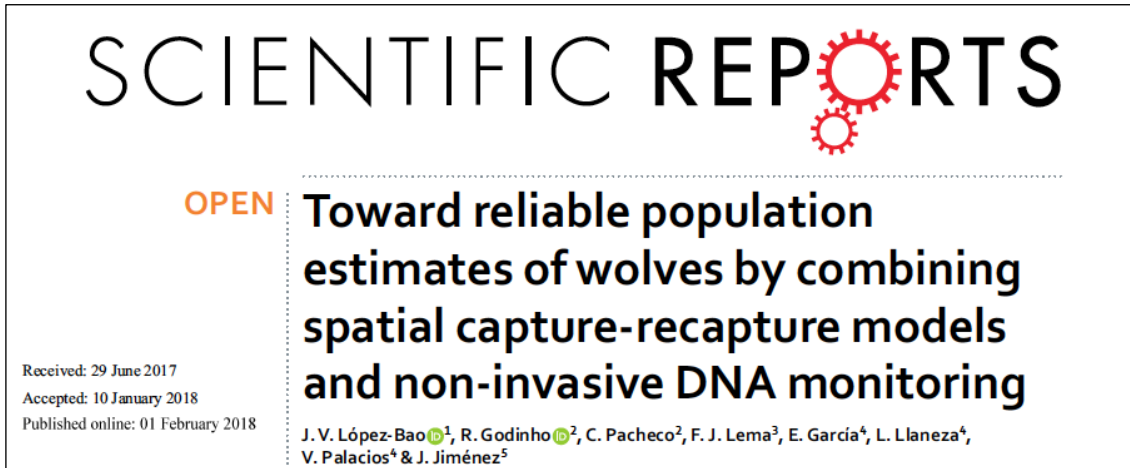


## Vers des estimations fiables de la population de loups en combinant des modèles de capture-recapture spatiale et une surveillance non invasive de l'ADN



### Résumé

Les décideurs en matière de politique de la faune sauvage ont besoin d'estimations fiables de la taille des populations pour justifier leurs interventions, pour faire accepter et soutenir leurs décisions et, en fin de compte, pour renforcer la confiance dans les autorités de gestion. Les approches traditionnelles de capture-recapture présentent deux lacunes principales, à savoir l'incertitude dans la définition de la zone d'échantillonnage efficace et l'hétérogénéité induite dans l'espace des probabilités de rencontre. Ces limitations sont surmontées grâce aux approches de capture-recapture spatialement explicites (SCR). En utilisant les loups comme étude de cas, et un suivi non invasif de l'ADN (fèces), nous avons mis en œuvre une SCR avec un modèle d'observation de Poisson dans une seule enquête pour estimer la densité des loups et la taille de la population, et identifier les emplacements des centres d'activité individuels, dans le nord-ouest de la péninsule Ibérique sur 4 378 km<sup>2</sup>. Pendant la période de reproduction, la densité moyenne a posteriori des loups était de 2,55 loups/100 km<sup>2</sup> (95% BCI = 1,87-3,51), et la taille moyenne a posteriori de la population était de 111,6 ± 18,8 loups (95% BCI = 81,8-153,6). Les études de simulation portant sur différents scénarios de non-indépendance et d'agrégation spatiale des individus n'ont révélé qu'une légère sous-estimation des estimations de la taille de la population, ce qui confirme la fiabilité du SCR pour les espèces sociales. La stratégie utilisée ici (surveillance de l'ADN combinée au SCR) peut être un moyen rentable de générer des estimations de population fiables pour les grands carnivores à l'échelle régionale, en particulier pour les espèces en voie de disparition ou les populations soumises à la gestion du gibier.

### INTRODUCTION

L'estimation de l'abondance des espèces est l'une des questions les plus controversées dans le domaine de la conservation et de l'écologie appliquée<sup>1,2</sup>. La fiabilité est essentielle pour faire accepter et soutenir les décisions de gestion et, en fin de compte, pour susciter la confiance des autorités de gestion. Dans le cas contraire, la spéculation et la méfiance peuvent apparaître après la prise de décision, ce qui peut compromettre l'ensemble des stratégies de gestion ou de conservation<sup>1,3</sup>. Des estimations de population incorrectes peuvent conduire à des interprétations erronées de l'état des populations, de l'impact des interventions (par

exemple, les quotas de chasse ou les programmes d'abattage) ou du degré de réalisation des objectifs de conservation.

La gestion des grands carnivores est controversée en raison des multiples intérêts politiques, socio-économiques et de conservation en jeu. Les informations sur la taille des populations ou l'impact des interventions sont constamment demandées, non seulement par les gestionnaires, les chercheurs et les défenseurs de l'environnement, mais aussi par d'autres groupes d'intérêt. C'est ce qu'illustrent les débats récurrents sur les effectifs des grands carnivores, en particulier sur les espèces menacées et charismatiques, comme les tigres (*Panthera tigris*), les lions (*Panthera leo*) ou les loups (*Canis lupus*)<sup>4-8</sup>. Des objectifs de population clairs sont souvent fixés par les autorités de gestion et sont devenus des questions politiques, des évaluations fiables des changements dans les aires de répartition des grands carnivores et dans la taille des populations étant nécessaires pour justifier les mesures prises<sup>9</sup>.

