



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



SIRENa



THÈSE

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du grade de
Docteur de l'Université de Lorraine

Spécialité : Écotoxicologie, Biodiversité, Écosystèmes

Morgane PAPIN

Apport de la bioacoustique pour le suivi d'une espèce discrète : le Loup gris (*Canis lupus*)

Sous la direction de François GUÉROLD, Estelle GERMAIN et Julian PICHENOT

Thèse soutenue le 28 novembre 2018 au LIEC, Campus Bridoux, Université de Lorraine, Metz

Jury :

François GUÉROLD, Professeur, LIEC, UMR CNRS 7360, Université de Lorraine

Estelle GERMAIN, Docteur, CROC

Julian PICHENOT, Docteur, BEC

Olivier ADAM, Professeur, Sorbonne Université

Isabelle CHARRIER, Directeur de recherche, Université Paris Sud, CNRS

Jérôme SUEUR, Maître de conférences, MNHN, ISYEB

Simon DEVIN, Professeur, LIEC, UMR CNRS 7360, Université de Lorraine

Directeur

Co-directrice

Co-directeur

Rapporteur

Examinatrice

Examineur

Invité

Rapporteur non membre du jury :

Luigi BOITANI, Professeur, Université de Rome La Sapienza

« There are no magic formula or perfect solutions in large carnivore conservation, just a lot of more or less acceptable, and often controversial compromises. »

Linnell et al. 2005

« Chacun de nous, dans sa vie, a sa propre montagne à gravir. »

Mike Horn

« À ton étoile... »

Noir Désir

Remerciements

Tout d'abord, je tiens sincèrement à remercier les partenaires financiers de cette thèse : l'Union Européenne dans le cadre du Programme Opérationnel FEDER-FSE Lorraine et Massif des Vosges 2014-2020, la DREAL Grand Est, la Région Grand Est, l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie, le Zoo d'Amnéville et le Parc animalier de Sainte Croix. Mes remerciements s'adressent aussi au Commissariat à l'aménagement, au développement et à la protection du Massif des Vosges (Fonds National d'Aménagement et de Développement du Territoire) et à la Fondation le PAL Nature, qui ont participé au financement des programmes annuels du CROC dont une partie concernait le fonctionnement des bureaux où j'étais installée.



Je tiens ensuite à remercier :

- Les personnels et agents de l'ONCFS contactés dans le cadre de la réalisation des travaux de terrain en région Grand Est, et en particulier : Murielle GUINOT-GHESTEM (Chef de l'unité Unité Prédateurs - Animaux déprédateurs) ; Éric MARBOUTIN (Chef de l'équipe "Grands carnivores : Loup - Lynx" lors de ma thèse) ; Catherine LHOTE (Délégue régionale / DR Grand Est) ; Marie-Laure SCHWOERER (Chargée d'études et de développement, animatrice du Réseau Loup Lynx / DR Grand Est) ; Delphine CHENESSEAU (Chargée d'études et de développement, animatrice du Réseau Loup Lynx / DR Bourgogne Franche-Comté) ; Benoît CLERC (Chef de service / SD88) ; Michel STOECKLIN (Chef de Brigade / SD88) ; Régis HEIN (Chef de service / SD68) ; Romain HARNIST (Chef de Brigade / SD67) ; Frédéric ROZET (Chef de service / SD55).
- Les Directions Territoriales de l'ONF de Lorraine, d'Alsace et de Franche-Comté pour les autorisations de circulation sur les routes forestières en forêts domaniales, ainsi que les personnels et agents patrimoniaux contactés dans le cadre de la réalisation des travaux de

terrain, en particulier : Catherine CLUZEAU (Direction Territoriale ONF Grand Est) ; Jean-Marc BREZARD (Responsable du Service Forêt) de l'Agence de Bar-le-Duc ; Jean-Charles FILLON (Responsable), Audrey DUCLOS, Hervé HATIER et Éric SENNHENN (Agents patrimoniaux) de l'UT de Commercy ; Jean-Michel LETZ (Responsable chasse) de l'Agence Vosges-Montagne ; Pascal MOUGEL (Responsable), Stéphane ANTOINE et Dominique HOLVECK (Agents forestiers) de l'UT Haute Moselotte ; Rémy GRANDEMANGE (Responsable), Daniel ADAM, Pascal GRASNICK, Guy ROTH et Nathalie STRAUCH (Agents forestiers) de l'UT de Munster ; Charles PILLAIN (Responsable) et Patrick FOLTZER (Agent forestier) de l'UT de Saint-Amarin ;

- Catherine NEGRIGNAT (Technicien forestier) et Thomas POINSOT (Secrétaire technique) du Centre National de la Propriété Forestière / Délégation de Lorraine-Alsace ;
- Rémy HAVA (Référént technique des Brigades vertes du Haut-Rhin) ;
- Les chargés d'études, conservateurs, gestionnaires ou administrateurs du Parc Naturel Régional des Ballons des Vosges : Antoine ANDRE, Alix BADRE, Laurent DOMERGUE, Fabien DUPONT, Claude MICHEL et Jacky VERET ; du Conservatoire des Sites Alsaciens : Luc DIETRICH et Gaëlle GRANDET ; du Groupe Tétràs Vosges : Samuel AUDINOT, Noémie CASTAING, Alain LAURENT et Françoise PREISS ;
- Marion BRION (Chargée de projets ENS) et Corinne ROSSET (Chargée de projets Environnement) du Conseil Départemental de la Meuse ;
- Hélène BILQUEZ (Chef de bureau SER/BPR), Vincent MENEGAIN (Chef du bureau biodiversité, nature et paysage, Service environnement risques) et Germaine VERPOEST de la Direction Départementale des Territoires des Vosges ;
- Christophe GUILLAUME (Inspecteur de l'environnement, Service Eaux, Environnement et Espaces Naturels) et Jean-Pierre MARCHAND (Service Eaux, Environnement et Espaces Naturels) de la Direction Départementale des Territoires du Haut-Rhin ;
- Dominique BERTON (Responsable Forêt et Chasse) de la Direction Départementale des Territoires de la Meuse ;
- Emmanuel MOLARD (Directeur de Pôle / Pôle Territoires) de la Chambre d'Agriculture d'Alsace ;
- Les maires des communes de Chonville-Malaumont : Stéphane LEBEGUE ; de Commercy : Jérôme LEFÈVRE ; d'Euville : Alain FERIOLI ; de Kruth : Claude WALGENWITZ ; de La Bresse : Hubert ARNOULD ; de Laneuville-au-Rupt : Jacques FURLAN ; de Lérrouville : Alain VIZOT ; de Lucy : Claude WILLAUME ; de Ménil-la-Horgne : Jean-Claude CONNESSON ; de Metzeral : Denise BUHL ; de Mittlach : Bernard

ZINGLE ; de Muhlbach-sur-Munster : Patrick ALTHUSSER ; de Munster : Pierre DISCHINGER ; de Pont sur Meuse : Fabienne BEAULAND ; de Saulvaux : Patrice LEROUX ; de Wildenstein : Jean-Jacques GEWISS ; et leurs adjoints ;

- Messieurs et mesdames les propriétaires privés contactés pour la réalisation des travaux de terrain sur certaines de leurs parcelles, en particulier les propriétaires des fermes auberges du Huss et du Steinwasen dans les Hautes-Vosges ;
- Les gendarmeries nationales des secteurs de Felling, La Bresse et Munster ainsi que de Chonville-Malaumont, Commercy, Laneuville-au-Rupt, Lérrouville, Ménil-la-Horgne et Saulvaux ;
- Jean-Jacques CLAUDE et Patrick COUSIN, lieutenants de Louveterie ;
- Denys GENIN et Jean-Marie RAIWISQUE, adjudicataires de chasse, et leurs associés ;
- Christophe DIDELOT et Guy DUCHAUX, exploitants agricoles à Lucy.

Je remercie très sincèrement Nathalie SIEFERT (Chef du service Connaissance et Gestion du Patrimoine), Marie CANUT (Chargée de mission faune cynégétique et loup) et Stéphane COMBEAUD (Garde-moniteur) du Parc National du Mercantour pour leur accueil lors de la visite de terrain réalisée dans la perspective d'une mise en application des résultats de ma thèse pour le suivi du Loup dans les Alpes.

Je remercie également les différentes personnes qui m'ont aidée à préparer mes phases de terrain et/ou accompagnée sur le terrain, de jour comme de nuit : Christophe BOTTA, Anaïs CHARBONNEL, Maxime CLASQUIN, Estelle GERMAIN, Philippe GERMAIN, François GUÉROLD, Marine MARC et Julian PICHENOT.

Une partie des données utilisées dans le cadre de ma thèse a été récoltée dans des parcs animaliers. Je remercie ainsi l'ensemble du personnel du Parc Animalier de Sainte Croix pour leur accueil toujours chaleureux, et en particulier Stéphane MOMBERT (Directeur adjoint), Jan VERMEER (Directeur animalier), Jennifer LAHOREAU (Vétérinaire) et Marc QUESSADA (Soigneur animalier). Je remercie aussi le Domaine Zoologique de Pescheray dont une partie des données utilisées pendant ma thèse avait été obtenue grâce à des enregistrements de leur meute de loups réalisés pendant mon stage de Master 2. J'en profite pour remercier tous les loups m'ayant laissé les enregistrer !

Je remercie les membres de mon comité de pilotage de thèse pour leurs conseils et leur disponibilité : Charlotte CURE (Docteur en Bioacoustique, Cerema / Direction territoriale Est), Guillaume DUTILLEUX (Docteur en Acoustique, Cerema / Direction territoriale Est), Frédérique SEBE (Maître de Conférences à l'Université de Saint-Etienne) et Jérôme SUEUR (Maître de Conférences au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris).

Je remercie les membres de mon jury de thèse, en particulier mes deux rapporteurs : Luigi BOITANI (Université de Rome La Sapienza) et Olivier ADAM (Université Sorbonne Université) ; mes deux examinateurs : Isabelle CHARRIER (Université Paris Sud) et Jérôme SUEUR (Muséum national d'Histoire naturelle de Paris) ; Simon DEVIN (Université de Lorraine), membre invité ; ainsi que les personnes ayant participé à sa constitution : Nicolas MATHEVON (Université de Saint-Etienne) et Clémentine VIGNAL (Université de Saint-Etienne).

Je remercie également :

- l'Institut National de l'Information Géographique (IGN) pour la mise à disposition des bases de données BD TOPO® et BD ALTI® (CGU « Recherche ou Enseignement ») ;
- Météo-France pour la mise à disposition des données météorologiques nécessaires au Chapitre 1 de ma thèse dans le cadre d'une licence « enseignement recherche » ;
- David WILSON et John BRZUSTOWSKI pour leur aide et leurs conseils concernant l'utilisation du package Sound Finder ;
- Alexander KEYEL pour ses conseils concernant l'extension Sound Mapping Toolbox sur ArcGIS ;
- Amandine GASC pour ses conseils concernant les paramétrages de l'indice *ACI* ;
- Jérôme SUEUR pour avoir étudié et validé mes propositions de corrections du code pour calculer l'indice *ACI* sous R ;
- Les reviewers anonymes des deux articles soumis d'une part à *Frontiers in Zoology* et d'autre part, à *Ecological Indicators* pour leur lecture attentive et leurs commentaires perspicaces.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse François GUÉROLD d'avoir accepté d'encadrer cette thèse et de m'avoir accompagnée tout au long de cette aventure. Merci pour ton regard global sur mon travail, tes conseils et tes petites blagues qui ont agrémentées nos réunions ! Merci à mes deux co-directeurs sans qui cette thèse n'aurait jamais vu le jour. Beaucoup de

« premières » au CROC depuis mon arrivée, d'abord pour le stage de M2 puis pour la thèse ! Merci Estelle pour ta confiance depuis le début, merci d'avoir toujours fait ton maximum pour que ma thèse se passe dans de bonnes conditions avec un matériel de pointe ! Merci aussi pour tes relectures méticuleuses. J'en profite pour te remercier de m'avoir offert l'opportunité de participer au terrain « Lynx » tout comme à la mise à disposition des expositions pédagogiques qui ont été un plus pour moi. Merci Julian pour ton encadrement depuis 2014. Merci pour ton aide pour les analyses, tes conseils et ta présence sur le terrain. Sacré terrain d'ailleurs (coup de quenouilles de raton-laveur !!!) ! Merci aussi de m'avoir fait partager quelques sorties naturalistes en ta compagnie (Grand tétras, Butor étoilé). Merci à tous les trois pour nos belles sessions de « brainstorming » tout au long de ma thèse ainsi que pour le coaching lors de la préparation de la soutenance !

