

L'intensité du marquage territorial prédit la reproduction des loups : implications pour la surveillance des loups

OPEN ACCESS Freely available online



Intensity of Territorial Marking Predicts Wolf Reproduction: Implications for Wolf Monitoring

Luis Llana^{1*}, Emilio J. García¹, José Vicente López-Bao^{2,3*}

¹ A.RE.NA. Asesores en Recursos Naturales, S.L., Lugo, Spain, ² Research Unit of Biodiversity (UO/CSIC/PA), Oviedo University, Mieres, Spain, ³ Grimsö Wildlife Research Station, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Riddarhyttan, Sweden

PLOS ONE | www.plosone.org

1

March 2014 | Volume 9 | Issue 3 | e93015

Résumé

Contexte : La mise en œuvre d'approches intensives et complexes pour surveiller les grands carnivores est exigeante en ressources, limitée aux espèces menacées, aux petites populations ou aux petites aires de distribution. Le suivi des loups sur de grandes échelles spatiales est difficile, mais la gestion de ces espèces controversées nécessite des estimations régulières de l'abondance pour guider les décideurs. L'intégration du **comportement de marquage** des loups avec de simples comptages de signes peut offrir une alternative rentable pour suivre l'état des populations de loups sur de grandes échelles spatiales.

Principaux résultats : Nous avons utilisé une approche d'échantillonnage multiple, basée sur la collecte de marques visuelles et olfactives de loups (fèces et grattage du sol) et l'évaluation de la reproduction des loups à l'aide de hurlements et de points d'observation, afin de vérifier si l'intensité du comportement de marquage autour de la période d'élevage des petits (été-automne) pouvait refléter la reproduction des loups. Entre 1994 et 2007, nous avons collecté 1 964 marques de loup sur un total de 1 877 km parcourus et nous avons recherché la présence des petits (1 497 hurlements et 307 points d'observation) dans 42 sites d'échantillonnage avec une présence régulière de loups (120 sites d'échantillonnage par an). Le nombre de marques de loups était environ 3 fois plus élevé dans les sites avec une présence confirmée de louveteaux (20.3 vs. 7.2 marques). Nous avons trouvé une relation significative entre le nombre de marques de loups (abondance relative moyenne et maximale) et la probabilité de reproduction des loups.

Conclusions et importance : Cette recherche établit une relation en temps réel entre l'intensité du comportement de marquage des loups et la reproduction des loups. Nous suggérons un seuil conservateur de 0,60 pour la probabilité de reproduction des loups afin de suivre les loups à l'échelle régionale, combiné à l'utilisation de l'indice moyen d'abondance relative des marques de loups dans une zone donnée. Nous montrons comment l'intégration du comportement des loups avec des procédures d'échantillonnage simples permet des évaluations rapides, en temps réel et rentables du statut de reproduction des meutes de loups avec des implications substantielles pour le suivi des loups à de grandes échelles spatiales.

INTRODUCTION

Les grands carnivores sont activement gérés dans un flux et reflux entre les intérêts humains et les objectifs de conservation. Le poids relatif des facteurs sociaux, économiques,

écologiques ou de conservation [1-6] fait continuellement pencher la balance d'un côté ou de l'autre, faisant de la gestion des grands carnivores l'une des tâches les plus complexes de la gestion de la faune sauvage. Pour parvenir à une approche de **gestion adaptative** [7], les décideurs ont besoin d'estimations fiables et actualisées de leur statut pour établir, par exemple, des tendances, des actions de conservation, des quotas de chasse durables ou des contrôles de population [3, 8, 9]. Indépendamment de la cible, la première étape de la gestion est la capacité d'obtenir des estimations d'abondance objectives, fiables et économiquement abordables, facilement reproductibles au fil du temps.

Cependant, malgré le fait que le large éventail de méthodes disponibles pour étudier ces espèces insaisissables a augmenté de manière significative [10, 11], grâce à des avancées prometteuses dans les outils moléculaires non invasifs [10], le piégeage par caméra [12] et les procédures statistiques [13, 14], la mise en œuvre d'approches complexes sur de grandes échelles spatiales (c'est-à-dire des régions ou des pays) ou sur de grandes populations de ces espèces est exigeante en termes de ressources. Par conséquent, ces méthodes sont encore souvent limitées aux espèces menacées, aux petites populations ou aux petites aires de répartition [14-16]. Étant donné que les ressources consacrées à la gestion de la faune sauvage sont limitées [17] (et particulièrement détériorées par la crise financière mondiale actuelle) et que les budgets dépendent généralement du statut de conservation des espèces [18], la disponibilité de fonds suffisants pour étudier les grands carnivores sur de grandes échelles spatiales n'est pas toujours garantie. Cette **incertitude** est particulièrement importante lorsque les espèces ou les populations ne sont pas menacées ou sont retirées de la liste des espèces bénéficiant d'un statut de conservation protecteur [19]. Cependant, la gestion d'espèces controversées telles que les grands canidés, les ours ou les félidés doit nécessiter des estimations régulières de leur abondance, quel que soit leur statut de conservation, afin de guider les décideurs, en particulier pour les populations vivant dans des paysages dominés par l'homme [20].

