèle 1) ; une erreur de 20% répartie sur toute l'année et sur l'ensemble du territoire (modèle 2) ; des erreurs de 5% réparties uniquement en été et sur l'ensemble du territoire (modèle 3) ; des erreurs de 20% réparties uniquement en été et sur l'ensemble du territoire (modèle 4). Tous les modèles simulés ont été vérifiés, et les résultats ont été comparés aux données réelles obtenues sur le terrain (Annexe S3).

Toutes les analyses statistiques (autres que l'occupation avec WinBugs) ont été réalisées à l'aide du logiciel R-software.

RESULTATS

De décembre 2019 à août 2020, l'équipe cynophile a collecté 113 excréments de loups (Figure 2). Une fois que les louveteaux sont sortis de la tanière, nous avons trouvé des excréments de louveteaux et d'adultes à proximité de la tanière (< 200 m). Aucune excrétion de petits n'a été trouvée sur les sites de marquage de l'échantillonnage. Pour cette étude, seuls les excréments des adultes ont été comptés. Pendant l'étude, seuls les deux loups adultes du couple reproducteur ont été enregistrés sur CT ; aucun adulte des meutes de loups adjacentes ou des chiens en liberté n'a été photographié.

Nous avons trouvé un nombre comparable de crottes chaque mois (9 à 15 ; moyenne 12,5) avec un effort d'échantillonnage constant de deux demi-journées par mois sur les routes forestières du Parc ; le nombre moyen de crottes trouvées chaque mois ne différait pas entre l'hiver et la période d'allaitement ($t = 0,07$, $df = 6,96$, $P = 0,94$). En hiver, le nombre moyen de crottes trouvées sur les sites de marquage était similaire à l'intérieur et à l'extérieur du territoire d'allaitement (0,44 et 0,54, respectivement ; la différence n'était pas statistiquement significative ; $t = 0,14$, $df = 61,66$, $P = 0,89$). D'après notre modèle d'occupation, la probabilité mensuelle de détecter avec succès des excréments de loup sur chaque site de

marquage était similaire à l'intérieur et à l'extérieur du territoire d'allaitement de la meute de loups (38% et 40%, respectivement). Par conséquent, nous avons calculé que pendant les mois d'hiver, il était nécessaire d'échantillonner dix sites de marquage pour atteindre une probabilité de 99% de détecter la présence de loups, indépendamment de l'emplacement du site de marquage à l'extérieur ou à l'intérieur du territoire d'allaitement de la meute de loups.

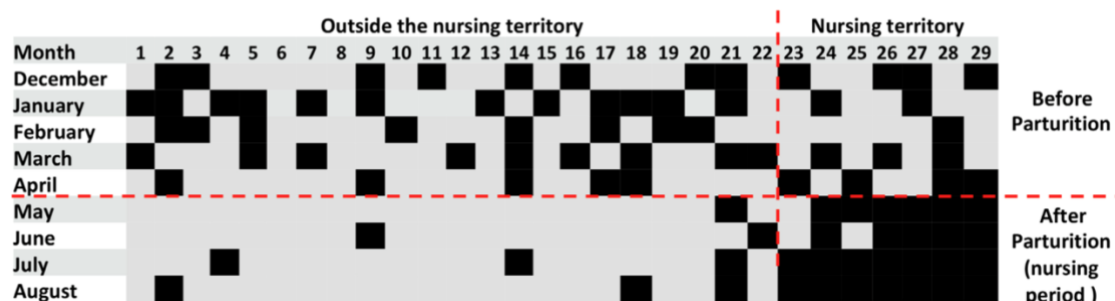


Fig. 2. Différences mensuelles de dépôt de fèces sur chaque site de marquage (numéroté de 1 à 29) à l'extérieur et à l'intérieur du territoire d'élevage ; les rectangles noirs indiquent la détection d'une ou plusieurs fèces trouvées à chaque emplacement, l'absence (non-détection) de fèces en gris clair

Les modèles de dépôt fécal ont **changé** entre l'hiver et la période d'allaitement (Fig. 3). **Après la parturition (estimée entre le 1^{er} et le 6 mai), le nombre moyen de crottes de loup trouvées en dehors du territoire d'allaitement a diminué de 80% et augmenté de 160% dans le territoire d'allaitement par rapport à la saison hivernale** (0,09 et 1,43, respectivement ; différence statistiquement significative ; $t = -7,72$, $df = 29,82$, $P < 0,001$; Fig. 4). Nous avons calculé qu'après la parturition, la probabilité mensuelle de marquage des excréments sur chaque site de marquage a été divisée par trois en dehors du territoire d'allaitement (passant de 38% à 11%). En revanche, elle a été multipliée par deux dans le territoire d'allaitement (passant de 40% à 87%). **Nous avons calculé que pendant la période d'allaitement, l'échantillonnage de 20 sites de marquage était nécessaire pour obtenir une probabilité de 90% de détecter la présence de loups en dehors du territoire d'allaitement** ; dans le territoire d'allaitement, l'échantillonnage de seulement trois sites de marquage était suffisant pour obtenir une probabilité de 99,7% de détecter la présence de loups. Si l'on tient compte de la surestimation potentielle du nombre d'excréments due à la détection d'espèces non ciblées par le chien, les résultats globaux sont similaires, et les résultats et conclusions de l'étude n'ont pas changé (voir détails en annexe S3).