Les loups sont un bon exemple d'une espèce dont les estimations de la taille de la population et de l'aire de répartition sont systématiquement exigées par de multiples acteurs (gouvernements, éleveurs de bétail, défenseurs de l'environnement), et dont les objectifs de population sont souvent établis par rapport à d'autres espèces sauvages. Les estimations relatives au loup sont nécessaires pour satisfaire aux obligations légales en Europe<sup>10</sup> et aux États-Unis<sup>11</sup>. Les autorités Espagnoles ont approuvé un objectif de rétablissement à court terme de 15 meutes pour un minimum de 20 reproductions et un maximum de 210 individus<sup>13</sup>. Le parlement Norvégien a fixé un objectif national de quatre à six portées de loups par an<sup>14</sup>. L'objectif de rétablissement des loups dans le nord des montagnes Rocheuses après leur réintroduction dans le parc national de Yellowstone et le centre de l'Idaho, aux États-Unis, a été fixé à > 300 loups et > 30 couples reproducteurs répartis uniformément entre les zones de rétablissement pendant trois années consécutives<sup>15</sup>.

Le nombre de meutes ou de reproductions de loups est souvent la base du suivi des loups<sup>16-18</sup>, et peut rendre les estimations de la taille de la population de loups plus homogènes dans un contexte transfrontalier et régional. Néanmoins, de nombreuses stratégies de gestion des loups combinent encore le nombre de meutes/reproductions avec le nombre d'individus. En Europe, par exemple, les estimations rapportant le nombre d'individus prévalent toujours<sup>19</sup>, nécessitant un exercice de conversion à partir du nombre de meutes/reproductions (généralement en utilisant des estimations sur la taille des meutes). Bien que le nombre de meutes ou de reproductions soit un objectif raisonnable pour le suivi des loups à l'échelle régionale<sup>17</sup>, outre les incohérences entre les objectifs de gestion (souvent basés sur le nombre d'individus, par exemple pour établir des quotas de chasse) et les objectifs de suivi (meutes ou reproductions), il existe des cas où l'estimation du nombre de loups peut s'avérer importante. Il s'agit par exemple des populations de loups de petite taille et menacées, comme celles de la Sierra Morena<sup>12</sup> ou du Mexique<sup>21</sup>, et des populations soumises à une gestion cynégétique<sup>6</sup>.

Différentes méthodes de terrain et approches analytiques ont été utilisées pour relever le défi de l'étude des populations de grands carnivores à l'échelle régionale<sup>17, 22-26</sup>, y compris le suivi non invasif de l'ADN<sup>21, 23, 27</sup>. Cette méthode, combinée aux procédures traditionnelles de capture-recapture, est souvent présentée comme une stratégie prometteuse pour obtenir des estimations robustes, réalisables et économiquement abordables de la taille des populations.

Néanmoins, plusieurs contraintes ont été identifiées lors de la mise en œuvre de cette stratégie de surveillance. Une limitation récurrente est l'imprécision lorsqu'il s'agit de définir l'aire d'échantillonnage effective<sup>28</sup>. Lors de l'utilisation des procédures traditionnelles de capture-recapture, des informations spatiales supplémentaires sont nécessaires pour définir l'aire d'échantillonnage effective, telles que les informations fournies par les individus munis d'un collier<sup>29,30</sup>. En outre, le nombre minimum et le type d'individus munis d'un collier nécessaire pour saisir les paramètres de mouvement d'une population doivent être **représentatifs**. D'autre part, les probabilités de rencontre sont hétérogènes parmi les individus exposés à l'échantillonnage<sup>31</sup>.

Cependant, le développement d'approches de capture-recapture spatialement explicites (SCR) - reliant la taille de la population à l'espace en estimant une variable latente représentant la localisation et le nombre de centres d'activité des individus - permet d'estimer la densité, définie comme l'intensité locale d'un processus ponctuel spatial<sup>32</sup>, en tenant compte de l'hétérogénéité des probabilités de rencontre. Dans les approches SCR, la zone d'échantillonnage effective est estimée sur la base du processus spatial ponctuel sous-jacent, en utilisant les informations relatives aux rencontres des individus entre les détecteurs<sup>31</sup>. Bien qu'il soit possible d'intégrer d'autres sources d'informations spatiales, telles que les données télémétriques<sup>33</sup>. **Pour les grands carnivores, dans le cadre du SCR, plusieurs méthodes d'échantillonnage sur le terrain ont été utilisées pour générer des données de rencontres spatiales, principalement des données de piégeage par caméra<sup>34-36</sup> et un suivi non invasif de l'ADN<sup>37-39</sup>.** Les occasions (c'est-à-dire les opportunités répétées d'observation) peuvent être réalisées dans l'espace ou dans le temps (par exemple, un site échantillonné plusieurs fois ou plusieurs sites échantillonnés une seule fois). Dans ce cadre, les approches SCR basées sur une seule enquête et utilisant un modèle d'observation de Poisson permettent des estimations de densité<sup>40, 41</sup>.