En raison des multiples conflits autour des loups (*Canis lupus*), le développement d'outils simples et efficaces pour évaluer régulièrement l'état des populations est un besoin pressant. Les méthodes d'étude des populations de loups comprennent les enquêtes par signes, les hurlements, le radio-tracking, les questionnaires ou les statistiques sur les dommages causés au bétail et les tableaux de chasse [21-23]. Plus récemment, l'utilisation d'échantillons non invasifs est devenue populaire [24-26]. **En Europe, la gestion des loups repose sur une estimation du nombre d'individus ou de meutes, l'estimation précédente étant moins précise à mesure que la taille de la population ou l'aire de répartition augmentent, et la qualité des deux estimations concernant les loups varie considérablement d'un pays à l'autre et au sein des populations** (voir <http://www.kora.ch/sp-ois/wolf-ois>) [27]. Ainsi, les échantillons non invasifs ou le suivi intensif par radio sont généralement mis en œuvre sur de petites échelles spatiales ou de petites populations (<500 individus) [16, 24, 26, 28], alors que les questionnaires ou les statistiques de chasse sont généralement utilisés sur de vastes zones et de grandes populations, ce qui augmente **l'incertitude** (voir <http://www.kora.ch/sp-ois/wolf-ois>) [27]. D'autre part, les petites populations font l'objet d'une étude annuelle (par exemple les populations de loups de Scandinavie ou des Alpes occidentales) [16,28], alors qu'un manque de continuité temporelle ou une évaluation partielle couvrant de petites fractions de population (correspondant généralement à différentes limites administratives telles que les comtés ou les parcs nationaux) sont normaux dans les grandes populations.

C'est le cas de la population de loups Ibériques du nord-ouest - la principale population de loups en Europe occidentale [29] - où la dernière vue d'ensemble du statut de la population entière (résultant de plusieurs enquêtes régionales Espagnoles et d'un recensement national Portugais) remonte à dix ans (taille de la population estimée entre 1999 et 2003 à environ 320 meutes ou environ 2000-3000 individus). 2000-3000 individus) [30], et seules quelques enquêtes régionales sont régulièrement mises en œuvre (par exemple dans le comté des Asturies).

Le suivi des loups sur de grandes échelles spatiales est difficile. Cependant, l'intégration du comportement de marquage des loups avec des indices simples résultant du comptage des signes (par exemple, les marques visuelles et olfactives telles que les fèces) peut offrir une bonne alternative pour surveiller les loups sur de vastes zones. Les comptages de signes ont été largement utilisés comme indices de l'abondance relative des grands carnivores. Les agences gouvernementales les ont mis en œuvre comme une approche relativement peu coûteuse pour rassembler des données à grande échelle en utilisant des gardes forestiers, du personnel technique ou des volontaires (10, 21). Bien qu'il y ait eu des tentatives pour corrélérer ces indices avec les densités [31], peu d'efforts ont été faits pour relier les comptages de signes à des paramètres démographiques tels que le statut de reproduction. La tentative la plus populaire est l'utilisation du suivi de la neige pour déduire la reproduction [28, 32] ; mais il s'agit d'une méthode décalée dans le temps qui dépend de longues périodes de bonnes conditions d'enneigement l'hiver suivant la période de reproduction, absentes, par exemple, dans la majeure partie de l'aire de répartition Européenne du loup méridional.

Chez les loups, la territorialité est indiquée au moyen de marques visuelles et olfactives telles que les fèces, l'urine, les griffures au sol ou les agrégations de glandes anales [32-36]. Les membres de la meute accumulent ces marques, par exemple, en bordure de leur territoire ou aux abords de leurs sites de rencontre [32-36]. En règle générale, seuls les loups matures et dominants se reproduisent chaque année au sein de la meute [32], et ils présentent un comportement de marquage territorial intense par rapport aux autres membres de la meute [27, 37-39]. Nous avons donc émis l'hypothèse que, comme les membres de la meute, en particulier le couple reproducteur, utilisent des marques visuelles et olfactives pour indiquer la possession et la défense du territoire de la meute, des niveaux élevés de comportement de marquage autour de la saison de reproduction dans une zone pourraient refléter l'existence d'une meute organisée et d'un couple reproducteur qui réussit. Puisque les unités biologiques significatives pour le suivi des populations de loups sont la meute et le nombre de reproductions de loups, une forte abondance de marques de loups pendant cette période pourrait être utilisée comme un indicateur de reproduction réussie (c'est-à-dire la présence de petits) [39] et pourrait offrir un outil rentable pour le suivi des loups (c'est-à-dire le nombre de reproductions de loups). Cependant, à ce jour, aucune étude n'a tenté d'établir un lien en temps réel entre le comportement de marquage des loups et le statut de reproduction d'une meute [39]. Nous discutons de l'application de la méthode proposée ici pour le suivi des loups sur de grandes échelles spatiales (c'est-à-dire des pays ou des populations entières de loups).

METHODES D'ETUDE

Zone d'étude

L'étude a été réalisée dans les Monts Cantabriques, en Ibérie (environ 9 000 km² ; Fig. 1a), couvrant la région accidentée des Asturies et une petite zone montagneuse en Galice (à l'est de la province de Lugo, ci-après dénommée Lugo ; Fig. 1a). La végétation se compose principalement de maquis, de forêts et de prairies (pâturages). Les bois sont dominés par le hêtre (*Fagus sylvatica*), les chênes (principalement *Quercus petraea* et *Quercus pyrenaica*), le bouleau (*Betula pubescens*) et les châtaigniers anthropogéniques (*Castanea sativa*). Des arbres isolés ou de petits groupes de houx (*Ilex aquifolium*) et de sorbiers (*Sorbus aucuparia*) sont souvent disséminés dans les forêts matures ou secondaires. Les broussailles sont le type d'habitat prédominant et le niveau de fragmentation des forêts y est élevé [40]. La neige est présente de façon régulière (à la fois saisonnière et annuelle) entre décembre et mars.