En utilisant les résultats des vidéos des pièges à caméra, la probabilité de capturer des loups du couple reproducteur dans le territoire d'allaitement a diminué après la parturition (de 76% à 63% par mois et par caméra). Pendant l'hiver, le couple reproducteur a utilisé les principaux chemins forestiers permettant des déplacements rapides (6,5 observations par mois/CT). Pendant la période d'allaitement, les loups ont évité les routes forestières principales (0,2 observation par mois/CT) ; la différence était statistiquement significative ($t = 7,51$, $df = 12,96$, $P < 0,001$). Au contraire, les loups utilisaient de préférence les routes forestières secondaires et les chemins tranquilles pendant la saison d'allaitement (5,6 observations par mois/CT). De mai à août, seul le mâle a été photographié loin (jusqu'à 17 km) du territoire d'allaitement. Les routes forestières secondaires ont été évitées pendant l'hiver (0,2 observations par mois/CT) ; la différence était statistiquement significative ($t = -3,52$, $df = 5,17$, $P = 0,016$). La tanière était éloignée de toute perturbation anthropique dans une couverture dense et **le long de pentes raides.**

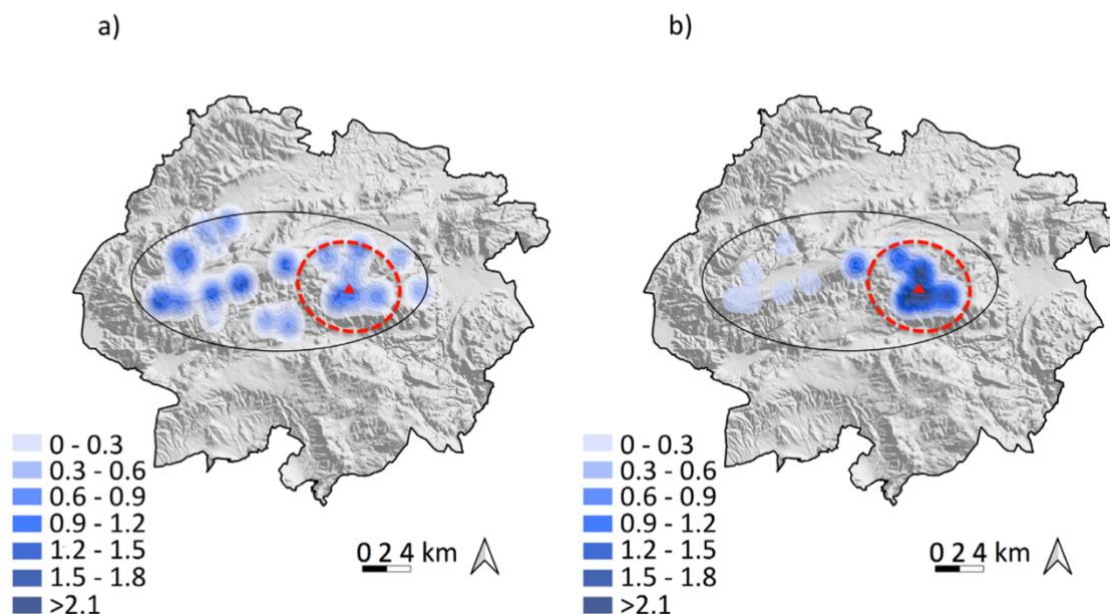


Fig. 3. Différences saisonnières dans les abondances de marquage de fèces de la meute de loups Neowise. La graduation en nuances de bleu montre le nombre moyen de fèces/par site/par mois ; a) hiver et b) période d'allaitement. Les limites de la meute de loups sont indiquées en noir ; les limites du territoire d'allaitement sont indiquées par une ligne rouge pointillée. Le triangle rouge indique l'emplacement de la tanière



Fig. 4. Différences saisonnières dans les abondances moyennes des fèces collectées mensuellement sur chaque site de marquage à l'extérieur et à l'intérieur du territoire d'allaitement : a) pendant l'hiver et b) pendant la période d'allaitement