La SCR suppose que les distributions des centres d'activité animale sont uniformément et indépendamment réparties sur l'espace d'état (S) - la zone qui comprend tous les individus potentiellement exposés à l'échantillonnage<sup>32</sup>. Cependant, ces deux hypothèses ne sont pas respectées par de nombreuses espèces. Par exemple, chez les carnivores sociaux et territoriaux, comme les loups ou les lions, une grande partie de la population vit en meute ou en troupe, respectivement. Chez les carnivores solitaires, comme de nombreuses espèces de félins ou les ours<sup>42</sup>, les femelles adultes et les jeunes (c'est-à-dire les groupes familiaux) restent ensemble pendant plusieurs mois au cours du cycle annuel avant de se disperser. Chez les loups, **l'unité fonctionnelle** est la meute, mais les populations de loups présentent une proportion variable d'individus non résidents<sup>43</sup>. **Bien que la taille des domaines vitaux des loups soit influencée par des attributs individuels (par exemple, l'âge, le sexe, le statut reproductif)<sup>43,44</sup>, la cohésion de la meute varie tout au long du cycle annuel<sup>45,46</sup> et les membres de la meute peuvent utiliser l'espace différemment à l'intérieur des territoires de la meute<sup>47</sup>, le chevauchement spatial des domaines vitaux des membres de la meute étant élevé<sup>44, 47</sup>.**

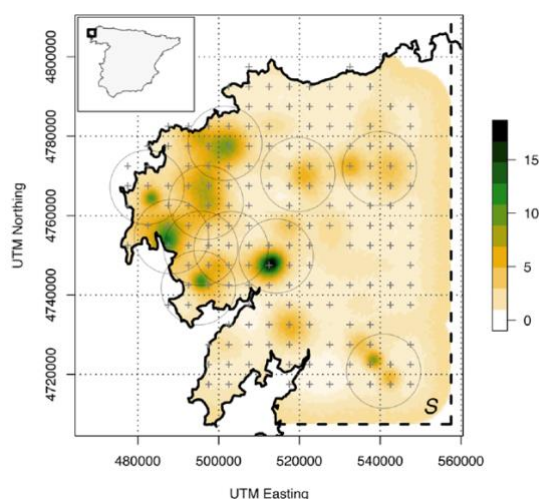
Ici, nous avons combiné un suivi non invasif de l'ADN (fèces) avec un modèle d'observation de Poisson SCR dans une enquête unique pour démontrer la performance de cette stratégie de suivi dans l'estimation de la densité des loups et de la taille des populations, et pour identifier les centres d'activité des loups à l'échelle régionale. En utilisant les loups comme exemple illustratif, nous avons utilisé des simulations pour montrer comment les modèles

SCR fonctionnent avec des espèces violant les hypothèses selon lesquelles les distributions des centres d'activité des animaux et les mouvements des animaux sont indépendants<sup>32</sup>. En outre, pour apporter un soutien supplémentaire à cette stratégie de surveillance, nous avons comparé les estimations du paramètre d'échelle spatiale sigma ( $\sigma$ ) - lié au mouvement des individus - obtenues à partir du modèle SCR, avec des données empiriques provenant d'un ensemble de loups munis de colliers dans la zone d'étude.

## MATERIEL ET METHODES

### Collecte d'échantillons et analyses génétiques

Nous avons testé l'utilisation d'un suivi non invasif de l'ADN (fèces) avec un modèle d'observation de Poisson SCR dans une seule enquête dans la population de loups de Costa da Morte et de ses environs (ci-après CM ; Galice, nord-ouest de l'Espagne) (Fig. 1 et S4), un segment de la population de loups Ibériques du nord-ouest<sup>18</sup> couvrant 4 378 km<sup>2</sup>, et où 11 meutes reproductrices ont été détectées en 2013<sup>48</sup>. Pendant la période de reproduction des loups en 2013 (mai-octobre, y compris la période d'élevage des petits), 317 fèces ressemblant à celles des loups ont été collectées à travers le CM. En collaboration avec les gardes forestiers du gouvernement régional de Galice, les fèces ont été recherchées le long de transects éloignés des établissements humains<sup>26</sup>. L'échantillonnage aléatoire n'est pas efficace pour localiser les fèces de loups ; par conséquent, l'échantillonnage des crottes s'est concentré 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)<sup>26</sup>. Un minimum de 10 km de transects a été investi pour chaque cellule UTM de 10 × 10 km, soit un total d'environ 750 km sur la zone d'étude (Fig. S1 et S2). L'étude d'un minimum de 10 km par cellule a permis d'obtenir une probabilité de détection des loups supérieure à 0,6<sup>17</sup>, ce qui est probablement influencé par la persistance des fèces de loups. Tous les échantillons ont été géoréférencés à l'aide d'un GPS et conservés dans de l'éthanol à 96% à température ambiante.



**Figure 1.** Densité moyenne postérieure des centres d'activité des loups dans la zone d'étude. Les emplacements spatiaux des détecteurs sont indiqués par des « + » (en gris). S : espace d'état. Nous avons inclus la localisation approximative des territoires de reproduction (cercles gris) en créant une zone tampon conservatrice centrée sur les sites de rendez-vous des meutes reproductrices connues en 2013<sup>48</sup>. Le choix de la taille des cercles a été basé sur des informations antérieures sur la moyenne et l'écart-type des tailles des domaines vitaux des loups subadultes/adultes appartenant à des meutes dans le nord-ouest de l'Ibérie ( $122,1 \pm 93,6$  km<sup>2</sup>)<sup>52</sup> (la zone était égale à la moyenne plus l'écart-type = 215 km<sup>2</sup>). La figure a été produite par José Jiménez à l'aide de R<sup>55</sup>