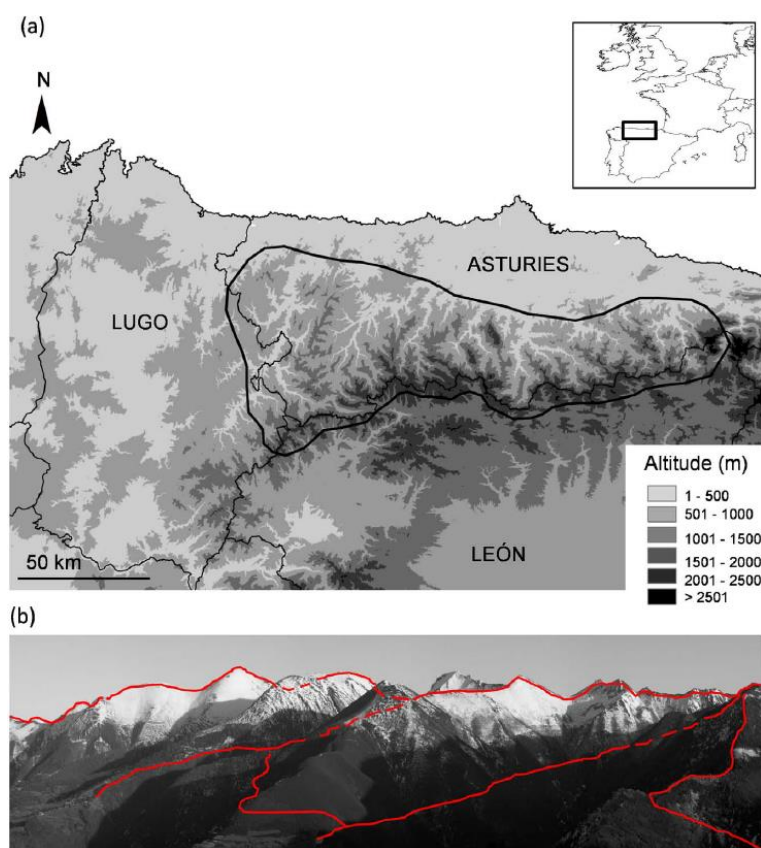


Figure 1. Zone d'étude et plan d'échantillonnage. (a) Carte montrant la zone d'étude située dans les Monts Cantabriques (nord de l'Espagne). (b) Schéma montrant la distribution spatiale des transects dans un site d'échantillonnage typique. doi:10.1371/journal.pone.0093015.g001

Collecte des marques de loup

Nous avons utilisé 42 sites d'échantillonnage avec une présence régulière de loups au cours des deux dernières décennies (39 dans les Asturies et 3 dans le Lugo). Chaque site d'échantillonnage comprenait 2 à 5 vallées et les montagnes environnantes couvrant environ 150 à 200 km² (voir Fig. 1b). Cette zone était d'une taille similaire à la taille moyenne du domaine vital rapportée chez les loups dans le nord de l'Ibérie [41]. Tous les sites ont été régulièrement échantillonnés entre 1994 et 2007 autour de la période d'élevage des petits (été-automne) dans le cadre de différentes études régionales sur les loups (de 1994 à 2004 dans les Asturies et de 2006 à 2007 dans le Lugo). Les informations provenant de ces études étaient comparables puisque les procédures de champ d'échantillonnage (voir les détails ci-dessous)

ont été mises en œuvre dans toutes les études pendant toute la période d'étude [42]. Chaque site d'échantillonnage a été étudié en moyenne 3 ans (de 1 à 6), avec un total de 120 sites d'échantillonnage par an (ci-après sites, notez qu'il s'agit de la taille de l'échantillon qui sera utilisée pour les analyses ultérieures). Dans chaque site, les marques de loup ont été recherchées par transects le long des chemins et des sentiers existants, à pied ou à l'aide d'un véhicule (<10 km h⁻¹) couvrant autant de zones sélectionnées que possible (voir Fig. 1b).

Les fèces et les marques de grattage au sol servent de repères visuels et olfactifs chez les loups [34-36]. En raison de leur fonction visuelle qui facilite leur détection par des observateurs de terrain ayant différents niveaux d'expertise par rapport à l'urine - qui dépend également des conditions d'enneigement -, nous avons considéré les deux marques visuelles du loup pour cette étude (ci-après marques du loup). La forme, la taille, le contenu, l'odeur et la position spatiale (c'est-à-dire la distance par rapport aux villages) étaient, en combinaison, des attributs diagnostiques pour déterminer les fèces de loup. Dans les cas où il y avait des doutes clairs sur l'identité de l'espèce, les fèces n'ont pas été collectées. Nous avons considéré que les critères utilisés pour identifier les fèces de loup et l'expérience des observateurs sur le terrain étaient fiables puisqu'un essai postérieur déterminant les fèces de loup en utilisant ces attributs diagnostiques et des analyses d'ADN parallèles a confirmé que 90% des fèces étaient correctement attribuées à des loups ($n = 108$, données non publiées). D'autre part, les marques de grattage au sol ont été identifiées sur la base de la taille, de la longueur et de l'intensité (c'est-à-dire en excluant les marques compatibles avec les chiens) [36]. La présence de fèces de loup accompagnant ce signe était un facteur important déterminant le grattage par les loups.

Comme l'échantillonnage aléatoire n'est pas efficace pour localiser les marques de loup [42], les enquêtes dans cette région montagneuse se sont concentrées sur les éléments du paysage souvent utilisés par les loups comme lieux de marquage (chemins et sentiers, en se concentrant particulièrement sur les jonctions et les cols de montagne ; voir Fig. 1b) [34, 42, 43] où la probabilité de détection des marques de loup par d'autres individus à l'intérieur et entre les meutes est maximisée. Les cols de montagne peuvent favoriser les mouvements de loups entre les vallées dans les zones montagneuses, faisant de ces endroits des points de repère importants au niveau du paysage. Par exemple, en considérant 10 transects traversant de tels cols dans notre zone d'étude, sur les 164 marques de loups trouvées sur un total de 83,5 km étudiés (une moyenne de 8,5 km par transect), 82% des marques de loups étaient situées dans ces sites remarquables particuliers (allant de 40% à 100% des marques de loups détectées par transect).