Je remercie Rachel BERZINS, présidente du CROC, et Delphine LEROUX, trésorière du CROC, d'avoir validé le projet de thèse et d'avoir épaulé Estelle durant ces années. Merci à toutes les deux d'avoir contribué au bon fonctionnement du CROC.

Je tiens à remercier l'ensemble des personnes ayant travaillé au CROC durant ma thèse, et en particulier :

- Maxime avec qui j'ai partagé des purs instants de bonheur et de joie sur le terrain comme au bureau. Ta conduite exceptionnelle lors des longues nuits d'émissions sonores restera gravée dans ma mémoire pour très longtemps ! Entre les coups de quenouilles, le coup de grisou, la culotte en coton, le Domino Day mais aussi les sketches des Inconnus ou de Coluche, on en aura partagé des choses ! Merci aussi pour les jours passés ensemble en binôme pour relever les pièges photographiques dans le cadre du suivi du Lynx. Merci pour ta bienveillance, ton calme et ta sérénité.
- Anaïs, ma très chère collègue avec qui j'aurais fait de tout : du relevé de piège photo, de la recherche de cadavres en forêt vosgienne, du terrain à Commercy, une animation exceptionnelle avec de sympathiques enfants... et j'en passe ! Merci pour tes conseils, ton soutien et ton aide si précieuse durant ma thèse ! Tu auras su me guider et me rassurer dans les moments de doutes.
- Marine...et sa joie de vivre ! Merci pour ta bonne humeur, tes éclats de rire et ta phobie pour les pies ! Merci également pour ta participation aux poses d'enregistreurs dans les Vosges, on a fait une belle équipe ! Merci de toujours être là, même à 6 410 km !!!!

- Mélanie qui aura partagé 6 mois de ma thèse. Merci pour ton travail, ta détermination et ta motivation. J'ai adoré passer mes soirées à faire des mégas boucles sous R avec toi ! On a formé une belle équipe et j'espère que notre travail aboutira sur une belle publication.
- Charlotte-Anaïs qui a eu le « plaisir » d'assister aux derniers mois de thèse ! Merci pour ton calme et ta gentillesse. Je n'oublierai pas ta devise : « Force et honneur » !

Je remercie également les doctorants, post-doctorants et personnels du LIEC qui ont su m'accueillir et me faire une place au chaud dans leur bureau, en particulier :

- Clément, tu as été un des premiers à m'ouvrir les portes du bureau alors merci pour ton accueil et ton soutien ! Tu as été un sacré gentil grizzli avec moi !
- Marine, merci pour tes conseils et tes messages réconfortants même à l'autre bout de la France. Merci aussi pour ta soutenance mémorable et riche en émotions !
- Alice, merci pour ton soutien sans faille, merci d'avoir fait le jukebox dans la Clio, merci d'avoir signé des papiers pour moi, merci pour cette formation à l'éthique réussie haut la main, et puis merci pour tout le reste !!! Je te souhaite d'ailleurs une belle fin de thèse.
- David, merci pour ton soutien et merci de m'avoir fait découvrir les charbons ! Merci également pour tes quizz musicaux « loup ou pas loup » ! Je te souhaite une belle thèse également et bon courage pour l'apprentissage du kazoo !

La liste peut être longue alors je remercie tous les autres également, pour votre bonne humeur, vos potins et votre formidable accueil : Olivier, Justine, Quentin, Jérémy, Émilie, Anne, Joey, Béné, Simon, Sandrine, Maryline, Camille, Vincent et j'en passe !

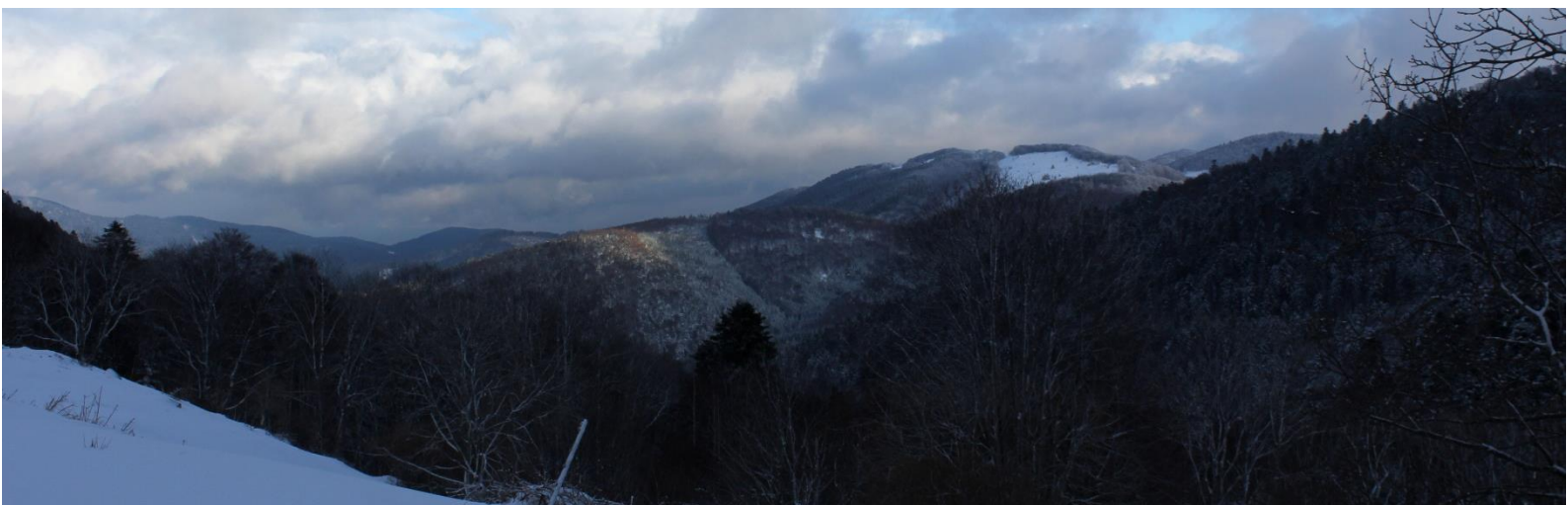
Voici maintenant quelques lignes dédiées aux amis d'avant, de maintenant et de toujours. Je remercie très profondément mes amis de Picardie qui sont là depuis toujours et qui ont su me soutenir à distance depuis le début de mes études : Sonia & Adrien (et leurs bouts de chou), Nadège & Dédé (et leur choupette d'amour), Juliette & Geoffroy (et leur bébé chien), ma Pou, Alain, Maxime et tous ceux qui se reconnaîtront ! Je ne vous remercierai jamais assez et qu'est-ce que j'ai de la chance de vous avoir ! Merci aussi aux amis des anciennes promos qui suivent mon parcours de près comme de plus loin : Aline, Adeline, Audrey mon zhibou (à qui je souhaite une belle fin de thèse !), Fanny & Thomas, Pierrick, Leïla et puis bien d'autres encore. Côté Lorrain, je remercie l'équipe de choc de Cap Form' avec qui j'ai bien transpiré et décompressé le lundi soir : ma Tatou, Samir, Nat', Sophie, Michèle, Danielle et Allison, sans oublier Franck notre super coach !! Merci à tous pour votre soutien et vos encouragements !

Je remercie ma belle-famille pour leurs encouragements. La palme d'or revient quand même à Laurie & Antoiine (ainsi que Kyra !), merci à vous deux pour votre présence tout au long de cette folle aventure !

Je remercie aussi tous mes tontons et tatas qui suivent mon parcours avec intérêt depuis toujours : Véronique & Thierry, Régine & Daniel, Josiane & Bernard. Merci aussi à mes grands-parents Mamé & Papé pour vos colis-surprises en tout genre ainsi que pour vos sages conseils. Merci à mes petits animaux (Haylie, Marvel, Bruce et Punk) qui ont su m'apporter du réconfort sans bien comprendre mon quotidien !

Et c'est avec la gorge nouée que je vais (enfin !) finir de rédiger mes remerciements.

- Merci à mon petit frère Quentin. Merci pour tes mini-séjours en Lorraine, merci d'être toujours là tout simplement.
- Mam' & Pa', merci pour TOUT. Je ne vous le dirai certainement jamais assez ! Merci de m'avoir accompagnée et soutenue durant toutes ces années d'étude, de ne jamais avoir douté de moi, d'avoir toujours trouvé les mots pour me booster. Merci aussi pour vos relectures, vos petites attentions et vos précieux conseils. Merci pour votre bienveillance et votre confiance.
- Je vais terminer en remerciant Chris, mon compagnon. Merci pour m'avoir aidée et surtout supportée durant ces 3.5 années de thèse. Ça n'a pas toujours été facile mais merci pour ta patience et ton soutien. Merci de m'avoir rassurée et aidée à faire de petites pauses (nécessaires !), merci de m'avoir appris à relativiser aussi. Merci d'avoir partagé mon quotidien (coups de boost comme coups de mou) et surtout, merci d'avoir cru en moi.



Sommaire

Remerciements	5
Liste des figures	16
Liste des abréviations	17
Valorisation de la thèse CIFRE	18
Introduction générale.....	23
1. De l'émergence de la bioacoustique à son usage pour le suivi de la faune sauvage.....	23
1.1. La bioacoustique : concept et définition	23
1.2. La bioacoustique au service du suivi des espèces animales.....	25
1.3. Effets du milieu naturel sur l'étude des sons	30
1.4. Avancées technologiques pour les suivis acoustiques	31
1.5. Potentiel de la bioacoustique passive pour le suivi d'espèces rares et discrètes....	34
2. Le Loup gris (<i>Canis lupus</i>).....	35
2.1. Présentation générale	35
2.2. Communication acoustique.....	39
2.3. Les méthodes de suivi	42
3. Les hurlements comme un outil de suivi ?	44
4. Problématique et objectifs de la thèse	46
4.1. Détection passive des loups à l'aide d'enregistreurs autonomes	47
4.2. Localisation acoustique des individus	47
4.3. Vers une estimation de l'effectif des meutes ?	48
Chapitre 1 : Optimisation de l'échantillonnage spatial pour la détection passive du Loup gris à l'aide d'un réseau d'enregistreurs autonomes	51
Abstract	51
1. Introduction	53
2. Matériels et méthodes.....	55
2.1. Zones d'étude.....	58
2.2. Acquisition des données acoustiques.....	59
2.3. Acquisition des données de bruit ambiant	63
2.4. Acquisition des données météorologiques.....	64
2.5. Modélisation cartographique de la propagation du son	64
2.6. Analyses des données de propagation.....	65
2.7. Construction du modèle statistique pour prédire la probabilité de détection du son synthétique	66