Des détails sur le génotypage sont fournis dans Pacheco et al.<sup>49</sup> et dans l'Annexe S1. L'identification des espèces d'ADNmt a été réalisée pour 288 échantillons (91%). Sur la base

de la qualité de l'ADN, 172 échantillons ont été examinés en vue d'une identification individuelle à l'aide de quatre répliques de 18 marqueurs informatifs ancestraux<sup>50</sup>. Après une analyse bayésienne visant à exclure les chiens (détails des semences dans Pacheco et al.<sup>49</sup>), quatre-vingt-quinze échantillons de loups ont atteint un génotype consensuel (55%) avec <20% de données manquantes, suivant les règles définies dans Godinho et al.<sup>50</sup>. De multiples facteurs peuvent influencer le taux de réussite du génotypage et de l'identification individuelle, comme l'âge des crottes de loup (lié à la présence d'odeur)<sup>51</sup>. Néanmoins, le taux de réussite observé dans cette étude était similaire à d'autres valeurs rapportées dans des études utilisant de l'ADN non invasif<sup>51</sup>. L'abandon allélique estimé à travers les loci était ADO = 0,033, et les faux allèles estimés étaient FA = 0,005<sup>49</sup>. Après regroupement des génotypes identiques<sup>49</sup>, nous avons identifié 65 loups individuels. Cet ensemble de données avait une probabilité d'identité (PID) =  $4,19 \times 10^{-8}$  et une PID de frères et sœurs =  $4,01 \times 10^{-4}$  (Annexe S1).

### Estimations concernant les loups

Nous avons appliqué une approche de modélisation SCR pour estimer la densité des loups, la taille de la population et la distribution des centres d'activité des individus dans le CM. Conceptuellement, les centres d'activité sont des points si représentant « *l'endroit où vit l'animal i de la population de taille N* ». Formellement, la séquence de points  $s_1, \dots, s_N$  est une réalisation d'un processus latent de points spatiaux, et permet l'estimation de la densité à l'aide de modèles SCR. Le modèle SCR suppose que chaque individu  $i$  de la population a son propre centre d'activité  $s_i$  et que tous les centres d'activité sont répartis dans la zone d'étude. En outre, la probabilité de rencontre ( $p_{ij}$ ) est une fonction décroissante de la distance entre le centre d'activité de l'individu  $i$  ( $s_i$ ) et l'emplacement du détecteur  $j$  ( $x_j$ ). Par conséquent, le SCR traite le mouvement des individus en supposant que chaque individu a un centre d'activité et que la probabilité de capture des individus est une fonction de la distance entre les centres d'activité et les emplacements des détecteurs. Dans notre cas, comme la collecte des fèces de loup n'était pas liée à des pièges physiques, nos détecteurs étaient les centroïdes des cellules de la grille d'échantillonnage, et l'effort investi dans la recherche d'échantillons à l'intérieur des cellules a été utilisé comme covariable « au niveau des détecteurs ».

Nous avons construit une couche de cellules de grille, la taille des cellules étant petite par rapport aux domaines vitaux typiques des loups. Compte tenu des informations antérieures sur l'écologie spatiale des loups dans le nord-ouest de l'Ibérie, nous avons créé une grille de cellules de  $5 \times 5$  km ( $25 \text{ km}^2$ ) sur la zone d'étude. La taille des cellules était bien inférieure à la taille moyenne ( $\pm$  SD) du domaine vital des loups subadultes/adultes appartenant à des meutes dans le nord-ouest de l'Ibérie ( $122,1 \pm 93,6 \text{ km}^2$ )<sup>52</sup>. Cette taille de cellule a été choisie pour éviter une perte excessive de résolution dans le paramètre d'échelle sigma ( $\sigma$ ) - un paramètre qui détermine le déclin de la fréquence de détection des individus dans les détecteurs avec l'augmentation de la distance de leurs centres d'activité -, résultant en 174 cellules de  $5 \times 5$  km dans CM (Fig. S2). Chaque centroïde de cellule a été considéré comme un emplacement de détecteur (Fig. S1). Ainsi, nous avons modélisé les centroïdes (emplacements des détecteurs) comme des détecteurs de comptage car le même loup peut être détecté dans plusieurs cellules au cours de l'échantillonnage et plus d'un individu peut être détecté dans le même détecteur<sup>32</sup>. Toutes les fèces génotypées ont été assignées à leur détecteur. L'historique des rencontres est une matrice bidimensionnelle  $y$  ( $i \times j$ ), car nous avons utilisé une seule occasion.

Par conséquent, le nombre de fois qu'un individu  $i$  est localisé dans un détecteur  $j$  est distribué selon une loi de Poisson avec une moyenne de  $\lambda_{ij}$  :

$$y \sim \text{Poisson}(\lambda_{ij}) \quad (1)$$

La fonction de liaison entre l'emplacement des détecteurs et les centres d'activité suit une distribution semi-normale<sup>32</sup> :

$$\lambda_{ij} = \lambda_0 \exp\left(-\frac{d_{ij}^2}{2\sigma^2}\right) \quad (2)$$

où  $d_{ij}$  est la distance entre le centre d'activité de chaque individu  $s_i$  et l'emplacement du détecteur  $x_j$ , et  $\lambda_0$  est la probabilité de rencontre de base. La probabilité de rencontre de référence est modélisée par une fonction logarithmique dépendant de l'effort d'échantillonnage dans chaque cellule, et  $\sigma$  est le paramètre d'échelle gaussien pour la fonction de distance entre les centres d'activité et les emplacements des détecteurs (Fig. S2) :