La capacité des loups à déposer leurs marques dans des sites bien visibles (à la fois sur une grande et une petite échelle spatiale) [34, 35, 39, 43] indique un certain degré de contrôle sur l'emplacement de leurs marques. Par exemple, les fèces des loups, qu'elles soient déposées comme marques olfactives ou non, sont reconnues comme des marques visuelles importantes et une source puissante d'odeur [34, 35, 39]. Bien qu'il soit difficile de distinguer les fèces avec et sans (c'est-à-dire l'excrétion) une intention de communication [35, 38], les membres de la meute semblent utiliser les substrats et les endroits visibles différemment selon leur position dans la hiérarchie sociale [38], et certaines fèces ont peut-être eu d'autres fonctions que le marquage territorial pendant la période d'étude (par exemple, le marquage de caches de nourriture vides) [35, 39], nous avons considéré que toutes les fèces déposées

sur les éléments du paysage mentionnés ci-dessus représentaient un certain type de comportement de marquage [39]. Cette hypothèse repose également sur le fait que les marques des loups ont été déposées sur des endroits bien visibles au niveau du paysage qui les mettent en valeur en tant que marques [32, 35, 36, 39, 43]. Cette procédure diminue la probabilité d'inclure des fèces de jeunes loups et de loups solitaires puisqu'ils placent plus souvent leurs fèces en dehors des sentiers [25, 26, 39]. De plus, compte tenu de la distribution spatiale postérieure des sites de rendez-vous - basée sur les résultats des hurlements et des points d'observation - les transects n'ont pas traversé les sites de rendez-vous, diminuant ainsi la probabilité de compter les fèces des petits comme des marques de loups et évitant l'inclusion d'agréations notables de fèces dans ces sites en raison de leur utilisation régulière par les membres de la meute (par exemple, les sites de repos) [32].

En tenant compte de la configuration du paysage et de la disponibilité des chemins et sentiers, 1 à 9 transects ont été échantillonnés dans chaque site avec un nombre moyen de 4 transects par site (médiane = 4), variant en longueur de 1 à 18 km (longueur moyenne par transect = 4,1 km, $n_{\text{transects}} = 463$). Tous les transects ont été réalisés une fois pendant la période d'élevage des petits. Soixante-dix-sept pour cent des transects ont été étudiés entre août et septembre, lorsque tous les individus de la meute sont relativement stables autour des sites de rendez-vous [32]. Les autres relevés ont été effectués entre octobre et début novembre. Le nombre de marques de loups par transect a été noté.

Succès de la reproduction

Deux méthodes complémentaires, le hurlement simulé et les points d'observation directe, ont été utilisées pour évaluer la reproduction des loups (c'est-à-dire la présence de petits sur les sites de rendez-vous). **Tout d'abord**, des hurlements simulés par l'homme ont suscité la réponse des adultes et des petits sur le site de rendez-vous [44]. A chaque point de hurlement, l'observateur émettait entre 3 et 5 hurlements, chacun séparé par des pauses de 5 à 8 secondes [44]. Si les loups ne répondaient pas dans les 2 minutes, l'observateur répétait ce processus 2 à 3 fois. La sélection des points de hurlement était basée sur la configuration du paysage (par exemple, la distribution des sites de rendez-vous potentiels en fonction de la disponibilité de refuges et de zones à faible activité humaine) [45], les conditions environnementales (sélection des meilleurs endroits garantissant des conditions optimales pour simuler les hurlements et entendre les réponses), et les informations recueillies précédemment lors de la collecte des marques de loup [42]. Les sessions de hurlements commençaient au coucher du soleil et s'étendaient sur les premières heures de la nuit, en évitant les nuits pluvieuses ou venteuses, et étaient réalisées entre août et octobre, lorsque le taux de réponse est remarquable [44] (occasionnellement début novembre). **Deuxièmement**, des points d'observation ont été utilisés pour contacter les louveteaux sur les sites de rendez-vous. L'observateur a utilisé $\times 8$ ou $\times 10$ jumelles et télescopes avec des objectifs de $\times 20-60$ zooms pour scanner les sites de rendez-vous potentiels et les zones environnantes pendant au moins une heure. Les points d'observation ont été effectués au lever et au coucher du soleil dans la même période de sessions de hurlements.

Nous n'avons considéré la reproduction que lorsque les petits répondaient positivement aux hurlements ou lorsqu'ils étaient observés sur le site de rendez-vous ou dans ses environs. L'effort d'échantillonnage a été presque constant entre les sites avec quatre jours investis par site, ce qui a représenté au total 480 jours sur la période d'étude.

Déclaration d'éthique...

Analyse des données

Pour chaque site, nous avons considéré deux mesures de l'abondance relative des marques de loup. **Tout d'abord**, nous avons calculé un indice relatif moyen d'abondance des marques de loup comme étant le rapport entre le nombre total de marques trouvées et la somme de la longueur de tous les transects étudiés (en kilomètres). **Deuxièmement**, nous avons identifié le transect présentant la valeur la plus élevée de l'indice relatif d'abondance (c'est-à-dire le rapport entre les marques trouvées et la longueur de chaque transect) et nous avons considéré cette valeur comme l'indice relatif d'abondance maximum par site. En outre, nous avons classé tous les sites dans une variable binaire, en fonction de la présence confirmée de petits.

Les différences dans l'effort d'échantillonnage entre les sites pourraient affecter soit la valeur des indices relatifs d'abondance utilisés, soit la probabilité de détecter la reproduction des loups, ce qui pourrait finalement affecter nos résultats. Par conséquent, nous avons d'abord testé si l'effort d'échantillonnage était différent entre les sites avec et sans reproduction confirmée de loups en comparant la longueur des transects ainsi que le nombre de points de hurlements et d'observation en utilisant les tests U de Mann-Whitney. Alors que la première comparaison nous donne une idée de l'homogénéité de l'effort d'échantillonnage pour trouver des marques de loups indépendamment de la présence de petits, les deux autres comparaisons nous informent sur l'investissement de l'effort dans la détection des petits. Nous avons supposé que des valeurs élevées de points de hurlements dans les zones sans reproduction confirmée de loups réduiraient la probabilité de fausses absences de petits.