2.8.	Prédiction et cartographie de la probabilité de détection.....	66
2.9.	Estimation de l'espace de détection efficace des enregistreurs autonomes	67
2.10.	Optimisation de l'échantillonnage spatial	68
3.	Résultats	69
3.1.	Émissions sonores et enregistrements réalisés sur le terrain	69
3.2.	Conditions météorologiques pendant l'étude.....	70
3.3.	Choix et robustesse du modèle statistique	71
3.4.	Prédiction de la probabilité de détection.....	72
3.5.	Estimation de l'espace de détection efficace des enregistreurs autonomes	74
3.6.	Optimisation de l'échantillonnage acoustique	75
4.	Discussion	77
4.1.	Méthode d'échantillonnage acoustique adaptée à la détection du Loup gris.....	77
4.2.	Limites et recommandations	79
4.3.	Conclusion et perspectives.....	81
5.	Remerciements	82
6.	Références	82
Chapitre 2 : La localisation acoustique à grande échelle : une méthode prometteuse pour le suivi du Loup gris		91
Abstract		91
1.	Introduction	92
2.	Materials and methods	94
2.1.	Study areas	94
2.2.	Sampling methods and microphone arrays	95
2.3.	Broadcast sites and periods	96
2.4.	Synthetic sound and broadcast equipment	96
2.5.	Meteorological context	97
2.6.	Analysis of recordings and localization estimates	97
2.7.	Statistical analysis	98
3.	Results	99
3.1.	Broadcasts	99
3.2.	Effectiveness of the recorders	100
3.3.	TOA measures	100
3.4.	Localization estimation	100
3.5.	Parameters that influenced the localization accuracy	102
4.	Discussion	103

4.1. Acoustic localization estimates.....	104
4.2. Recommendations and perspectives for Grey wolf monitoring.....	104
5. Conclusions.....	106
6. Acknowledgments.....	106
7. References.....	107
Chapitre 3 : Utilisation d'indices de diversité acoustique pour estimer l'effectif des meutes de loups.....	115
Abstract.....	115
1. Introduction.....	116
2. Materials and methods.....	118
2.1. Acoustic recordings.....	118
2.2. Creation of the data set of artificial solos and choruses.....	119
2.3. Acoustic diversity indices.....	119
2.4. Effects of three biases on the reference values for the acoustic indices.....	120
2.5. Statistical analysis.....	121
3. Results.....	122
3.1. Relationship between the acoustic diversity indices and numbers of howling wolves.....	122
3.2. Size prediction based on real choruses.....	125
3.3. Effects of the biases on the acoustic indices.....	126
4. Discussion.....	131
5. Conclusion.....	133
6. Acknowledgments.....	133
7. References.....	134
8. Supplementary materials.....	139
Discussion générale.....	145
1. Apport de la bioacoustique pour le suivi du Loup gris : retour sur les principaux résultats.....	145
1.1. Optimisation de l'échantillonnage spatial à l'aide d'un réseau d'enregistreurs autonomes : apport des modélisations et du SIG pour la détection du Loup.....	145
1.2. La localisation acoustique à large échelle : des résultats prometteurs.....	148
1.3. Les indices de diversité acoustique comme nouvel outil pour l'estimation de l'effectif des meutes.....	150
2. Vers une application concrète des méthodes développées.....	153
2.1. Du son synthétique aux hurlements de loups.....	153
2.2. Optimisation temporelle de l'échantillonnage acoustique.....	155

2.3. Approche intégrative de l'acoustique passive : l'automatisation.....	155
2.4. L'opérateur : un élément clé	156
2.5. Maintenance et calibration du matériel d'enregistrement pour une meilleure standardisation des suivis	157
Conclusion.....	161
Références bibliographiques	165
Annexe 1 : Article sur la localisation acoustique publié dans la revue <i>Frontiers in Zoology</i>	185
Annexe 2 : Poster sur la localisation acoustique présenté lors de différents évènements scientifiques.....	196

Liste des figures

Seules les figures de l'introduction générale et de la discussion générale sont listées ici.

Figure 1 : Champs d'étude abordés en bioacoustique (d'après IBAC, 2018).....	24
Figure 2 : Thématiques de recherche auxquelles la bioacoustique peut répondre pour le suivi des espèces.	25
Figure 3 : Répartition actuelle du Loup gris dans le monde (UICN, https://newredlist.iucnredlist.org/species/3746/10049204 , consulté le 14/09/2018).	37
Figure 4 : Exemples de spectrogrammes de hurlements de Loup gris considérés comme « plat » (A) ou modulé en fréquence et en amplitude (B) (Parc Animalier de Sainte Croix – 2014)...	40
Figure 5 : Solo (A) et chorus (B) de loups gris (Parc Animalier de Sainte Croix - © M. PAPIN / CROC 2014 et 2016) et spectrogrammes associés (solo – C ; chorus – D).....	41
Figure 6 : Enregistrement d'un chorus de loups gris à l'aide d'un microphone directionnel super-cardioïde et d'un enregistreur numérique (A - © CROC 2014) ou d'un enregistreur autonome fixé à un arbre dans l'enclos (B - © CROC 2016) en captivité (C - Parc Animalier de Sainte Croix - © M. PAPIN / CROC 2016).	152
Figure 7 : Spectrogramme représentant les deux sons synthétiques émis puis enregistrés par un SM3 en milieu de plaine ; à gauche : son modulé ; à droite : son plat (logiciel Raven Pro – Charif et al. 2010).....	153
Figure 8 : Photographies de la Vallée de la Roya (A) et de la Vallée de la Tinée (B) situées dans le Parc National du Mercantour (© M. PAPIN / CROC 2016).	154

Liste des abréviations

ACP	Analyses en Composantes Principales
AFD	Analyses Factorielles Discriminantes
AIC	Critère d'Information d'Akaike
ARS	Automated Recording Systems
ARU	Autonomous Recordings Units
AUC	Area Under the Curve
CM	Côtes de Meuse
GPS	Global Positioning System
HP	Hurlements Provoqués
IBAC	International Bioacoustics Council
LCIE	Large Carnivore Initiative for Europe
PAM	Passive Acoustic Monitoring
PSE	Proportion Surfacique Efficace
RAS	Rapid Acoustic Survey
RLRT	Restricted Likelihood Ratio Test
ROC	Receiver Operating Characteristic Curve
SD	Standard Deviation
SE	Standard Error
SIG	Système d'Information Géographique
SNR	Signal to Noise Ratio
SPreAD	System for the Prediction of Acoustic Detectability
TPI	Topographical Position Index
TOA	Time Of Arrival
UICN	Union Internationale pour la Conservation de la Nature
VM	Massif des Vosges

Valorisation de la thèse CIFRE

Publications scientifiques

Papin, M., Aznar, M., Germain, E., Guérol, F. & Pichenot, J. *In prep.* Using acoustic diversity indices to estimate wolf pack size.

Papin, M., Pichenot, J., Guérol, F. & Germain, E. (2018) Acoustic localization at large scales: a promising method for grey wolf monitoring. *Frontiers in Zoology*, **15**,11.

Publications vulgarisées

Papin, M., Pichenot, J. & Germain, E. (2015) Test de l'outil bioacoustique pour l'estimation des effectifs des meutes de loups gris (*Canis lupus lupus*). *La Licorne*, **15**: 25-28.

Papin, M., Pichenot, J. & Germain, E. (2015) La bioacoustique : un outil prometteur pour l'estimation des effectifs de Loup gris. Actes des 11^e Rencontres Bourgogne-Nature et du 37^e Colloque francophone de Mammalogie. *Revue Scientifique Bourgogne-Nature*, **21/22**, 228-237.

Communications lors de colloques et de journées techniques

Papin, M., Pichenot, J., Guérol, F. & Germain, E. (2017) Les réseaux d'enregistreurs autonomes : un nouvel outil pour le suivi acoustique passif du loup gris ? 47^{ème} Colloque de la Société Française pour l'Étude du Comportement Animal, les 15, 16 et 17 mai 2017, Imagif, CNRS, Gif-Sur-Yvette, France. ➔ **Obtention d'une bourse SFECA**

Papin, M., Pichenot, J., Guérol, F. & Germain, E. (2016) Utilisation de l'acoustique passive pour le suivi du loup gris. Assemblée Générale de l'Association du parc animalier de Sainte Croix, le 14 mai 2016, Parc animalier de Sainte Croix, Rhodes (57).

Papin, M., Pichenot, J., Guérol, F. & Germain, E. (2016) Utilisation de l'acoustique passive pour le suivi du loup gris. Journée des doctorants, le 19 avril 2016, Campus Bridoux, Metz (57).

Présentations de poster lors de colloques et de journées techniques

Papin, M., Pichenot, J., Guérolde, F. & Germain, E. (2017) Microphone array and passive acoustics: a new perspective for Grey wolf monitoring? Journée des doctorants, le 25 avril 2017, Campus Aiguillettes, Vandoeuvre-Lès-Nancy, France. ➔ **Obtention du premier prix « Poster »**

Papin, M., Pichenot, J., Guérolde, F. & Germain, E. (2017) Microphone array and passive acoustics: a new perspective for Grey wolf monitoring? International Congress 2017 “Wolf Management and Conservation in North America and Europe. An Unresolved Conflict”, les 20, 21, 22 et 23 avril 2017, Centro del Lobo Ibérico, Robledo de Sanabria, Espagne.

Papin, M., Pichenot, J., Guérolde, F. & Germain, E. (2017) Microphone array and passive acoustics: a new perspective for Grey wolf monitoring? Journée des doctorants, le 13 février 2018, Faculté de médecine, Vandoeuvre-Lès-Nancy, France. ➔ **Obtention du prix « 7 meilleurs posters 2018 »**



INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Au cours des dernières décennies, l'érosion de la biodiversité s'est accélérée. Aujourd'hui, les chercheurs s'accordent à dire que la 6^{ème} crise d'extinction majeure des espèces animales est en train de se produire (Dirzo et al. 2014 ; Ceballos et al. 2015), en témoigne la Liste Rouge des Espèces Menacées de l'UICN¹. En effet, cette liste ne cesse de s'allonger lors de chaque mise à jour, confirmant le déclin de la faune dans le monde (UICN et al. 2017). Or, cette perte de biodiversité peut engendrer de lourdes conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes et sur leurs rôles (Dirzo et al. 2014). Ces constats alarmants semblent conduire à une prise de conscience politique, voire sociétale, de plus en plus marquée. Ainsi, de plus en plus d'espèces et d'espaces naturels font l'objet d'inventaires pour rendre compte de leur situation (i.e. statut de conservation). Ce suivi de la biodiversité est actuellement au cœur du travail des chercheurs et des gestionnaires.

Compte tenu de leur biologie et de leurs mœurs discrètes, le suivi des grands carnivores comme le Loup gris (*Canis lupus*) représente un véritable enjeu pour les scientifiques. Et, parmi les nombreuses disciplines permettant la mise en place de méthodes de suivi, l'une d'elles s'avère particulièrement prometteuse pour le suivi d'espèces discrètes, à savoir la bioacoustique. C'est dans ce contexte que la présente thèse a été conduite. Avant d'énoncer la problématique et d'exposer les objectifs de ce travail de recherche, une définition de la bioacoustique associée à une synthèse bibliographique sur son usage pour le suivi de la faune sauvage est proposée. Puis, l'espèce pour laquelle ces recherches ont été effectuées, le Loup gris, est présentée ainsi que les études bioacoustiques dont elle a fait l'objet.

1. De l'émergence de la bioacoustique à son usage pour le suivi de la faune sauvage

1.1. La bioacoustique : concept et définition

La bioacoustique est une discipline historique et fondamentale dans le domaine du comportement animal qui passe par l'étude des sons émis par des espèces animales (Sueur & Farina, 2015 ; Ozga, 2017). D'un point de vue historique, c'est durant la seconde guerre mondiale qu'est né ce nouveau domaine de recherche, d'abord aux États-Unis puis en Europe dès 1946 (Société Française d'Acoustique, 2010 ; Ozga, 2017).

¹ Union Internationale pour la Conservation de la Nature

Cette discipline se situe à l'interface de l'éthologie, la physiologie, la neurobiologie, la biomécanique et l'évolution (Société Française d'Acoustique, 2010 ; Pijanowski et al. 2011a ; Towsey et al. 2014a). La bioacoustique se concentre principalement sur le comportement acoustique des individus d'une espèce grâce à l'étude de l'émission, la propagation et la réception des sons qu'ils produisent (vocalisations, stridulations, ultrasons, cymbalisations, sons instrumentaux, etc. ; Pijanowski et al. 2011b ; Sueur et al. 2014 ; Towsey et al. 2014c). Selon le Conseil International de la Bioacoustique (IBAC, 2018), la bioacoustique se compose de nombreux champs d'étude (voir **Figure 1**). Par exemple, elle permet de comprendre les mécanismes de production et de réception de signaux acoustiques chez les animaux grâce à l'étude des organes acoustiques et des processus physiologiques et neurophysiologiques par lesquels les sons sont produits, reçus puis traités (Société Française d'Acoustique, 2010 ; IBAC, 2018). Elle permet également de répondre à des questions liées à l'éthologie de la communication acoustique animale ou de participer au suivi de la faune par exemple (IBAC, 2018).