$$\log(\lambda_0[j]) = \alpha_0 + \alpha_1 \times L[j] \quad (3)$$

Comme plusieurs cellules partagent des surfaces terrestres et marines dans CM (Fig. 1), nous avons utilisé la densité des transects ( $\text{km km}^{-2}$ ) dans chaque section terrestre des cellules comme covariable tenant compte de l'effort d'échantillonnage  $L[j]$ . La densité des transects a été mise à l'échelle et centrée, et  $\alpha_0$  et  $\alpha_1$  étaient les paramètres à estimer. Le nombre total de centres d'activité ( $N$ ) a été calculé en utilisant l'approche d'augmentation des données<sup>32</sup>. Les historiques de rencontres tout-zéro (500 individus potentiels) ont été ajoutés aux historiques de rencontres des individus détectés. Nous avons généré l'espace d'état ( $S$ ) en ajoutant un tampon de 10 km à la grille de détection. Cette distance doit être  $>2,5 \times \sigma$ <sup>32</sup>. L'espace d'état résultant était d'environ 7 500  $\text{km}^2$ . Nous avons utilisé une application de « l'astuce du zéro » pour tamponner un réseau de détecteurs irrégulier (c'est-à-dire près du littoral) sans discrétiser l'espace d'état<sup>53</sup>. Nous avons mis à l'échelle et centré  $S$  en divisant les coordonnées spatiales (m) par 10 000<sup>32</sup>.

Nous avons ajusté un modèle d'observation distribué de Poisson nul ( $M_0$ ) dans un cadre bayésien en utilisant Nimble v.0.6-2<sup>54</sup> et R<sup>55</sup> (Annexe S2). Nous avons exécuté 3 chaînes de l'échantillonneur MCMC avec 50 000 itérations chacune, ce qui a donné 150 000 échantillons totaux à partir des distributions postérieures conjointes. Pour vérifier la convergence des chaînes, nous avons évalué la convergence et le mélange MCMC en inspectant visuellement les tracés pour chaque paramètre d'intérêt, et nous avons calculé la statistique de Gelman-Rubin  $R\text{-hat}$ <sup>56</sup> à l'aide du package R *coda*<sup>57</sup>, où les valeurs inférieures à 1,1 indiquaient une convergence. Nous avons évalué la qualité de l'ajustement du modèle en utilisant l'approche bayésienne de la valeur p et deux statistiques d'ajustement (décrites dans Royle et al.)<sup>32</sup> : **i**) les fréquences de rencontre individuelles, qui évaluent l'hétérogénéité des fréquences de rencontre due à l'espace (c'est-à-dire que dans les modèles SCR, l'espace factoriel explicite explique une partie de l'hétérogénéité) ; et **ii**) les fréquences des détecteurs, qui sont basées sur l'agrégation des individus et des répliqués pour former les fréquences de rencontre du centroïde (Annexe S2).

Les approches SCR supposent que tous les individus sont uniformément et indépendamment distribués dans l'espace d'état  $S$ . Nous avons étudié l'influence de ces violations sur les

estimations de la densité de population en réalisant trois études de simulation (décrites à l'Annexe S3). Nous avons testé l'influence du caractère aléatoire de la localisation des meutes de loups dans l'espace des états, car l'identification de la localisation spatiale des centres d'activité est plus précise à l'intérieur de la grille de détection.

### Informations spatiales sur les loups

Nous avons évalué la performance de cette approche de modélisation en comparant  $\sigma$  de  $M_0$  avec deux estimations de paramètres sigma basées sur le comportement spatial des loups ( $\hat{\sigma}_{hr}$  et  $\hat{\sigma}_{hr2}$ ). Nous avons utilisé les informations spatiales de 18 loups munis d'un collier dans la zone d'étude entre 2006 et 2014. Les loups ont été capturés à l'aide de collets Belisle©leg-hold (Edouard Belisle, Canada), immobilisés chimiquement par injection intramusculaire de médétomidine (Domitor®, Merial, France ; 0,10 mg/kg) et équipés de colliers GPS-GSM (Followit, Suède). Notre ensemble de données était composé de 9 mâles et 9 femelles, de  $\geq 2$  ans, et considérant les individus intégrés et non intégrés dans les meutes. Nous avons utilisé un ensemble de données total de 5 432 localisations (2 localisations par jour et par loup ; nombre moyen de localisations par loup = 302, fourchette 34-789). Afin d'étayer davantage cette approche de modélisation, nous avons également comparé les estimations de sigma au cours de la même période de l'année ( $\hat{\sigma}_{hr2}$ ), pour tenir compte des variations du comportement spatial des loups tout au long du cycle annuel<sup>43</sup>. Pour ce faire, nous avons subdivisé notre ensemble de données sur les informations spatiales relatives aux loups en ne considérant que les lieux situés entre mars et octobre, correspondant à la période de suivi de l'ADN plus deux mois précédents en raison de la persistance potentielle de fèces de loups sur le terrain. Cet ensemble de données était composé de 3 650 localisations de 16 loups (de 26 à 549 localisations par individu). Nous avons estimé les domaines vitaux individuels ( $\text{km}^2$ ) en utilisant la méthode du noyau fixe à 95% avec le paquetage R *adehabitatHR*<sup>58</sup>.

Nous avons calculé les paramètres d'échelle  $\hat{\sigma}_{hr}$  (en considérant toutes les localisations de loups) et  $\hat{\sigma}_{hr2}$  (en ne considérant que les localisations de loups chevauchant la période de suivi de l'ADN) en tenant compte des exigences spatiales moyennes des loups en CM, comme suit :

$$\hat{\sigma}_{hr} \text{ or } \hat{\sigma}_{hr2} = \sqrt{\frac{A/\pi}{q_{2,\alpha}}} \quad (4)$$

où  $q_{2\alpha}$ , est la valeur d'un Khi-deux à 2 degrés de liberté ( $\alpha = 0,05$ ,  $q_{2\alpha} = 5,99$ ) et A est la surface moyenne de l'aire de répartition ( $\text{m}^2$ )<sup>32</sup>.