Nous avons ensuite évalué la relation entre la reproduction des loups (c'est-à-dire la présence de petits) et les indices relatifs moyens et maximaux d'abondance des marques de loups (prédicteurs). Comme le même site a été échantillonné plusieurs années, nous avons construit des modèles mixtes linéaires généralisés (GLMM) avec une distribution d'erreur binomiale et un lien logit. Nous avons inclus le site et l'année comme facteurs aléatoires dans les modèles. Bien que l'effort d'échantillonnage par site (longueur totale du transect) ne diffère pas entre les sites avec et sans présence confirmée de petits ou entre les mois, sa variance est considérable (72 km), ce qui pourrait potentiellement affecter les relations étudiées. Par conséquent, nous avons inclus dans les modèles une covariable, la longueur totale du transect, afin de contrôler statistiquement leur effet potentiel. En outre, nous avons inclus une deuxième covariable dans les modèles (le mois) pour tenir compte des différences temporelles dans la détectabilité et l'abondance des marques de loup. Enfin, comme la longueur totale des transects par site est positivement corrélée avec le nombre de transects (coefficient de corrélation de Spearman, $r_s = 0,845$, $P < 0,0001$) et que le nombre de transects par site pourrait influencer l'indice relatif maximal d'abondance (la probabilité de trouver des indices plus élevés augmente avec le nombre de transects), nous avons inclus ce facteur comme une autre covariable dans le modèle avec l'indice relatif maximal d'abondance. Pour chaque modèle, nous avons estimé le R^2 marginal et le R^2 conditionnel selon Nakagawa et Schielzeth (2013) [46]. Le R^2 marginal représente la variance expliquée par des facteurs fixes (indices relatifs d'abondance des marques de loup, longueur totale des transects, mois, nombre de transects par site) tandis que le R^2 conditionnel est interprété comme la variance

expliquée à la fois par des facteurs fixes et aléatoires. Nous avons prédit la probabilité de reproduction des loups sur la base de l'intensité du comportement de marquage des loups et déterminé les points de coupure pour les deux indices d'abondance relative lorsque la probabilité de reproduction des loups était supérieure à 0,60, 0,80 et 0,99 (ces valeurs ont été sélectionnées en fonction de leur valeur informative et conservatrice du point de vue de la gestion). Tous les GLMM ont été ajustés avec SAS 9.2 (procédure GLIMMIX) [47].

RESULTATS

Au total, 1877 km ont été étudiés sur 463 transects avec une longueur moyenne (\pm s.d.) des transects de $15,6 \pm 8,5$ km par site. 1964 marques de loup ont été trouvées et 1497 hurlements (nombre moyen par site = 12,5, fourchette 1-43) et 307 points d'observation (nombre moyen par site = 2,5, fourchette 1-18) ont été utilisés pour confirmer la présence de louveteaux. Sur les 120 sites étudiés, la reproduction des loups a été confirmée dans 84 cas (70%).

En comparant les sites avec et sans reproduction, la longueur totale moyenne des transects était similaire, 14,8 km et 17,7 km respectivement, et nous n'avons pas détecté de différences significatives entre les groupes (test U de Mann-Whitney, $P = 0,151$, $n = 120$), ce qui indique une homogénéité dans l'effort d'échantillonnage investi entre les sites en relation avec le nombre de kilomètres étudiés. Cependant, le nombre de points de hurlements et d'observation était différent entre les groupes. Alors que le nombre de points de hurlements était significativement plus élevé dans les sites sans reproduction confirmée (16 *vs.* 11 ; test de Mann-Whitney U, $P = 0,005$, $n = 120$), le nombre de points d'observation a montré le schéma inverse (2 *vs.* 3 ; test de Mann-Whitney U, $P = 0,029$, $n = 120$). Bien que les points d'observation aient été effectués dans tous les sites indépendamment de la confirmation de la reproduction, ils ont particulièrement confirmé la reproduction des loups dans les sites où les sessions de hurlements étaient positives.

Le nombre moyen de marques de loup était environ 3 fois plus élevé dans les sites avec une présence confirmée de petits (20,3 *vs.* 7,2 marques dans les sites avec et sans reproduction confirmée, respectivement) avec l'indice relatif moyen d'abondance plus bas dans les sites sans reproduction confirmée (0,43 ; $n = 36$) par rapport aux sites avec reproduction confirmée (1,61 ; $n = 84$; Fig. 2). La même tendance a été observée pour l'indice relatif maximal d'abondance (1,19 *vs.* 3,16 respectivement ; Fig. 2). Nous avons trouvé une relation significative entre l'indice d'abondance relative moyen et maximal et la probabilité de reproduction des loups ($\chi^2 = 17,52$, d.f. = 1, $P < 0,0001$ et $\chi^2 = 14,55$, d.f. = 1, $P < 0,001$, respectivement ; Tableau 1 ; Fig. 3) lorsque le mois, la longueur totale du transect et le nombre de transects ont été contrôlés (toutes les covariables avec une $P > 0,285$; Tableau 1). Le modèle utilisant l'indice d'abondance relative moyenne des marques de loup a montré un R^2 marginal de 0,79 et un R^2 conditionnel de 0,84, alors que dans le cas du modèle considérant l'abondance relative maximale des marques de loup, le R^2 marginal était de 0,63 et le R^2 conditionnel de 0,77. Ces résultats indiquent que la variance expliquée par les facteurs aléatoires (meute et année) était faible.