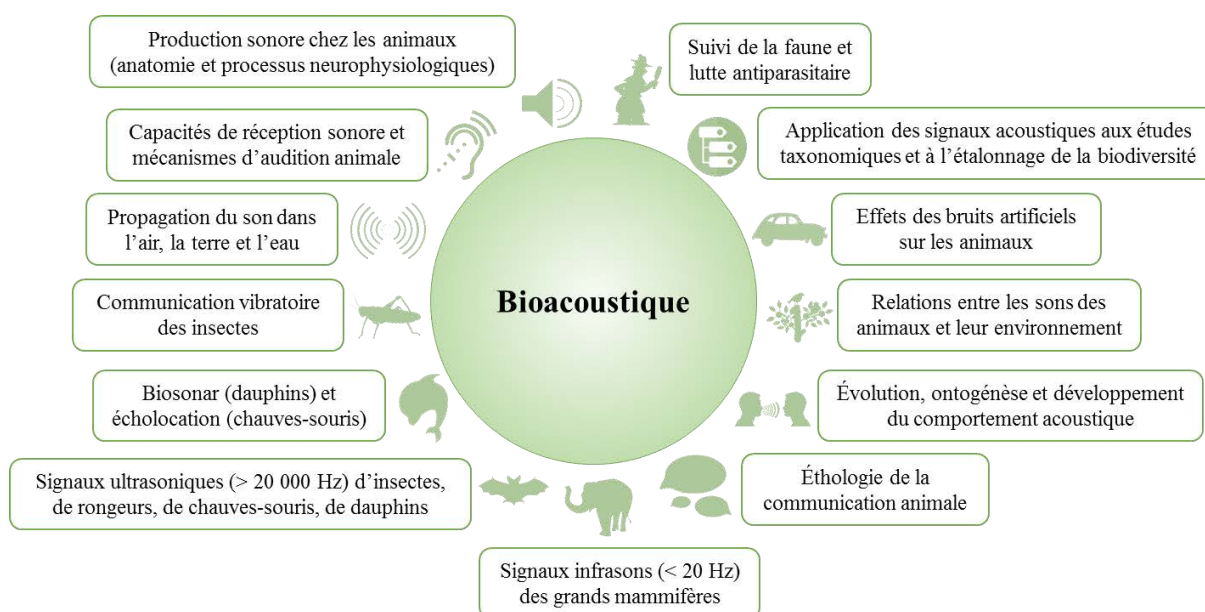


Figure 1 : Champs d'étude abordés en bioacoustique (d'après IBAC, 2018).

Ces dernières décennies, l'usage de la bioacoustique a connu un véritable essor (Société Française d'Acoustique, 2010). Et, que ce soit à l'échelle de l'individu ou de la population d'une espèce en particulier, les études et recherches en bioacoustique permettent aujourd'hui de répondre à un certain nombre de questions d'ordre biologique, éthologique, ou encore physique et physiologique. Les méthodes découlant de ces études sont considérées comme des

outils puissants pour le suivi des espèces qui produisent des sons (Frommolt & Tauchert, 2014). L'évolution de la recherche dans le domaine de la bioacoustique ainsi que l'intérêt croissant pour cette discipline sont en partie liés au développement de méthodes et d'outils qui permettent d'enregistrer, d'analyser et de traiter les signaux acoustiques (Société Française d'Acoustique, 2010).

1.2. La bioacoustique au service du suivi des espèces animales

1.2.1. Des objectifs diversifiés

Le suivi d'une espèce implique de répondre à des questions concernant son occurrence (e.g. détection), ses effectifs (e.g. abondance) ou encore sa biologie (e.g. comportement, reproduction, utilisation du territoire, localisation ; Yoccoz et al. 2001). De nombreuses espèces animales utilisent la communication acoustique afin d'échanger entre congénères. Par définition, cette forme de communication se compose d'un duo émetteur-receveur partageant de l'information encodée dans un signal par l'émetteur, puis décodée et interprétée par le receveur (Shanon & Weaver, 1949). Avec ce type de communication, les signaux acoustiques peuvent être étudiés puis utilisés par les chercheurs afin de suivre ces espèces animales. Un suivi acoustique repose alors sur l'acquisition et le traitement de données pouvant être obtenues grâce à l'emploi de méthodes de bioacoustique, fournissant des informations relatives à la structure et à la dynamique des populations de l'espèce étudiée (voir **Figure 2**).

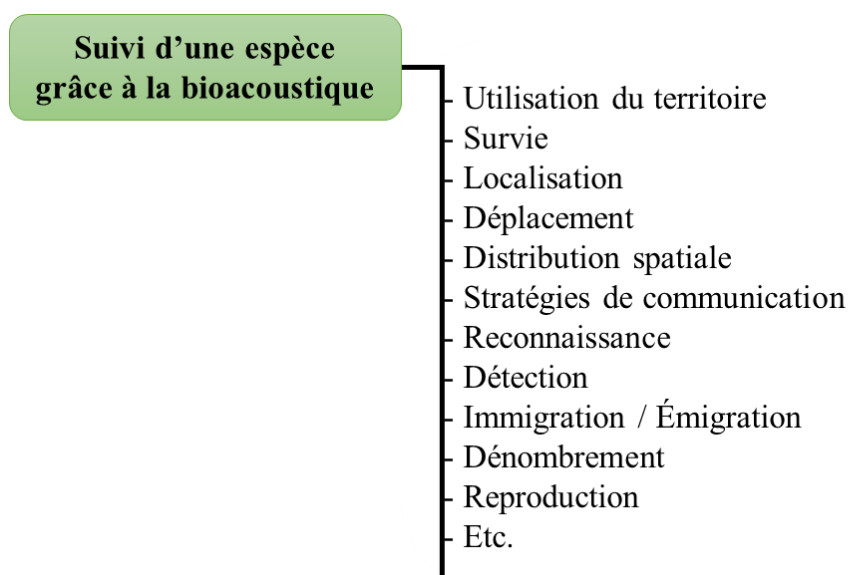


Figure 2 : Thématiques de recherche auxquelles la bioacoustique peut répondre pour le suivi des espèces.

Ainsi, certaines études ont montré que la bioacoustique permet d'estimer les densités de population (e.g. *Seiurus aurocapilla* - Dawson & Efford, 2009 ; Efford et al. 2009 ; Bunting & Chesmore, 2013 ; Marques et al. 2013 ; Lucas et al. 2015 ; *Canis aureus* - Comazzi et al. 2016) ou de suivre leur dynamique (e.g. Marques et al. 2013 ; *Phocoena sinus* - Thomas et al. 2017). Les estimations issues de ces analyses acoustiques sont généralement plus précises que celles obtenues à partir de captures directes (i.e. captures au filet ; *Seiurus aurocapilla* - Dawson & Efford, 2009). La bioacoustique offre également la possibilité de dénombrer les individus (e.g. Blumstein et al. 2011 ; *Apteryx owenii* - Digby et al. 2013 ; Marques et al. 2013 ; *Canis aureus* - Comazzi et al. 2016 ; *Lagopus muta* - Marin-Cudraz et al. 2017) à l'aide d'analyses discriminantes linéaires ou d'inspections visuelles de spectrogrammes. À nouveau, ces comptages, basés sur des analyses acoustiques et statistiques, peuvent se montrer plus précis et performants que ceux réalisés à l'écoute directement sur le terrain (e.g. *Apteryx owenii* - Digby et al. 2013 ; *Lagopus muta* - Marin-Cudraz et al. 2017).

L'étude des sons permet d'estimer la richesse spécifique (Marques et al. 2013 ; Wimmer et al. 2013) à partir de la détection des espèces (i.e. occurrence) et de leur identification dans les enregistrements (Acevedo & Villanueva-Rivera, 2006 ; Bardeli et al. 2010 ; Obrist et al. 2010 ; Roch et al. 2011 ; Zimmer, 2011 ; Huetz & Aubin, 2012 ; Towsey et al. 2012 ; Borker et al. 2015 ; Spillman et al. 2015 ; Kalan et al. 2016 ; Frommolt, 2017). Les déplacements des individus et la distribution des espèces font également l'objet d'études acoustiques (e.g. Blumstein et al. 2011 ; *Canis aureus* - Comazzi et al. 2016), le long de voies de migration par exemple (e.g. les oiseaux - Frommolt, 2017) de même que la façon dont ils utilisent leur territoire ou leur domaine vital grâce à la détection des signaux émis par les individus (e.g. *Pan troglodytes* - Kalan et al. 2016). Ces détections et identifications peuvent être réalisées à l'écoute ou à l'aide de procédures automatiques. Cependant, les algorithmes de détection et de classification restent, à ce jour, relativement difficiles à paramétrer ainsi qu'à entraîner et nécessitent une vérification par un expert afin de limiter les erreurs (i.e. faux négatifs et faux positifs ; Sueur et al. 2012 ; Marques et al. 2013 ; Frommolt, 2017).

Ces travaux de recherche mettent en lumière le fait que les méthodes et analyses acoustiques peuvent répondre à plusieurs questions relatives au suivi des espèces. C'est plus particulièrement le cas de la signature acoustique individuelle, de la localisation acoustique ou encore des indices acoustiques.

1.2.2. L'individualisation acoustique

L'enregistrement et l'analyse des signaux acoustiques d'une espèce offrent aux chercheurs la possibilité d'obtenir des informations précises au niveau individuel. En effet, comme les motifs spécifiques du type cicatrices ou patrons de coloration, les signaux acoustiques peuvent contenir des informations sur le groupe auquel l'individu appartient mais aussi sur son âge, son sexe, son statut de dominance et sa condition physique (Gerhardt, 1992 ; Obrist et al. 2010 ; Taylor & Reby, 2010). L'étude des caractéristiques acoustiques de ces signaux a ainsi permis de mettre en évidence l'existence de signatures acoustiques individuelles chez un grand nombre de taxons (Mennill, 2011), permettant d'aboutir à une individualisation acoustique.

Grâce à cette signature, les comportements acoustiques et sociaux des individus peuvent être étudiés (e.g. *Bebuella pygmaea* – Snowdon & Cleveland, 1980 ; *Lemur catta* – Macedonia, 1986 ; *Canis lupus* - Tooze et al. 1990 ; *Alopex lagopus* – Frommolt et al. 2003 ; *Pipistrellus kuhlii* – Pfalzer & Kush, 2003 ; *Cercopithecus diana* – Candiotti et al. 2012), tout comme les mécanismes de reconnaissance parents-jeunes (e.g. *Cercopithecus aethiops* – Cheney & Seyfarth, 1980 ; *Procyon lotor* – Sieber, 1986 ; *Pygoscelis adelia* et *P. papua* – Jouventin & Aubin, 2002 ; *Neophoca cinerea* – Charrier & Harcourt, 2006) ou encore les stratégies de communication entre les individus (e.g. *Basileuterus leucoblepharus* – Mathevon et al. 2008 ; *Crex crex* – Rek & Oiejuk, 2011 ; *Taeniopygia guttata* - Mouterde et al. 2014). Plus largement, elle offre la possibilité de différencier les familles ou groupes sociaux les uns des autres (e.g. *Procyon lotor* – Sieber, 1986 ; Rhinolophidae et Vespertilionidae – Preatoni et al. 2005 ; *Canis lupus* - Zaccaroni et al. 2012).