Nous avons également évalué le décalage spatial entre la densité moyenne a posteriori spatialement explicite des centres d'activité pour les loups à travers  $\mathcal{J}$  et la localisation des meutes reproductrices connues dans CM. Nous avons utilisé les informations sur le nombre et la localisation spatiale des meutes de loups reproducteurs provenant de l'enquête officielle de suivi des loups menée dans le CM en 2013<sup>48</sup> (le suivi des loups était basé sur la localisation des meutes de loups reproducteurs selon Llana, García & López-Bao 2014)<sup>26</sup>. Pour ce faire, nous avons supposé qu'à la fin de l'été, les meutes de loups reproducteurs oscillaient entre 7 et 9 individus, y compris les petits de l'année. Bien que la taille des meutes soit variable chez les loups<sup>43</sup>, notre hypothèse était basée sur 88 observations de terrain de meutes reproductrices sur des *sites de rendez-vous* (i.e., sites utilisés par les membres de la meute et les

petits environ au cours des 5 premiers mois de l'âge des petits)<sup>59</sup> en N Iberia, où le nombre moyen de petits observés était de 4,82 (95% CI 4,57-5,08), le nombre moyen de subadultes était de 1,67 (95% CI 1,25-2,08) et le nombre moyen d'adultes était de 1,98 (95% CI 1,74-2,22)<sup>60</sup>. Compte tenu du nombre de meutes reproductrices connues dans le CM en 2013 (11 meutes)<sup>48</sup> et de la fourchette d'individus par meute l'été dernier (7-9 loups), nous avons transformé le nombre de meutes en nombre de loups appartenant à des meutes.

**Déclaration d'éthique.** Les loups ont été capturés en vertu des permis 19/2006, 71/2009, 86/2011, 095/2013 et 8765/2015 du gouvernement régional de Galice. Toutes les procédures sur le terrain ont été effectuées conformément aux réglementations sur le bien-être des animaux.

## RESULTATS

A partir des analyses ADN, 49 loups (75%) ont été détectés une fois, 9 loups ont été détectés deux fois et, respectivement, 3, 1 et 3 individus ont été détectés 3, 4 et 5 fois (le nombre moyen de captures par loup était de 1,46). Le nombre d'individus capturés par détecteur est indiqué dans le Tableau S1. Sur la base des données brutes (65 individus génotypes et 95 captures), les courbes de raréfaction asymptotiques n'ont pas été atteintes (Fig. S3). Tous les paramètres du modèle nul ( $M_0$ ) ont montré une convergence et R-hat < 1,1. L'estimation a posteriori de la densité ( $\hat{D}$ ) pour les loups de CM était de 2,55 loups/100 km<sup>2</sup> (intervalle crédible bayésien à 95% (ICB) = 1,87-3,51 ; Tableau 1 ; Fig. S4). La moyenne postérieure de l'abondance des loups,  $\hat{N}$  ( $\pm$  SD) était de 111,6  $\pm$  18,8 individus (95% BCI = 81,8-153,6). L'estimation a posteriori pour le sigma était de 0,33 (m, échelle de 104) (ICB 95% = 0,27-0,40 ; Tableau 1). Les valeurs-p bayésiennes ont montré une bonne adéquation dans le cas des fréquences de rencontres individuelles (valeur-p = 0,457), mais pas dans le cas des fréquences de rencontres entre détecteurs (valeur-p = 0,000) (Figure S5).

**Tableau 1.** Résumés postérieurs des paramètres estimés à partir du modèle de rencontre de Poisson du SCR (modèle nul,  $M_0$ ) pour estimer la densité des loups. Les estimations sont basées sur 3 chaînes de 50 000 itérations, avec un taux d'éclaircissement de 1, ce qui donne 150 000 échantillons totaux de l'a posteriori commun. BCI = Intervalles crédibles bayésiens. alpha1 ( $\hat{\alpha}_0$ ) et alpha2 ( $\hat{\alpha}_2$ ) sont utilisés pour modéliser le taux de rencontre de base, dépendant de l'effort d'échantillonnage (voir le texte principal pour plus de détails) :  $\log(\lambda_0[j]) = \alpha_0 + \alpha_1 \times L[j]$ , où  $L_j$  est la densité de transects dans chaque cellule ; psi ( $\psi$ ) est un paramètre des données fragmentées, et sigma ( $\sigma$ ), ou paramètre de mouvement, est le paramètre d'échelle demi-normale qui décrit le taux auquel la probabilité de détection diminue en fonction de la distance

	Mean	SD	BCI		
			2.5%	50%	97.5%
Density ( $\hat{D}$ )	2.55	0.42	1.87	2.50	3.51
alpha1 ( $\hat{\alpha}_0$ )	-1.21	0.25	-1.38	-1.21	-0.74
alpha2 ( $\hat{\alpha}_2$ )	0.24	0.13	-0.01	0.24	0.50
psi ( $\psi$ )	0.38	0.07	0.27	0.38	0.53
sigma ( $\hat{\sigma}$ )	0.33	0.03	0.27	0.32	0.40

D'après les études de simulation, l'utilisation de grappes d'individus et la répulsion entre les grappes (packs dans notre cas) ont atténué le rôle potentiel de l'agrégation spatiale et de la non-indépendance des individus, et nous n'avons constaté qu'une légère sous-estimation des estimations de la taille de la population (Annexe S3). L'adéquation de l'erreur quadratique moyenne pour la moyenne postérieure du paramètre  $\hat{N}$  et la couverture des intervalles de densité postérieure maximale de 95% étaient meilleures lorsque tous les groupes d'individus



étaient situés dans la zone couverte par la grille de détection (Annexe S3). Les estimations de  $\hat{N}$  ont légèrement diminué en termes d'exactitude et de précision lorsque les groupes d'individus étaient totalement ou partiellement en dehors de la grille de détection (Annexe S3).