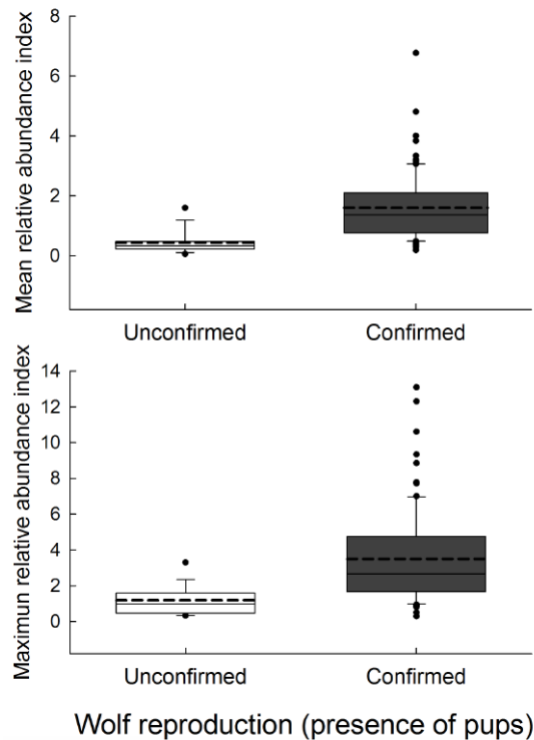


Figure 2. Box-plot montrant les indices moyens et maximaux d'abondance relative des marques de loup dans les sites avec et sans reproduction confirmée du loup (présence de petits). La boîte grise indique les sites où la reproduction des loups a été confirmée, tandis que la boîte blanche indique les sites où la reproduction des loups n'a pas été confirmée. La ligne continue à l'intérieur de la boîte indique la médiane, tandis que la ligne discontinue indique la valeur moyenne. L'extrémité inférieure de la boîte indique le 25^e centile, l'extrémité supérieure de la boîte indique le 75^e centile, et les barres d'erreur indiquent les 10^e et 90^e centiles. Les points indiquent les valeurs extrêmes. doi:10.1371/journal.pone.0093015.g002

Tableau 1. Estimations des paramètres (\pm s.e.) dans les modèles testant la relation entre l'abondance relative moyenne et maximale des marques de loup (marques km⁻¹) et la reproduction des loups

		Mean relative abundance index	Maximum relative abundance index
Model-effect		Parameter estimate (\pm s.e.)	Parameter estimate (\pm s.e.)
Intercept		-1.88 \pm 1.14	-0.51 \pm 1.17
Relative abundance of wolf marks		3.53 \pm 0.84*	1.32 \pm 0.34*
Sampling effort (km)		-0.01 \pm 0.04	0.05 \pm 0.07
Number of transects		-	-0.21 \pm 0.30
Month	September	0.51 \pm 0.84	0.99 \pm 0.87
	October	0.39 \pm 1.07	0.79 \pm 1.05
	November	-1.48 \pm 1.27	-0.77 \pm 1.21

Le niveau « mois (août) » est inclus dans l'intercept.

* Significatif à $P < 0,001$.

Notez que la covariable « nombre de transects » n'a pas été incluse dans le modèle avec l'indice moyen d'abondance relative (voir le texte pour plus de détails). doi:10.1371/journal.pone.0093015.t001

Nos modèles ont prédit une probabilité de reproduction du loup supérieure à 0,60, 0,80 et 0,99 pour un indice d'abondance relative moyen de 0,65, 0,93 et 1,84 marques de loup par km respectivement ; et un indice d'abondance relative maximum de 0,71, 1,45 et 3,88 marques par km, respectivement (Fig. 3). Les probabilités prédites de présence de loups par les deux indices étaient positivement corrélées (corrélation de Spearman coefficient, $r_s = 0,843$, $P < 0,0001$). En fait, en considérant les trois points de coupure établis et en se concentrant sur l'indice d'abondance relative moyenne, nous avons observé 100% de concordance avec l'indice d'abondance relative maximale pour déterminer la reproduction des loups pour une probabilité de 0,60, 97% pour une probabilité de 0,80, et 96% pour une probabilité de 0,99. La proportion de faux positifs augmente avec les valeurs inférieures des

points de découpage pour la probabilité de présence de petits (Tableau 2). A l'intérieur de chaque point de coupe sélectionné, cette proportion était toujours plus élevée pour l'indice d'abondance relative maximale (Tableau 2), bien que les différences ne soient pas significatives (test Z, toutes les *valeurs-P* >0,100 ; Tableau 2).

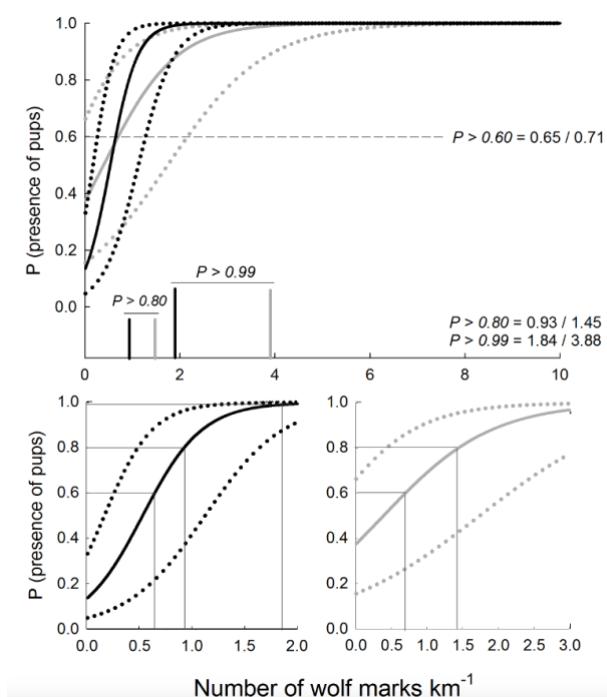


Figure 3. La ligne continue noire et grise se réfère à la moyenne et à l'indice d'abondance relative maximale des marques de loup, respectivement (\pm s.e., lignes pointillées). La ligne rayée montre le point de coupe de 0,60 ; tandis que les barres verticales noires et grises montrent les points de coupe de 0,80 et 0,99 pour la moyenne et l'indice d'abondance relative maximale, respectivement. Les nombres pour ces points de coupe se réfèrent au nombre de marques de loup km^{-2} pour l'indice d'abondance relative moyen (à gauche) et maximal (à droite). Pour plus de clarté, nous montrons également un zoom (en bas) sur ces probabilités prédites, avec des lignes indiquant la correspondance entre les points de coupe établis et les valeurs des indices d'abondance relative, pour la première gamme de valeurs du nombre de marques de loups km^{-2} . doi:10.1371/journal.pone.0093015.g003