DISCUSSION

Cette étude est la première à quantifier et à cartographier la façon dont les changements saisonniers dans les habitudes de défécation des loups adultes peuvent affecter les probabilités de détection. Pendant la période d'allaitement (c'est-à-dire l'été), la probabilité de trouver des excréments à l'intérieur du territoire d'allaitement augmente en raison d'un changement dans le mode de défécation du couple reproducteur ; ces changements affectent la localisation des excréments et, par conséquent, la détectabilité des excréments. En revanche, la probabilité de trouver des excréments en hiver est la même à l'intérieur ou à l'extérieur du territoire d'allaitement. Ces résultats sont d'importance scientifique car dans les enquêtes non invasives sur les loups dans les Alpes françaises (avec des équipes

exclusivement humaines), ignorer l'hétérogénéité de détection peut conduire à une sous-estimation de la taille de la population de 27% en moyenne (Cubaynes et al. 2010). En dehors des Alpes françaises (où les épisodes neigeux sont rares), les enquêtes visant à estimer l'abondance sont menées avec des humains uniquement et souvent pendant la saison de reproduction. De plus, la sous-estimation de la taille de la population de loups peut être encore plus importante dans les zones nouvellement colonisées en dehors des montagnes alpines. Par exemple, dans une étude précédente, nous avons constaté que les équipes humaines ont manqué 75% des échantillons génétiques de loups par rapport aux équipes de chiens (Roda et al. 2020). L'hétérogénéité de capture (c'est-à-dire les différences de probabilités de trouver des excréments de différents individus) et ses causes sont une considération importante car elle peut conduire à une sous-estimation de la taille de la population dans les modèles de capture-recapture (Marescot et al. 2011, Louvrier et al. 2018b). Suivant notre hypothèse initiale, ignorer les changements saisonniers de marquage des excréments de loups pourrait donner des interprétations trompeuses de la taille de la population de loups. Elles pourraient entraîner une sous-estimation de la taille de la population, à moins de prendre en compte l'hétérogénéité saisonnière de la détectabilité des excréments.

Bien que le nombre de crottes en dehors du territoire d'allaitement ait diminué pendant les mois d'été, il n'était pas nul. Parce que des analyses génétiques systématiques des excréments n'ont pas été effectuées, nous ne savons pas si les deux sexes ont montré des changements dans les modèles de dépôt fécal associés à la naissance du petit. Des changements dans les modèles de défécation des mâles et des femelles pendant la saison d'allaitement sont connus chez d'autres canidés. Le renard roux (*Vulpes macrotis*) (Ralls et al. 2010) présente également de tels changements. D'autres espèces de carnivores, comme les femelles pumas (*Puma concolor*) (qui élèvent leurs petits sans l'aide des mâles), enterrent leurs fèces lorsqu'elles ont des petits (Seidensticker et al. 1973). Nous soupçonnons que le loup mâle étudié a déposé moins de crottes près de la tanière que la femelle pendant la période d'allaitement puisque seul le mâle a été photographié loin du territoire d'allaitement pendant l'été, mais cette hypothèse doit être approfondie. Le loup mâle présentait une cicatrice typique et visible sur la patte arrière, et aucun autre loup mâle (qui aurait pu biaiser les dépôts de crottes) n'a été capturé sur CT. Nous sommes convaincus qu'aucun autre loup adulte n'a parcouru la zone et n'aurait pu fausser les dépôts de crottes, mais nous ne pouvons pas exclure cette hypothèse. Contrairement aux mâles, les loups femelles avec de jeunes louveteaux peuvent rester près de la tanière, ce qui affecte probablement leur comportement de défécation. Les loups mâles et femelles ont des rôles différents dans les soins biparentaux des petits (Packard 2003) ; le mâle contribue en nourrissant la femelle et passe donc la plupart du temps à chasser loin de la tanière (Mech & Boitani 2010). Cependant, il faut se rappeler que les jeunes loups n'ont pas aidé la meute de Neowise à fournir de la nourriture à la femelle comme le font d'autres meutes de loups ; par conséquent, les schémas de défécation peuvent être différents si un ou plusieurs jeunes loups d'une reproduction précédente aident le couple reproducteur à s'occuper des petits. Cette hypothèse semble probable, car une étude précédente de Tsunoda et al. (2009) a montré qu'un mâle muni d'un collier émetteur (d'un couple reproducteur élevant les petits sans aide, comme dans notre étude) était le plus souvent éloigné de la tanière et que son activité et ses mouvements étaient en conséquence plus importants que ceux de la femelle pendant la saison d'allaitement. Les années suivantes, lorsque la meute du mâle était composée de sept loups, son activité et ses déplacements correspondaient à ceux de la