La signature acoustique individuelle peut être considérée comme un véritable outil pour la conservation (e.g. *Vulpes velox* – Darden et al. 2003a ; *Lycaon pictus* – Hartwig, 2005) permettant d'accéder à un grand nombre d'informations concernant l'histoire de vie des individus (utilisation de l'habitat, survie, immigration, émigration, etc. ; Terry et al. 2005). Techniquement, une fois les enregistrements réalisés, un travail de visualisation doit être conduit grâce à plusieurs types de représentations graphiques comme le spectrogramme (fréquence en fonction du temps), l'oscillogramme (amplitude en fonction du temps) ou encore le spectre fréquentiel (amplitude en fonction des fréquences ; Charif et al. 2010 ; Obrist et al. 2010). La reconnaissance des individus peut alors être réalisée de manière qualitative à partir d'une observation visuelle des spectrogrammes. En complément, de nombreuses mesures quantitatives relatives à la fréquence (fréquence fondamentale et harmoniques), la durée ou l'amplitude du son peuvent aussi être effectuées via les différentes représentations du son et de manière plus ou moins automatisée (e.g. Sueur et al. 2008b ; Charif et al. 2010 ; Zhang et al.

2016 ; Araya-Salas & Smith-Vidaurre, 2017). Ces mesures intégrées à des analyses statistiques multivariées (e.g. analyses factorielles discriminantes – AFD, analyses en composantes principales - ACP) permettent d'identifier les caractéristiques codant la signature acoustique individuelle (Terry et al. 2005 ; Huetz & Aubin, 2012). Ces caractéristiques sont ensuite utilisées lors des procédures de classement qui ont pour but d'assigner chaque son à son émetteur préalablement identifié (Huetz & Aubin, 2012).

Cependant, pour utiliser la signature acoustique individuelle comme un outil de suivi, il faut que celle-ci soit stable dans le temps (Terry et al. 2005 ; Pollard et al. 2010). Un trait de signature idéal doit en effet pouvoir être échantillonné, ré-échantillonné fréquemment et facilement (Pollard et al. 2010). De plus, il est nécessaire que la variation intra-individuelle soit faible et la variation interindividuelle assez importante afin de pouvoir différencier les individus entre eux (Terry et al. 2005). Enfin, suivre les individus grâce à cette signature acoustique individuelle implique l'obtention d'un nombre suffisant d'enregistrements pour chaque individu (données de référence et d'entraînement), idéalement enregistrés séparément, ce qui peut être contraignant et difficile selon l'espèce étudiée (Terry et al. 2005).

Pour terminer, l'utilisation de la signature acoustique individuelle pour le suivi des espèces est une approche non invasive puisque celle-ci, contrairement au marquage direct (e.g. bagues, transpondeurs) qui peut provoquer des effets à court et long terme sur les individus, ne nécessite pas de capture ou de manipulation (Terry et al. 2005 ; Pollard et al. 2010). Cette approche est particulièrement intéressante dans les situations où les marques physiques sont difficiles à détecter et/ou si les animaux sont sensibles aux perturbations (Terry et al. 2005).

1.2.3. La localisation acoustique

En milieu terrestre comme aquatique, l'étude des signaux acoustiques permet, entre autres, de localiser les individus qui les produisent (Spiesberger & Fristrup, 1990 ; Bower & Clark, 2005 ; Mennill et al. 2006 ; Blumstein et al. 2011 ; Zimmer 2011 ; Huetz & Aubin, 2012 ; Mennill et al. 2012 ; Frommolt & Tauchert, 2014 ; Griffin et al. 2015) et donc de suivre plusieurs individus simultanément (e.g. les oiseaux - McGregor et al. 1997). La localisation acoustique permet, par la même occasion, de dénombrer les individus qui émettent des sons en même temps, d'étudier leur distribution spatiale ainsi que leurs déplacements (e.g. *Thryothorus rufalbus* - Mennill et al. 2006 ; *Botaurus stellaris* - Frommolt & Tauchert, 2014 ; les oiseaux - Hedley et al. 2017) lors de suivi de migration par exemple (e.g. les oiseaux - Stepanian et al. 2016).

Pour procéder à la localisation, il est nécessaire d'enregistrer les signaux acoustiques émis à l'aide d'un réseau d'au moins 3 microphones (ou hydrophones) positionnés à différents

endroits. En général, la localisation acoustique est estimée à partir des différences de temps d'arrivée du son à chaque microphone basées sur le calcul des corrélations croisées entre les spectrogrammes ou oscillogrammes des différents microphones (e.g. *Thryothorus rufalbus* - Mennill et al. 2006 ; *Trichechus manatus* - Muanke & Niezrecki, 2007 ; *Pongo pygmaeus wurmbii* - Spillman et al. 2015). Des algorithmes ont ainsi été développés dans cet objectif (e.g. Bunting & Chesmore, 2013 ; Wilson et al. 2014 ; Kan et al. 2015).

1.2.4. Les indices acoustiques

La richesse en espèces peut être étudiée grâce à des indices acoustiques calculés à partir d'enregistrements réalisés en milieu naturel (Harris et al. 2016 ; Gasc et al. 2017). Ces indices peuvent alors être utilisés comme des outils pour répondre à des questions relatives au suivi de la faune. En effet, en plus d'estimer la richesse spécifique, ils permettent d'étudier la distribution des espèces dans leur habitat en fonction des caractéristiques du paysage (i.e. topographie et végétation ; Farina & Pieretti, 2014), de quantifier les variations de diversité acoustique entre différents sites ou périodes (Gasc et al. 2013 ; Lellouch et al. 2014 ; Parks et al. 2014 ; Mammides et al. 2017) ou encore d'identifier les cycles journaliers et/ou annuels de l'activité acoustique (Pieretti et al. 2011 ; Depraetere et al. 2012 ; Farina et al. 2013 ; Gage & Axel, 2014 ; Towsey et al. 2014b, c). Les indices acoustiques permettent par ailleurs d'obtenir une estimation de la richesse en espèces plus précise que celle issue des comptages réalisés traditionnellement sur le terrain (Towsey et al. 2014a, c).

La richesse spécifique peut ainsi être évaluée et suivie grâce à l'étude des corrélations entre la diversité de la communauté (i.e. ensemble d'espèces) et les valeurs des indices obtenues (Sueur et al. 2008a ; Depraetere et al. 2012 ; Harris et al. 2016 ; Zhang et al. 2016 ; Mammides et al. 2017) sans même procéder à l'identification des espèces (Gage & Axel, 2014). Par définition, ces indices sont des statistiques qui regroupent et résument plusieurs aspects de la distribution de l'énergie acoustique et de l'information contenues dans les enregistrements (Towsey et al. 2014b, c). Ils ont été développés dans un champ plus large que celui de la bioacoustique à savoir l'écoacoustique qui consiste en l'étude des sons émanant d'un paysage sonore (i.e. biophonie, géophonie et anthrophonie ; Towsey et al. 2014a ; Sueur & Farina, 2015 ; Ozga, 2017). Le calcul de ces indices peut se faire à l'aide de différents packages disponibles sur le logiciel R (e.g. Seewave - Sueur et al. 2008b ; Soundecology - Villanueva-Rivera & Pijanowski, 2015) et sont facilement applicables à de grands échantillons d'enregistrements (Gasc et al. 2017).

1.3. Effets du milieu naturel sur l'étude des sons

Le suivi des espèces, basé sur l'utilisation des signaux acoustiques qu'elles produisent, implique la prise en compte de certains paramètres pouvant les affecter, et ce, quel que soit le type de matériel utilisé pour les enregistrer.

Un son est un phénomène physique constitué d'ondes de pression oscillantes introduites dans un milieu (eau, air, etc.), grâce à la vibration d'un objet qui crée une perturbation (Harrison et al. 1980 ; Obrist et al. 2010 ; Reed et al. 2010 ; Bradbury & Vehrencamp, 2011). Le son est caractérisé par son amplitude (en décibel), sa fréquence (nombre de cycles par seconde – en Hertz) et sa durée (en seconde ; Harrison et al. 1990 ; Obrist et al. 2010). Le milieu de propagation dans lequel un signal acoustique est transmis permet donc de relier l'émetteur au receveur (Bradbury & Vehrencamp, 2011).

Bien que les ondes sonores aient le potentiel de se propager dans tous les types de milieux, les propriétés de ces ondes vont être affectées et modifiées par la distance qu'elles parcourent et le milieu qu'elles traversent (Wiley & Richards, 1978 ; Richards & Wiley, 1980 ; Bradbury & Vehrencamp, 2011). En effet, le signal sonore, durant sa transmission atmosphérique, est susceptible de subir différents types de dégradations comme la perte d'énergie (diminution de l'amplitude), la distorsion de ses fréquences et/ou de son motif temporel (réverbérations, dispersion, etc.) mais il peut également être « masqué » par le bruit ambiant (i.e. ambiance sonore et bruits provenant des autres congénères et/ou espèces [biophonie], du milieu naturel [géophonie] ou encore des activités anthropiques [anthrophonie] ; Wiley & Richards, 1978 ; Richards & Wiley, 1980 ; Bradbury & Vehrencamp, 2011 ; Pijanowski et al. 2011a, b). L'atténuation du son est due à la perte d'énergie par étalement sphérique et par absorption atmosphérique (dépendante de la température, de l'humidité relative, de l'altitude et de la fréquence du son) mais aussi à la perte provoquée par le feuillage et la couverture du sol (stratification des milieux) et des conditions météorologiques (température, vent ; Wiley & Richards, 1978 ; Harrison et al. 1980 ; Richards & Wiley, 1980 ; Obrist et al. 2010 ; Reed et al. 2010 ; Raynor et al. 2017). La distance est un autre facteur responsable de l'atténuation du son (Wiley & Richards, 1978 ; Richards & Wiley, 1980 ; Harrison et al. 1980 ; Reed et al. 2010). En effet, l'intensité sonore diminue avec le carré de la distance depuis la source sonore (en milieu terrestre : - 6 dB à chaque doublement de la distance ; Harrison et al. 1990 ; Obrist et al. 2010 ; Bradbury & Vehrencamp, 2011). Ainsi, les sons aigus sont plus rapidement atténués par rapport aux sons graves, en raison de leurs longueurs d'onde plus grandes qui ont plus de risque de rencontrer un obstacle (Obrist et al. 2010 ; Barataud, 2015).

Dans ce contexte, les animaux doivent prendre en compte les contraintes du milieu dans lequel ils vivent pour garantir une communication efficace (Bradbury & Vehrencamp, 2011). À titre d'exemple, les animaux qui communiquent à de grandes distances n'utilisent que des sources de vibrations qui se propagent efficacement. De plus, les informations contenues dans leur signal sont en partie codées par les modulations de fréquence et d'amplitude (Richards & Wiley, 1980 ; Bradbury & Vehrencamp, 2011). Un son contenant des modulations de fréquence serait ainsi plus avantageux pour la communication à longue distance (Wiley & Richards, 1982). Malgré ces stratégies, la communication à grande distance contraint les capacités du receveur à détecter et reconnaître les signaux alors que l'atténuation de l'intensité et la dégradation de la structure du signal, inévitablement accompagnées d'une diminution du rapport signal/bruit, augmentent avec la distance source-receveur (Wiley & Richards, 1978, 1982 ; Richards & Wiley, 1980).

Compte tenu de tous les éléments présentés précédemment, la détection d'un signal acoustique par un receveur (i.e. enregistreur ou observateur) dépend donc de deux paramètres qui sont l'espace actif du signal émis et l'espace de détection du receveur. Plus précisément, l'espace actif d'un son correspond à la distance depuis la source sonore pour laquelle l'intensité du signal émis reste supérieure au seuil de détection des receveurs (Brenowitz, 1982 ; Bradbury & Vehrencamp, 2011). L'espace de détection du receveur, quant à lui, est défini comme une surface ou un volume échantillonné par des receveurs (Obrist et al. 2010 ; Llusia et al. 2011 ; Darras et al. 2016). Par ailleurs, les informations contenues dans le signal à la source sont toujours supérieures à celles obtenues par le receveur (Wiley & Richards, 1978).