Tableau 2. Proportion de faux positifs (erreur de type I) en utilisant les seuils de 0,60, 0,80 et 0,99 pour la probabilité prédite de reproduction des loups sur la base de l'indice d'abondance relative moyen et maximal

Cutting point	Mean relative abundance index	Maximum relative abundance index
	Proportion of false positives (number of total cases)	Proportion of false positives (number of total cases)
0.60	0.08 (75)	0.18 (101)
0.80	0.07 (61)	0.14 (80)
0.99	0.00 (26)	0.04 (22)

doi:10.1371/journal.pone.0093015.t002

DISCUSSION

Comportement de marquage du loup et comptage des signes

Les asymétries individuelles dans le comportement de marquage territorial peuvent influencer les indices d'abondance basés sur les marques [25, 26, 48, 49]. Ainsi, comprendre le lien entre les différents comportements de marquage et l'abondance des marques est le seul moyen d'interpréter efficacement les procédures de surveillance basées sur les marques (c'est-à-dire le comptage des signes). Chez les mammifères carnivores, la territorialité est généralement indiquée par des marques olfactives ou visuelles, telles que l'urine, les fèces ou le grattage du sol, ces marques jouant un rôle important dans l'entretien et la défense du territoire, l'indication du statut de reproduction, la démarcation des lieux de valeur tels que les parcelles riches en nourriture ou les sites d'habitation, ainsi que dans la communication

intraspécifique ou interspécifique [34-36, 50]. Dans le cas des loups, l'hypothèse selon laquelle seul le couple mature se reproduit [32] se traduit par un marquage territorial plus intense de la part des individus reproducteurs [26, 38, 45], en particulier dans les sites bien visibles, afin d'augmenter la probabilité de détection de la marque par les congénères. Au contraire, les loups solitaires ou les jeunes individus ont tendance à déposer moins de marques dans ces sites visibles que les loups reproducteurs et les autres membres de la meute [25, 32, 39].

Dans le cas des loups solitaires, ce comportement peut être particulièrement important pour diminuer la probabilité d'une rencontre avec les détenteurs d'un territoire. Des niveaux plus élevés d'hormones sexuelles détectés dans les fèces des loups situés dans des sites particulièrement visibles tels que les jonctions confirment ces schémas comportementaux [38]. Comme prévu, des niveaux élevés de marquage de loups pendant la saison de reproduction (période d'élevage des petits) reflètent l'existence d'un couple reproducteur et la présence de petits. L'observation selon laquelle le nombre de marques de loups était trois fois plus élevé dans les sites où la présence de petits était confirmée par rapport aux sites où des loups étaient présents mais où la présence de petits n'était pas confirmée mérite d'être mentionnée. Comme les petits sont principalement stationnaires autour des sites de rendez-vous pendant les premiers mois de leur vie, ils ne peuvent pas être responsables d'un plus grand nombre de fèces dans ces zones. D'autre part, l'absence de différences temporelles dans l'intensité du marquage territorial (nous n'avons détecté qu'une diminution non significative en novembre, voir Tableau 1) suggère une constance dans ce comportement au cours de cette période.

Détermination de la reproduction des loups

De simples comptages de marques et de signes fournissent des informations précieuses sur la présence, la distribution ou l'abondance relative des grands carnivores [10]. Cependant, la collecte de données sur les paramètres démographiques nécessite généralement d'autres approches intensives, invasives et coûteuses (par exemple le radio-tracking ou les analyses ADN), souvent réalisables dans le cadre d'efforts de recherche appliqués à de petites zones ou à de petites populations. A l'exception du snow-tracking - une approche différée dans le temps utilisée pour déterminer l'occurrence des événements de reproduction sur la base du nombre d'individus détectés (traces) au cours de l'hiver suivant - qui présente plusieurs contraintes logistiques liées aux conditions d'enneigement, à l'échelle spatiale (coût élevé et effort de terrain important nécessaire) et, parfois, à l'interprétation [28], à notre connaissance, c'est la première fois qu'il est établi une relation en temps réel entre l'intensité du marquage territorial et la probabilité de la reproduction des loups.

Le niveau de confiance déterminant la probabilité de reproduction des loups dans une zone donnée pourrait être adapté en fonction des différents objectifs de gestion et des scénarios de population. Par exemple, nous recommandons un niveau fiable dans les petites populations (points de coupure de 0,80 ou 0,99) en diminuant la probabilité de faux positifs (erreur de type I, voir Tableau 2), alors que cette probabilité pourrait être conservatrice (0,60) dans les grandes populations. L'indice moyen d'abondance relative a montré une faible probabilité de faux positifs (inférieure à 0,10 pour tous les points de découpage) ; étant nulle pour le point de découpage de 0,99. Ainsi, en règle générale, nous suggérons un point de découpage de 0,60 dans la probabilité de reproduction des loups pour surveiller les loups à

l'échelle régionale et l'utilisation de la moyenne au lieu de l'indice maximal d'abondance relative des marques de loups. Cette option réduira l'influence des transects courts avec un nombre élevé de marques de loup ou un petit nombre de transects par site sur la probabilité de reproduction des loups. En combinant cette méthode avec différents critères spatiaux, tels que la distance entre les meutes dans différents scénarios (zones saturées, non saturées ou en voie de rétablissement) ou des territoires de loups simulés, il serait possible d'améliorer les estimations sur le nombre de meutes de loups. En outre, nous soulignons qu'une approche similaire basée sur le comportement de marquage des loups pourrait déterminer la probabilité d'occurrence de meutes non reproductrices. Cette application nécessiterait la compréhension des différences dans l'intensité du marquage territorial dans les zones avec des individus solitaires ou flottants et les zones avec des paires non reproductrices établies ou des groupes familiaux.