L'estimation moyenne du domaine vital total pour notre ensemble de loups munis de colliers était de 266,4 km<sup>2</sup> ; alors que ce chiffre était de 233,1 km<sup>2</sup> lorsque nous ne prenions en compte que les emplacements situés dans l'intervalle mars-octobre. Les estimations pour  $\hat{\sigma}_{hr}$  et  $\hat{\sigma}_{hr2}$  étaient très similaires, 0,37 et 0,35, respectivement (m, échelle de 104). Ces valeurs se situaient dans l'ICB de 95% de l'estimation a posteriori de sigma de  $M_0$  (0,27-0,40 ; Tableau 1), ce qui indique une bonne performance biologique du modèle. La densité moyenne a posteriori des centres d'activité dans l'espace d'état correspondait spatialement à tous les emplacements approximatifs des meutes reproductrices détectées dans le CM en 2013 (Fig. 1). Cependant, nous avons également détecté certains centres d'activité qui ne se chevauchaient pas avec des meutes connues, indiquant des emplacements potentiels de meutes. Enfin, le nombre estimé de loups non liés à des meutes était de  $23,6 \pm 8,7$  individus (soit 16-25% du nombre total de loups estimé à l'aide du SCR ;  $88,0 \pm 16,7$  loups ont été estimés appartenir à des meutes).

## DISCUSSION

Les estimations de la taille et de la densité des populations de grands carnivores font souvent l'objet de controverses. Différents écueils sont généralement mis en évidence, tels que le manque de standardisation et d'homogénéisation des protocoles d'échantillonnage, le manque de reproductibilité ou les incertitudes élevées dans les estimations. Par exemple, la majorité des estimations de la taille des populations de grands carnivores en Europe ne sont pas accompagnées de calculs approximatifs de l'incertitude<sup>18,19</sup>. Il existe une demande pour le développement d'outils de surveillance fiables, y compris ceux qui permettent de quantifier l'incertitude. À cet égard, plusieurs approches puissantes, accordant de l'attention à l'exactitude, à la précision et à l'optimisation, ont été proposées<sup>17,34,61,62</sup>. L'amélioration de la fiabilité des estimations de population devrait accroître la crédibilité des enquêtes et améliorer la confiance dans les agences et les parties prenantes chargées de la surveillance des grands carnivores.

Nous avons combiné un suivi non invasif de l'ADN (fèces) et une approche SCR, avec un modèle d'observation de Poisson utilisant une seule enquête, pour estimer la densité, la taille de la population et la localisation des centres d'activité chez les loups à l'échelle régionale. Le nombre d'enquêtes d'échantillonnage peut limiter l'application des approches SCR à l'échelle régionale. Nous avons utilisé le modèle nul  $M_0$  pour estimer le nombre de loups avec une mesure d'incertitude ( $111,6 \pm 18,8$ ) dans une zone de plus de 4 000 km<sup>2</sup>. Un point critique dans les modèles SCR est la nécessité d'un nombre suffisant de recaptures spatiales pour des estimations fiables de  $\sigma^2$ . Compte tenu du nombre moyen de captures par loup (1,46), du nombre d'individus capturés entre les détecteurs (65) et de l'espace entre les détecteurs (5 km), nos paramètres spatiaux peuvent être considérés comme fiables<sup>31,32</sup>. Les modèles d'observation basés sur le comptage, tels que le modèle de Poisson, utilisant de multiples détections du même individu au même détecteur et étant basés sur une seule enquête, permettent d'estimer avec succès les paramètres du modèle. Dans les situations où les covariables comportementales ou temporelles - à travers les occasions d'échantillonnage - ne

sont pas disponibles, la propriété d'additivité de la distribution de Poisson permet l'agrégation des données d'observation, facilitant l'utilisation du modèle de Poisson basé sur une seule enquête pour estimer les paramètres du modèle (le modèle d'observation est le même pour toutes les valeurs de  $K$ )<sup>32</sup>. Néanmoins, lors de la mise en œuvre de modèles de fréquence de rencontre, comme un modèle de Poisson, les fréquences de rencontre sur de courtes périodes sont principalement dues au comportement individuel. En outre, il peut être discutable de considérer que toutes les rencontres sont indépendantes, ce qui mérite une étude plus approfondie.

L'emplacement des centres d'activité des loups correspondait parfaitement aux emplacements approximatifs des meutes reproductrices détectées dans le CM. **Mais nous avons également détecté des agrégations de centres d'activité qui ne se chevauchent pas** (Fig. 1), correspondant probablement à d'autres emplacements de meutes où aucune reproduction n'a été détectée en 2013, ou bien où les critères utilisés pour attribuer la reproduction des loups n'ont pas été satisfaits<sup>26, 48</sup>. En fait, l'emplacement spatial de certaines agrégations de centres d'activité correspondait à l'emplacement de meutes reproductrices précédemment connues dans la zone d'étude<sup>50</sup>. **La combinaison des deux études sur les loups (meutes et individus), ainsi que les informations sur la taille des meutes<sup>60</sup>, nous ont permis d'estimer le nombre de loups non liés à des meutes reproductrices à la fin de l'été, soit entre 16 et 25% des loups dans notre cas.** Cette estimation est similaire à celles obtenues lors du suivi hivernal des loups dans d'autres zones d'étude à travers l'aire de répartition du loup. Le pourcentage de loups non-résidents lors du suivi hivernal dans différentes populations de loups d'Amérique du Nord variait de 7 à 20%<sup>43</sup>. **Il est intéressant de noter que les comparaisons ci-dessus suggèrent que l'utilisation du nombre de meutes comme objectif pour le suivi des loups peut entraîner une sous-estimation des estimations de la population.**