femelle. Les fèces collectées dans la présente étude seront analysées dans une autre étude dans le cadre du programme de suivi génétique de l'Office français de la biodiversité (Duchamp et al. 2012), et la réponse à ces questions sera connue dans le futur. Cependant, comme ces données ne sont pas encore disponibles, nous reconnaissons qu'il s'agit d'une limite de l'étude et de ses implications. En effet, le chien de détection peut avoir marqué des espèces non ciblées, ce qui aurait pu entraîner une surestimation du nombre d'excréments. Pour surmonter ce problème, nous avons simulé des données et pris en compte le fait que la capacité du chien de détection à distinguer les excréments de loup des espèces non ciblées a été évaluée dans des études précédentes ; le chien s'est avéré être précis à 95-96% (Roda et al. 2020, F. Roda & J.N. Philibert, données non publiées). Les différences dans les schémas de défécation constatées dans cette étude étaient si importantes que les résultats globaux n'ont pas été modifiés, même en tenant compte d'un taux d'erreur exceptionnellement élevé (20%). Il faut se rappeler que les chiens en liberté n'ont jamais été enregistrés sur les CT, nous sommes donc convaincus qu'il n'y a pas de chiens en liberté dans le parc qui pourraient biaiser les résultats.

Les loups de notre étude utilisaient les routes forestières et les carrefours pour marquer à l'odeur (mais aucune enquête n'a été menée en dehors des routes, comme dans Bojarska et al. 2020). En hiver, ils utilisaient les routes forestières principales pour se déplacer rapidement et loin à travers leur domaine vital la nuit. Comme l'a révélé les CT, les loups du couple reproducteur évitaient fortement les routes forestières principales pendant la période d'allaitement et sélectionnaient les sentiers secondaires dans les zones forestières. Les loups de la meute de Neowise utilisaient les routes forestières principales pendant l'hiver pour se déplacer et relier des parties éloignées du territoire ; pendant la période d'allaitement, les déplacements étaient plus limités (mais pas inexistants). Il faut garder à l'esprit que notre plan d'échantillonnage aurait dû prendre en compte les dépôts de crottes hors des routes ; ainsi, il est évident que seule une fraction de toutes les fèces disponibles a été collectée, ce qui pourrait être une source de biais. Cependant, nous sommes confiants que nos résultats représentent la réalité des changements saisonniers, car nos points d'échantillonnage sont répartis sur l'ensemble du territoire. Dans l'ensemble, les loups du territoire de Neowise ont probablement évité les humains et ont choisi les routes en période d'absence d'activité humaine. Nous pensons que les abattages légaux (Grente 2021) et les tirs illégaux de loups, régulièrement signalés en France (Mathieu et al. 2021), contribuent à maintenir ce comportement. Bien que les routes forestières du Parc Régional de la Sainte-Baume aient généralement un trafic trop faible pour présenter un risque de collision faune-véhicule, elles peuvent augmenter la mortalité de la faune en facilitant l'accès à la chasse légale et au braconnage (Person & Russel 2008). Nos résultats sont en accord avec des résultats récents montrant que les loups peuvent profiter des infrastructures routières forestières pour se déplacer et marquer leur odeur tout en minimisant les rencontres humaines par un évitement spatio-temporel des routes (Bojarska et al. 2020). En outre, la réponse des loups aux routes à faible trafic peut varier en fonction du statut comportemental et social des loups (membres de la meute *vs* floteurs), de l'heure de la journée et de la saison (Mancinelli et al. 2019). En été, l'évitement des routes principales et des activités humaines pendant la journée est commun à de nombreuses meutes de loups dans différents pays européens (notre étude, Eggerman et al. 2008, Mancinelli et al. 2019, Bojarska et al. 2020).

En conclusion, l'utilisation combinée et complémentaire d'un chien de détection et de pièges photographiques permet de bien comprendre l'utilisation saisonnière de l'espace par les loups, leur comportement d'évitement des humains et de marquage. La quantité limitée de données fournies par ce type d'enquête diffère de celle fournie par les loups porteurs de colliers radio, mais ceci est compensé par le fait que les loups ne sont pas perturbés par cette technique. L'utilisation de colliers radio étant essentiellement interdite en France, cette méthode originale est une excellente alternative non invasive qui évite la capture, l'anesthésie et le dérangement des loups. Le comportement et les dépôts d'excréments des loups adultes sont très variables pendant la saison d'allaitement par rapport à l'hiver, ce qui affecte la détectabilité. Nous concluons que les enquêtes cynophiles visant à collecter des échantillons devraient être menées exclusivement en hiver pour éviter les biais d'échantillonnage. Cette conclusion peut probablement être extrapolée à d'autres espèces car de nombreux carnivores présentent de tels changements saisonniers dans leurs habitudes de défécation.