Bien que nos analyses aient été contrôlées pour la détectabilité des marques, nous reconnaissons qu'avant de généraliser l'utilisation de cette méthode, il est nécessaire de développer des essais similaires dans d'autres configurations de paysage et populations de loups évaluant les changements quantitatifs dans les valeurs des indices d'abondance relative dans les seuils établis pour la probabilité de reproduction des loups (0,60, 0,80 et 0,99). Par exemple, plusieurs études suggèrent que les loups utilisent des infrastructures linéaires pour placer une proportion significative de leurs marques territoriales [31, 32, 34, 42, 43], mais la façon dont la configuration du paysage influence ce comportement de marquage n'est pas connue. Une autre préoccupation importante dans l'utilisation de cette méthode serait la faisabilité de l'identification des marques de loups. Cependant, les caractéristiques décrites ci-dessus peuvent être utilisées efficacement comme attributs de diagnostic, avec la formation des observateurs, ce qui permet d'obtenir des taux élevés d'attribution correcte [52].

D'autre part, même si nous avons utilisé une approche d'échantillonnage multiple pour déterminer les événements de reproduction, il est bien connu que les deux méthodes ne sont pas complètement efficaces [53, 54], et l'existence d'un nombre important de fausses absences pourrait affecter nos résultats. Cependant, dans notre cas, l'effort d'échantillonnage a été plus important dans les sites où les petits n'ont pas été détectés, ce qui a diminué la probabilité de fausses absences de reproduction des loups. En fait, pour les deux indices d'abondance relative, les 25^e percentiles des sites où la reproduction des loups a été confirmée ne se chevauchaient pas ou montraient un faible chevauchement avec les 75^e et 90^e percentiles, respectivement, des sites où la reproduction des loups n'a pas été confirmée (Fig. 2), ce qui suggère que le nombre de fausses absences était faible. Enfin, comme la probabilité de reproduction des loups était indépendante de l'effort d'échantillonnage, ce qui indique l'importance d'un **échantillonnage stratifié** pour surveiller les loups sur la base de leur comportement de marquage, d'autres études sont nécessaires pour optimiser la conception de l'échantillonnage (par exemple, la longueur minimale des transects). De plus, étant donné que les membres de la meute semblent utiliser différemment les substrats et les endroits visibles pour leur comportement de marquage [38], l'influence des différents niveaux de marquage territorial, en fonction des attributs individuels et des sites visibles considérés, sur les relations étudiées mérite d'être étudiée plus en détail.

Nos résultats réduiraient objectivement le niveau d'incertitude dans l'estimation du nombre de meutes, en particulier lorsqu'ils ne sont pas confirmés par d'autres procédures [53]. Par

exemple, de nombreux programmes de surveillance simulent des hurlements pour localiser les petits [22, 23], mais cette méthode présente également des inconvénients liés à la subjectivité de l'observateur qui détermine la participation des petits à un hurlement en cœur et au fait qu'il arrive que les loups ne répondent pas, ainsi qu'à ses contraintes logistiques lorsqu'elle est appliquée à de grandes échelles [54]. Pour les études sur les loups couvrant de grandes zones, il a été suggéré que l'efficacité des hurlements simulés pourrait être améliorée en sélectionnant des sites de hurlements dans les endroits où il y a les plus grandes concentrations de marques de loups pendant la période de reproduction [42]. En d'autres termes, en sélectionnant des sites où la probabilité de reproduction des loups est élevée sur la base de l'intensité du marquage territorial, comme le montre cette étude. Dans les études sur les loups basées sur le hurlement, cette méthode pourrait ajouter une approche objective pour déterminer la probabilité de reproduction des loups lorsqu'une abondance relative élevée de marques de loups est trouvée dans une zone donnée, mais que la présence de petits n'est pas vérifiée à l'aide du hurlement.

Enquête sur les loups à grande échelle spatiale

Au cours des dernières années, la possibilité d'estimer le nombre de loups ou de meutes (ou le nombre de reproductions) a fait l'objet d'un débat intense et controversé. Finalement, les biologistes et les gestionnaires de loups semblent s'accorder sur la signification robuste et biologique des meutes comme unité de suivi des loups [16], qui pourrait être facilement estimée avec la méthode proposée ici. Cependant, le suivi et la gestion sont des processus interactifs, et par conséquent, les objectifs de gestion pour chaque population de loups détermineront le niveau de précision requis dans les estimations de loups (individus ou meutes). Par exemple, pour les petites populations telles que la population en danger critique d'extinction située dans la Sierra Morena (Espagne ; <50 individus) [27, 29], le niveau d'information approprié permettrait d'estimer à la fois le nombre d'individus, en utilisant des approches intensives, et le nombre de meutes. Cependant, le premier niveau de précision peut s'avérer inutile pour les grandes populations, telles que la population de loups Ibériques du nord-ouest, en supposant des niveaux d'incertitude plus élevés jusqu'à ce que la population ne soit pas en dessous d'une valeur critique, telle qu'un nombre annuel donné de meutes, le nombre de reproductions ou la taille efficace de la population (nombre minimum de paires reproductrices). À cet égard, en adoptant une approche rentable, le nombre de meutes pourrait servir d'information sentinelle pour passer d'une procédure de surveillance intensive (individus et meutes) à une procédure de surveillance simple et extensive (meutes) et vice versa.

Nous proposons que cette procédure puisse être facilement exportée vers d'autres populations de loups et d'autres pays. Dans toute l'Europe, la coopération transfrontalière en matière de gestion des loups est un besoin pressant [29]. Cela nécessite une coordination entre toutes les autorités et les actions, y compris la compatibilité et/ou la convergence des méthodes de suivi et des informations ciblées. Comme cette méthode ne repose pas sur des procédures ou des équipements complexes, elle peut être relativement simple et rapide à mettre en œuvre par les gardes forestiers, le personnel technique ou les bénévoles, et facilement appliquée dans les échantillonnages de routine. L'utilisation du nombre de meutes peut rendre les estimations plus homogènes dans un contexte transfrontalier.