Les conditions dans lesquelles la production, la propagation et la réception ont lieu entraînent donc une modification à la fois de la taille de l'espace actif du signal sonore étudié mais également de l'espace de détection (Bradbury & Vehrencamp, 2011). Au regard de tous ces éléments, le suivi acoustique d'une espèce animale doit donc prendre en compte les caractéristiques des signaux acoustiques qu'elle émet mais aussi celles du milieu dans lesquels ils se propagent. Le choix des sites d'écoute ou d'enregistrement doit être mûrement réfléchi afin d'être optimisé et de garantir un échantillonnage acoustique adapté à l'espèce ciblée par l'étude et aux caractéristiques environnementales dans lesquelles celle-ci émet des sons.

1.4. Avancées technologiques pour les suivis acoustiques

L'ensemble des études citées confirme que la bioacoustique, et les outils sur lesquelles elle s'appuie, offre de véritables perspectives et opportunités pour le suivi de la faune sauvage. Bien

qu'il soit possible de suivre les espèces de différentes manières, il existe un point commun et déterminant à toutes ces études, à savoir le choix du matériel d'enregistrement.

L'équipement typique utilisé pour les suivis acoustiques se compose d'un ou plusieurs microphone(s), enregistreur(s) et logiciel(s) de lecture et d'analyses des sons (Obrist et al. 2010). Les microphones permettent de transformer les ondes sonores produites par les animaux en un signal électrique qui est, par la suite, enregistré grâce à l'enregistreur (Obrist et al. 2010 ; Bradbury & Vehrencamp, 2011). Le type de microphone utilisé ainsi que la fréquence d'échantillonnage de l'enregistreur doivent être adaptés à l'objectif de l'étude ainsi qu'aux caractéristiques acoustiques des signaux de l'espèce étudiée (Terry et al. 2005 ; Obrist et al. 2010 ; Barataud, 2012). Dans certains cas, comme pour l'étude des caractéristiques acoustiques individuelles, il est nécessaire d'opter pour des microphones directionnels ou super-cardioïdes (i.e. unidirectionnels). En effet, ces microphones ont la particularité d'amplifier les sons provenant d'une direction et d'une source uniques tout en atténuant les sons latéraux (Obrist et al. 2010). En général, les prises de sons se font à proximité (i.e. à quelques dizaines mètres) de l'individu afin de garantir une qualité suffisante des enregistrements.

Plus récemment, grâce aux avancées technologiques qui ont contribué au développement de nouveaux outils d'enregistrement, les réseaux de microphones et/ou d'enregistreurs autonomes (ARS – '*Automated Recording Systems*' ou ARU – '*Autonomous Recordings Units*') sont de plus en plus employés pour le suivi acoustique de la faune sauvage (i.e. Blumstein et al. 2011 ; Mennill, 2011). Il peut s'agir de plusieurs microphones reliés par des câbles jusqu'à un enregistreur central qui récupère l'ensemble des sons ou de plusieurs enregistreurs munis de microphones (e.g. Zoom H4n – Zoom Corporation) ou encore, plus récemment, d'enregistreurs autonomes (e.g. Song Meters SM2+, SM3 – Wildlife Acoustics) séparés et répartis dans la zone d'étude. Ces derniers, souvent composés d'une paire de microphones omnidirectionnels, permettent de produire des enregistrements en stéréo reproduisant ainsi l'arrangement spatial des sources sonores (Obrist et al. 2010). De plus, les plages horaires ou journées durant lesquelles les données acoustiques devront être collectées peuvent être programmées. Les enregistreurs autonomes permettent ainsi de minimiser le dérangement de la faune (i.e. sans capture, ni observation directes) et de diminuer le biais dû à la présence d'observateurs sur le terrain (McGregor et al. 1997 ; Acevedo & Villanueva-Rivera, 2006 ; Mennill et al. 2006, 2012 ; Bradbury & Vehrencamp, 2011 ; Zimmer, 2011 ; Digby et al. 2013 ; Hedley et al. 2017). Les réseaux d'enregistreurs/microphones présentent de nombreux avantages, comme par exemple de détecter et/ou de localiser plusieurs individus à la fois (McGregor et al. 1997 ; Bower & Clark, 2005 ; Terry et al. 2005 ; Heupel et al. 2006 ; Mennill et al. 2006, 2012 ;

Marques et al. 2013 ; Griffin et al. 2015 ; Spillman et al. 2015) mais également de suivre une grande variété d'espèces (e.g. Obrist et al. 2010). L'efficacité d'un suivi peut ainsi être améliorée grâce à l'utilisation de réseaux d'enregistreurs/microphones qui permettent de récolter rapidement une grande quantité de données sur le terrain (Acevedo & Villanueva-Rivera, 2006 ; Obrist et al. 2010 ; Huetz & Aubin, 2012 ; Digby et al. 2013 ; Borker et al. 2015). Bien que le temps et le coût des phases de terrain puissent être drastiquement diminués (Heupel et al. 2006 ; Dawson & Efford, 2009 ; Obrist et al. 2010 ; Borker et al. 2015), l'écoute et l'analyse des sons enregistrés sont au contraire assez longues (Acevedo & Villanueva-Rivera, 2006 ; Frommolt, 2017 ; Shonfield & Bayne, 2017) en raison des grandes quantités de données à traiter (Wimmer et al. 2013 ; Kalan et al. 2016), nécessitant bien souvent les compétences d'experts (Digby et al. 2013). L'archivage des enregistrements rend par ailleurs possible des vérifications ultérieures (Acevedo & Villanueva-Rivera, 2006 ; Obrist et al. 2010 ; Pieretti et al. 2011 ; Hedley et al. 2017 ; Shonfield & Bayne, 2017), de nouvelles analyses et interprétations peuvent alors être effectuées (Borker et al. 2015), diminuant par la même occasion l'effet observateur (Obrist et al. 2010 ; Sueur et al. 2012 ; Digby et al. 2013 ; Hedley et al. 2017). La collecte de données acoustiques par le biais de réseaux d'enregistreurs/microphones peut s'étendre sur de longues périodes (Obrist et al. 2010 ; Mennill et al. 2012 ; Marques et al. 2013 ; Aubin et al. 2014 ; Borker et al. 2015 ; Hedley et al. 2017), permettant ainsi de diminuer le biais temporel lié à la durée du suivi (Digby et al. 2013).

Cependant, en plus du coût non négligeable de l'acquisition des systèmes d'enregistrement (Heupel et al. 2006), les enregistreurs possèdent une capacité limitée pour le stockage des données (Acevedo & Villanueva-Rivera, 2006 ; Obrist et al. 2010 ; Sueur et al. 2012 ; Shonfield & Bayne, 2017) et la durée des suivis est dépendante de la longévité des batteries (Obrist et al. 2010 ; Shonfield & Bayne, 2017). Par ailleurs, la principale limite à l'utilisation de ces réseaux est l'effet du milieu de propagation sur les sons. En effet, la distance séparant la source du microphone, le bruit ambiant, la végétation ou encore la topographie peuvent induire une dégradation des sons étudiés et ainsi empêcher leur détection (McGregor et al. 1997 ; Mennill et al. 2006, 2012 ; Muanke & Niezrecki, 2007 ; Obrist et al. 2010 ; Huetz & Aubin, 2012 ; Digby et al. 2013 ; Frommolt & Tauchert, 2014 ; Spillman et al. 2015 ; Stepanian et al. 2016). Ces effets sont également dépendants de la hauteur d'émission (effets de sol) et des caractéristiques fréquentielles du signal (Aubin et al. 2014). Les conditions météorologiques et la période de la journée durant laquelle des enregistrements sont réalisés peuvent également avoir une incidence sur la propagation du signal étudié (Richards & Wiley, 1980). Enfin, bien que les avantages de ces réseaux soient nombreux, il reste bien souvent une incertitude quant à

la surface échantillonnée par le dispositif selon sa configuration (Obrist et al. 2010 ; Marques et al. 2013 ; Shonfield & Bayne, 2017).

Finalement, les réseaux d'enregistreurs/microphones demeurent des outils intéressants et pratiques pour suivre une grande variété d'espèces (Obrist et al. 2010) pouvant vivre dans des milieux difficiles d'accès (i.e. massif montagneux, forêt tropicale ; McGregor et al. 1997 ; Acevedo & Villanueva-Rivera, 2006 ; Mennill et al. 2006, 2012 ; Digby et al. 2013 ; Marques et al. 2013 ; Griffin et al. 2015 ; Ulloa et al. 2016 ; Frommolt, 2017). Ces outils sont particulièrement adaptés pour le suivi d'espèces rares et/ou discrètes pouvant être très difficiles à détecter ou à observer directement sur le terrain (Blumstein et al. 2011 ; Zimmer, 2011 ; Borker et al. 2015 ; Thomas et al. 2017). On parle alors de suivi acoustique passif ('*Passive Acoustic Monitoring*' – PAM) lorsque les concepts et technologies utilisés permettent le suivi d'espèces difficilement observables (e.g. cétacés, grands carnivores) sans que ceux-ci aient des effets sur les individus (e.g. acquisition de données sans playback - Zimmer, 2011). Particulièrement développés et utilisés dans des milieux marins, les suivis passifs basés sur l'acoustique ne reposent pas seulement sur l'emploi de matériels d'enregistrement passifs et/ou l'acquisition de données de manière non intrusive mais également sur l'utilisation de méthodes automatisées pour le traitement des données (e.g. détection des signaux d'intérêt, extractions des sons, etc. – Zimmer, 2011 ; Sousa-Lima et al. 2013).

1.5. Potentiel de la bioacoustique passive pour le suivi d'espèces rares et discrètes

Le suivi d'une espèce peut s'avérer difficile en raison de son statut (espèce rare), de sa biologie et/ou de ses mœurs discrètes. Or, les études précédemment présentées montrent que la bioacoustique passive représente une approche intéressante dans les situations où les méthodes de suivi traditionnelles (e.g. observations visuelles, piégeage, etc.) s'avèrent inadaptées, dangereuses ou trop coûteuses (Marques et al. 2013). Les méthodes basées sur l'utilisation d'outils passifs, tels que les enregistreurs autonomes, apparaissent particulièrement appropriées au suivi d'espèces ayant une activité acoustique nocturne ou vivant dans des habitats inaccessibles (i.e. végétation dense, accès dangereux ; Darden et al. 2003b ; Obrist et al. 2010 ; Mennill et al. 2012 ; Marques et al. 2013 ; Frommolt & Tauchert, 2014 ; Ulloa et al. 2016).

Pour de nombreuses populations en danger ou espèces rares dont le statut de conservation doit être évalué, la collecte d'enregistrements acoustiques nécessite tout de même un travail considérable, ce qui justifie la recherche et l'emploi d'outils et/ou de méthodes d'analyse les plus efficaces (Terry et al. 2005). Bien qu'étant capables de produire des sons, un certain

nombre de mammifères restent difficiles à suivre de fait de leurs mœurs discrètes et de leur installation sur de vastes territoires. C'est notamment le cas pour le Loup gris (*Canis lupus*).

2. Le Loup gris (*Canis lupus*)

2.1. Présentation générale

2.1.1. Systématique

Le Loup gris (*Canis lupus*) est un animal appartenant à l'embranchement des Vertébrés, à la classe des Mammifères, à l'ordre des Carnivores et à la famille des Canidés (Sillero-Zubiri, 2009).

Le genre *Canis* regroupe huit espèces qui sont le Chacal rayé (*C. adustus*), le Chacal doré (*C. aureus*), le Chacal à dos noir (*C. mesomelas*), le Coyote (*C. latrans*), le Loup roux (*C. rufus*), le Loup d'Abyssinie (*C. simensis*) et bien évidemment le Loup gris (*C. lupus*) (Sillero-Zubiri, 2009). Le Loup gris de l'Est, autrefois classé comme une sous-espèce de *C. lupus*, est maintenant considéré comme une espèce à part entière du genre *Canis* (*C. lycaon* - Chambers et al. 2012).

Ces dernières années, la classification concernant les espèces et sous-espèces de loups a beaucoup évolué notamment grâce au développement de nouvelles méthodes taxonomiques. Cependant, cette classification reste encore aujourd'hui très discutée (e.g. Loup gris d'Italie - LCIE, 2007 ; Sillero-Zubirini, 2009).