Pour les espèces ayant de grandes exigences spatiales, telles que les grands carnivores, et des périodes d'étude courtes, la zone des centres d'activité utilisés pendant la période d'échantillonnage peut ne représenter qu'une partie du domaine vital de l'ensemble des animaux. Dans notre cas, la période d'échantillonnage s'est étendue sur plusieurs mois pendant les périodes de reproduction et d'élevage des petits, et l'estimation postérieure du sigma ( $\hat{\sigma} = 0,33$ ) était proche du calcul du sigma utilisant le domaine vital total de notre ensemble de données sur les loups munis de colliers ( $\hat{\sigma}_{hr} = 0,37$ ), ainsi que l'ensemble restreint de données sur les lieux pour la période mars-octobre ( $\hat{\sigma}_{hr2} = 0,35$ ) (notez que les deux estimations se situaient dans l'ICB à 95% pour le sigma de  $M_0$  ; Tableau 1). Ainsi, en utilisant l'approche SCR Poisson, nous avons pu saisir certains aspects du comportement spatial des loups. Les différences dans les schémas de marquage olfactif entre les individus<sup>26, 27</sup> peuvent être à l'origine des petites différences observées dans le sigma, ce qui pourrait entraîner un léger biais dans les estimations de la population. **Les jeunes loups et les loups solitaires déposent plus souvent leurs fèces en dehors des sentiers que les adultes et les individus territoriaux<sup>27, 63</sup>.** D'autre part, la persistance des fèces de loups peut faciliter la détection des excréments et l'occurrence des recaptures spatiales.

Les hypothèses selon lesquelles tous les individus sont uniformément et indépendamment distribués dans l'espace d'état  $S$ <sup>32</sup> sont violées par de nombreuses espèces, ce qui soulève des inquiétudes lors de l'utilisation des méthodologies SCR<sup>64</sup>, et peut également avoir empêché leur utilisation dans certains cas. Dans cette étude, nos simulations montrent que la SCR peut

être fiable pour les espèces qui violent ces hypothèses. L'agrégation des loups en meutes et leur comportement territorial ont eu un impact minimal sur les estimations de la taille de la population. Nous avons constaté une légère sous-estimation des estimations de la taille de la population (Annexe S3)<sup>32, 65</sup>. Nos résultats soulignent l'importance d'un réglage approprié de la grille de détection lors du suivi d'espèces dans lesquelles les individus sont agrégés. En dehors de la grille de détection, les individus d'un groupe (c'est-à-dire d'une meute), et situés au hasard, ont été détectés moins de fois et avec moins de captures spatiales et non spatiales (Annexe S3), ce qui a entraîné une moindre exactitude et précision pour  $\hat{N}$  et  $\sigma$ . Par conséquent, nous recommandons que la grille de détection soit étendue pour couvrir toutes les grappes d'individus antérieures suspectées/connues dans une zone d'étude donnée, et l'utilisation de simulations pour détecter les biais possibles dans les estimations (Annexe S3).

La combinaison de la surveillance non invasive de l'ADN (fèces, poils, etc.) et des approches de modélisation SCR peut être utilisée pour surveiller avec précision les espèces à l'échelle régionale, telles que les grands carnivores et les grands herbivores. Des estimations fiables de la taille des populations sont particulièrement importantes pour ces espèces, étant donné qu'environ 60% des plus grands carnivores du monde sont des animaux de compagnie. 60% des plus grands carnivores et herbivores du monde sont classés comme menacés d'extinction sur la liste rouge de l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN)<sup>66</sup> et que différentes populations font l'objet d'une gestion du gibier. L'utilisation d'une seule étude devrait être moins coûteuse que de multiples visites de détecteurs<sup>64</sup>. En outre, l'utilisation de cette stratégie de surveillance devrait avoir des implications positives pour la gestion adaptative de ces espèces. **La gestion adaptative est une approche systématique visant à améliorer la gestion des ressources en tirant des enseignements des résultats de la gestion<sup>67</sup>.** Étant donné qu'il s'agit d'un processus basé sur l'**apprentissage**<sup>68</sup>, le suivi est une étape essentielle du processus de gestion adaptative. Dans notre cas, la capacité d'obtenir des estimations de population fiables - quantifiant l'incertitude - et reproductibles dans le temps est fondamentale pour évaluer correctement l'impact des interventions, ce qui peut être réalisé grâce à cette stratégie de suivi.

Outre le financement des analyses génétiques, le principal défi dans la mise en œuvre de cette stratégie de suivi est une collecte d'échantillons appropriée pour garantir un nombre suffisant de recaptures en une seule enquête. À cet égard, une alternative pour optimiser l'utilisation de ressources limitées, sans compromettre la collecte d'échantillons, peut-être l'intégration de plusieurs parties prenantes et volontaires formés dans la collecte d'échantillons (voir un exemple pour les ours bruns, *Ursus arctos*, en Europe)<sup>69</sup>, qui devrait être correctement conçue pour enregistrer toutes les informations requises, y compris l'effort d'échantillonnage.