2.1.2. Écologie et mode de vie

Les loups sont des mammifères grégaires et sociaux organisés le plus souvent en meutes (unité sociale - Mech, 1999). Les meutes sont des groupes familiaux composés d'au moins un couple reproducteur, de leurs jeunes et occasionnellement d'individus « adoptés » non apparentés provenant d'autres meutes (Mech, 1999 ; Mech & Boitani, 2003). Lorsque les jeunes atteignent leur maturité sexuelle (vers 1-2 ans), ceux-ci peuvent être amenés à quitter la meute (Mech, 1999). Dotés de grandes capacités de dispersion ainsi que d'une forte plasticité, ces individus vont alors partir pour fonder leur propre meute sur de nouveaux territoires (Mech & Boitani, 2003 ; Ciucci et al. 2009). Ce processus participe à la dynamique des populations de loups et à l'évolution de leur aire de répartition (Mech, 2008).

Les loups vivent donc selon une organisation spatiale et sociale complexe sur des territoires qu'ils protègent, notamment grâce à du marquage olfactif et acoustique (Harrington & Mech,

1978). La taille de leur territoire varie en fonction du nombre d'individus composant la meute, de la densité de proies disponibles et des caractéristiques du milieu qu'ils occupent (Fuller et al. 2003). Ce canidé a la particularité de vivre à faible densité sur de vastes territoires allant de 100 à 500 km² en Europe (Boitani, 2000 ; Mech & Boitani, 2003 ; Nowak et al. 2008 ; Duchamp et al. 2012, 2017) pour des meutes composées d'environ 4 individus (Duchamp et al. 2012, 2017 ; Torreta et al. 2017) contre 100 km² à plus de 1 600 km² pour des meutes constituées de 3 à 12 loups outre-Atlantique (Fuller et al. 2003). Par ailleurs, au cours de la période estivale, notamment en présence de louveteaux, l'activité et les déplacements des loups se concentrent dans une zone particulière du territoire, appelée site de rendez-vous (Joslin, 1967 ; Harrington & Mech 1978).

Les milieux de vie où s'installent et évoluent les loups ont la particularité de couvrir une multitude d'habitats aux conditions biotiques et abiotiques variées (Fuller et al. 2003). En effet, il peut s'agir aussi bien de milieux de montagne que de plaine, des milieux ouverts ou fermés, sous des latitudes élevées (e.g. toundra arctique) ou basses (e.g. milieux tropicaux d'Asie ; Fuller et al. 2003). Compte tenu de cette plasticité, le Loup gris est qualifié de généraliste de l'habitat, cependant cette tolérance est principalement déterminée par la disponibilité en proies (Fuller et al. 2003)

Le Loup gris est un grand carnivore situé au sommet de la chaîne alimentaire (Ripple et al. 2014). Opportuniste, il est capable d'adapter son régime alimentaire en fonction des proies disponibles (Landry, 2004). De par son aire de répartition mondiale très vaste et les habitats différents qu'il occupe, le régime alimentaire du Loup est très variable. En Europe occidentale par exemple, celui-ci se compose principalement d'ongulés sauvages tels que le Cerf élaphe (*Cervus elaphus*), le Chevreuil (*Capreolus capreolus*), le Chamois (*Rupicapra rupicapra*) et le Mouflon méditerranéen (*Ovis gmelini musimon* x *Ovis* sp.), mais aussi, de manière occasionnelle, d'ongulés domestiques comme les moutons (Poulle et al. 1997 ; Peterson & Ciucci, 2003 ; Landry, 2004).

2.1.3. Histoire et répartition

À partir du Moyen âge jusqu'au milieu du 20^{ème} siècle, les politiques d'extermination menées à l'encontre du Loup gris ont conduit à l'extinction de ses populations dans de nombreuses régions du globe ainsi qu'à une diminution significative de son aire de répartition (Boitani, 2003 ; Fritts et al. 2003).

Cependant, des changements sociaux et environnementaux dans les sociétés humaines ont permis de recréer des conditions favorables à son expansion naturelle (Boitani, 2003 ; Fritts et

al. 2003 ; Randi, 2011 ; Chapron et al. 2014) rendue possible grâce au fort potentiel de dispersion et à la grande plasticité du Loup gris (Mech & Boitani, 2003 ; Ciucci et al. 2009). En effet, l'exode rural dans les zones de montagne et d'agriculture accompagné par l'accroissement des populations d'ongulés sauvages et l'adoption d'une politique de protection et de conservation envers le Loup dès les années 1970, ont largement contribué à sa recolonisation (voir **Figure 3** ; Boitani, 2003 ; Fritts et al. 2003 ; Randi, 2011 ; Chapron et al. 2014).

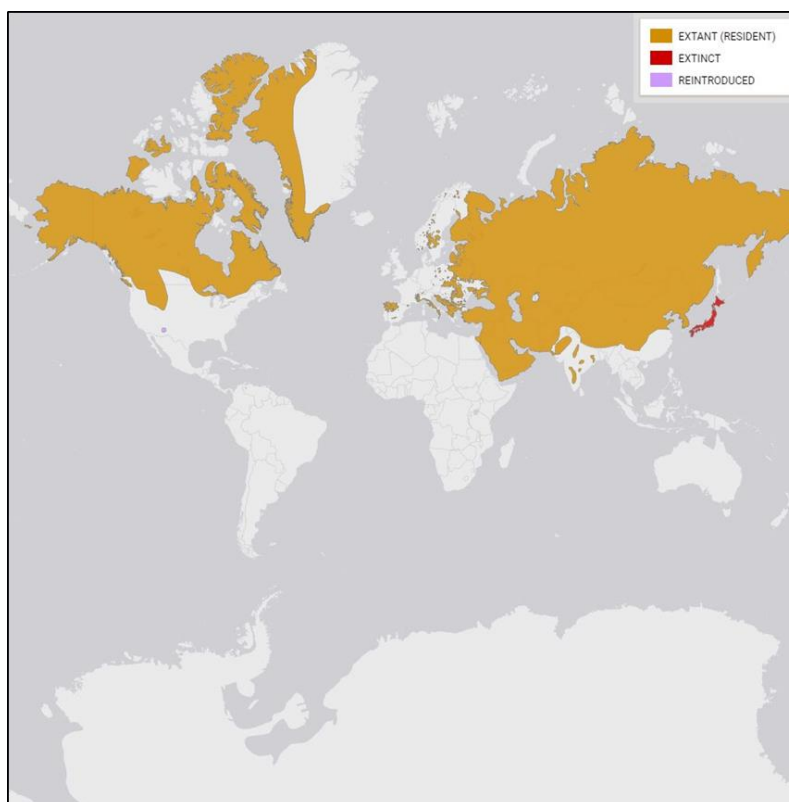


Figure 3 : Répartition actuelle du Loup gris dans le monde (UICN, <https://newredlist.iucnredlist.org/species/3746/10049204>, consulté le 14/09/2018).

En Europe, cette dynamique de reconquête s'est amorcée dès les années 1980 grâce à la dispersion d'individus provenant de petites populations fragmentées ayant survécu aux exterminations (e.g. Italie, péninsule Ibérique, Balkans, Pologne ; Breitenmoser, 1998 ; Boitani, 2003 ; Fritts et al. 2003 ; Landry, 2004).

2.1.4. Statut de protection et politique de gestion en Europe

L'adoption d'une politique de protection et de conservation du Loup a fortement contribué à son retour naturel en Europe (Boitani, 2003 ; Fritts et al. 2003 ; Chapron et al. 2014). De par son inscription à différentes conventions et annexes, le Loup gris bénéficie d'un statut de

protection au niveau international et communautaire. En effet, celui-ci figure à l'annexe II de la CITES de 1973 (Convention internationale sur le commerce des espèces en danger aussi appelée Convention de Washington) et à l'annexe A de son règlement d'application européen. Le Loup est également inscrit à l'annexe II de la Convention de Berne de 1979 relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel en Europe. Son inscription aux annexes II, IV et V de la directive européenne Habitat-Faune-Flore (92/43/CEE) de 1992 lui confère le statut d'espèce d'intérêt communautaire (Conseil de l'Europe, 1992). Plus précisément, l'annexe II encourage la création de sites Natura 2000 devant être gérés en conformité avec les besoins écologiques de l'espèce. L'annexe IV, quant à elle, impose aux états membres de l'Union Européenne et signataires de cette directive à adopter une protection stricte sur toute l'aire de répartition du Loup gris, interdisant ainsi toute destruction ou dommage sur sa population. Enfin, l'annexe V précise que dans certains pays (Estonie, Lettonie, Lituanie, Pologne, Slovaquie, Bulgarie, Grèce [Nord du 39° parallèle], Espagne [Nord du Duero] – Kaczensky et al. 2013), les loups peuvent faire l'objet de mesures de gestion.

Bien que tenus de protéger le Loup gris, les pays européens signataires de ces conventions ont la possibilité de déroger à ces obligations sous certaines conditions. En effet, la convention de Berne autorise, de manière très encadrée (i.e. périodes particulières et lieux définis), le prélèvement d'individus seulement dans le cas où la population n'est plus considérée comme menacée. Des dérogations à la protection stricte du Loup ont également été prévues par la directive Habitat-Faune-Flore. Celles-ci ne sont possibles que si l'état de conservation favorable du Loup (i.e. population viable à long terme, aire de répartition naturelle stable, habitat suffisamment étendu) est maintenu, pour prévenir des dommages importants à l'élevage et seulement si aucune autre solution satisfaisante ne peut être mise en place.

Le retour naturel du Loup gris s'est accompagné d'une augmentation des conflits, notamment avec la profession agricole, en raison de la prédation du Loup sur les animaux domestiques (Rigg et al. 2011 ; Mech, 2017). Bien que le conflit Homme-Loup se révèle plus social et psychologique que financier (Fourli, 1999), des outils pour prédire les prédateurs sur le bétail par les loups ont vu le jour afin d'aider les éleveurs et les gestionnaires à limiter le nombre d'attaques ainsi que les coûts liés à la gestion du canidé ou aux indemnités (Edge et al. 2011). Ainsi, même si le Loup bénéficie du statut d'espèce protégée, il peut faire l'objet de destructions dans le but de réduire les attaques sur les troupeaux domestiques et ce, même si différentes études ont démontré l'inefficacité de ces prélèvements (Chapron et al. 2014 ; Wielgus & Peebles, 2014).

2.2. Communication acoustique

Compte tenu de son organisation spatiale et de sa structure sociale, le Loup gris possède un nombre important de moyens de communication. Cette communication passe par les canaux olfactif, visuel et tactile ainsi que par l'acoustique (Harrington & Mech, 1978 ; Harrington & Asa, 2003).

2.2.1. Différents types de vocalisations

Le répertoire vocal des loups adultes et des louveteaux, qui vocalisent dès les premières heures suivant leur naissance, est plutôt riche (Coscia et al. 1991). En effet, les loups produisent différentes vocalisations plus ou moins longues et plus ou moins modulées (fréquence et amplitude). Parmi les vocalisations émises, on retrouve les aboiements, différents types de gémissements et de vocalisations de plaintes (pleurnichements, couinements), les jappements, les grognements et grondements, et bien évidemment les hurlements (Coscia et al. 1991 ; Holt, 1998 ; Harrington & Asa, 2003 ; Passilongo et al. 2017).

Certains de ces sons peuvent être émis par un seul loup (solo) ou par plusieurs (chorus). Ces chorus sont une série de vocalisations émises par un premier loup suivie de celles d'autres individus de la meute (Joslin, 1967 ; Holt, 1998 ; Harrington & Asa, 2003). Ils sont structurellement complexes et variables et peuvent donner des informations relatives à l'effectif de la meute (Theberge & Falls, 1967 ; Harrington, 1975 ; Harrington & Mech, 1982 ; Harrington, 1989). Les chorus débutent généralement par des hurlements simplement structurés, puis d'autres types de vocalisations interviennent au fur et à mesure de leur progression (Harrington & Mech, 1978 ; McCarley, 1978 ; Harrington, 1989). Après les hurlements, les aboiements sont les plus communs dans les chorus (Passilongo et al. 2017).

2.2.2. Cas particulier des hurlements

Caractéristiques acoustiques

Le hurlement peut être défini comme un son continu de 0.5 s à 11 s ayant une fréquence fondamentale allant de 150 à plus de 1 000 Hz, accompagnée d'harmoniques (Theberge & Falls, 1967 ; Harrington & Mech, 1978 ; Harrington, 1989 ; Tooze et al. 1990 ; Frommolt, 1999 ; Harrington & Asa, 2003).

La structure acoustique des hurlements a été étudiée grâce à des prospections auditives et spectrographiques, principalement axées sur la fréquence fondamentale et les harmoniques (Joslin, 1967 ; Theberge & Falls, 1967 ; Frommolt et al. 2003 ; Passilongo et al. 2010 ; Kershenbaum et al. 2016). Les hurlements peuvent être « plats », c'est-à-dire à peine modulés,

ou fortement modulés et souvent discontinus (Harrington & Mech, 1978, 1982 ; Passilongo et al. 2010 ; Kershenbaum et al. 2016 – voir **Figure 4**). Le niveau de pression acoustique, plus important durant les phases modulées des hurlements (particulièrement pour les hautes fréquences), confirme que ces vocalisations sont dédiées et adaptées à la communication à longue distance ainsi qu'à la défense du territoire (Frommolt, 1999).

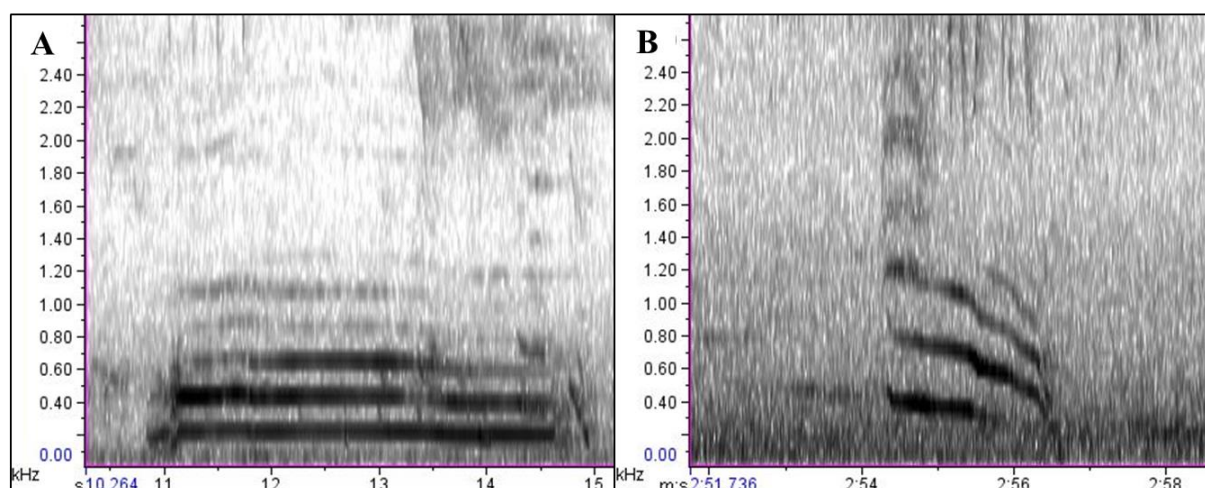


Figure 4 : Exemples de spectrogrammes de hurlements de Loup gris considérés comme « plat » (A) ou modulé en fréquence et en amplitude (B) (Parc Animalier de Sainte Croix – 2014).

L'étude des caractéristiques fréquentielles, temporelles et d'amplitude des hurlements a montré que celles-ci encodent l'individualité (Harrington, 1989 ; Tooze et al. 1990 ; Palacios et al. 2007 ; Passilongo et al. 2012 ; Root-Gutteridge et al. 2014a). Ces mêmes caractéristiques acoustiques peuvent également donner des indications sur la meute (e.g. signature vocale de la meute - Passilongo et al. 2010 ; Zaccaroni et al. 2012) ou être utilisées à des fins de taxonomie (e.g. informations sur la sous-espèce - Kershenbaum et al. 2016 ; Hennelly et al. 2017).

Fonctions et périodicité

Le hurlement est un signal vocal de longue portée employé par les loups dans les communications à grandes distances (Joslin, 1967 ; Harrington & Mech, 1978). Il peut être émis en solo ou en chœur (voir **Figure 5**) dès l'âge d'un mois (Coscia et al. 1991 ; Harrington & Asa, 2003).

Les hurlements ont des fonctions sociales cruciales, à la fois au sein de la meute et entre les meutes (Joslin, 1967 ; Harrington & Mech, 1978, 1979 ; Tooze et al. 1990 ; Nowak et al. 2007). Au sein d'une meute, les hurlements produits aident à rassembler les individus (Harrington & Asa, 2003 ; Mech & Boitani, 2003 ; Nowak et al. 2007), à coordonner les activités sociales ainsi que les déplacements (Harrington & Mech, 1978). Ils participent également au maintien du

contact social entre les individus (Mazzini et al. 2013). Le hurlement permet aux congénères de transmettre des informations concernant leur localisation, leur identité ou encore leur statut émotionnel (Theberge & Falls, 1967 ; Tooze et al. 1990 ; Harrington & Asa, 2003 ; Zaccaroni et al. 2012). Aussi, les hurlements ont un rôle de marquage et de défense du territoire (Joslin, 1967 ; Harrington & Mech, 1978, 1979, 1983). Ils permettent en effet de minimiser les rencontres, bien souvent agressives, entre les individus de différentes meutes, surtout dans les zones de chevauchement des territoires (Joslin, 1967 ; Harrington & Mech, 1978, 1979, 1983 ; Mech & Boitani, 2003). Les membres d'une meute sont d'ailleurs capables de repérer la présence et l'intrusion d'individus étrangers sur leur territoire si des hurlements sont produits par ces derniers (Tooze et al. 1990).

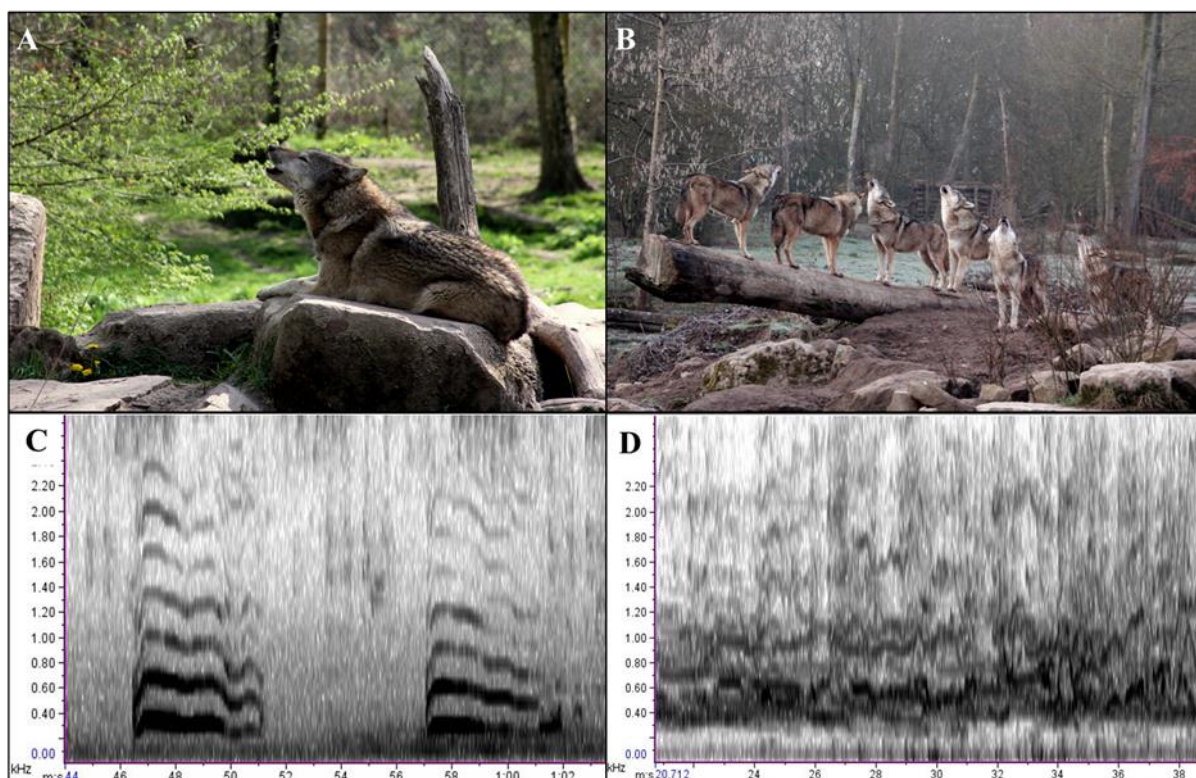


Figure 5 : Solo (A) et chorus (B) de loups gris (Parc Animalier de Sainte Croix - © M. PAPIN / CROC 2014 et 2016) et spectrogrammes associés (solo – C ; chorus – D).

Bien qu'ils soient émis tout au long de l'année, le nombre de hurlements produits par les loups ainsi que la durée des chorus sont plus importants durant la période de reproduction (janvier-février - Harrington & Mech, 1978 ; Servín, 2000) et au cours de l'été (juillet-août - Harrington & Mech, 1978, 1979, 1982, 1983 ; Gazzola et al. 2002 ; Nowak et al. 2007). L'activité vocale est également plus intense pendant la nuit, et plus particulièrement au crépuscule et à l'aube (Harrington & Mech, 1978 ; Gazzola et al. 2002).

2.3. Les méthodes de suivi

Les paragraphes suivants offrent un tour d’horizon non exhaustif des méthodes employées dans le monde pour le suivi du Loup gris.

2.3.1. *Indices de présence et analyses associées*

Le suivi du Loup en milieu naturel peut, en partie, être réalisé grâce à des observations directes des individus (Mech & Boitani, 2003 ; Bassi et al. 2015). Étant donné les caractéristiques biologiques et comportementales du Loup, cette méthode rudimentaire nécessite cependant de passer énormément de temps sur le terrain et ne permet pas d’obtenir toutes les informations nécessaires au suivi du canidé (Mech & Boitani, 2003). De plus, les témoignages d’observations restent difficiles à vérifier et/ou à confirmer.

Ainsi, d’autres méthodes, basées sur la récolte d’indices de présence par exemple, ont vu le jour afin de suivre le Loup gris de manière plus efficace (i.e. rapport surface échantillonnée/effort de prospection). La territorialité des meutes et le comportement de marquage des loups permettent aux scientifiques de récolter des indices biologiques sur le terrain (e.g. fèces, urine, poils, etc.). Ces indices permettent de détecter la présence des loups mais également de localiser le domaine vital des meutes (Heinemeyer et al. 2004 ; Llaneza et al. 2005, 2014 ; Blanco & Cortés, 2012 ; Duchamp et al. 2012 ; Jiménez et al. 2016). Ce type de suivi repose évidemment sur la mobilisation d’un réseau d’observateurs et de leurs compétences/expériences (Blanco & Cortés, 2012).

Les échantillons biologiques prélevés sur le terrain peuvent quant à eux faire l’objet d’analyses génétiques afin d’accéder à des informations sur la lignée, le sexe ou encore l’individu et par conséquent d’obtenir une estimation minimale du nombre de loups présents sur un territoire (Valière et al. 2003 ; Apollonio et al. 2004 ; Schwartz & Monfort, 2004 ; Randi, 2011 ; Stenglein et al. 2011 ; Duchamp et al. 2012 ; Bassi et al. 2015). Le comportement de dispersion peut également être étudié grâce au génotype des individus (i.e. modèle de « Capture-Marquage-Recapture » ; Schwartz & Monfort, 2004 ; Marboutin & Duchamp, 2005 ; Duchamp et al. 2012). Les facteurs les plus limitants pour ce type d’analyses restent cependant leur coût et la durée nécessaire à leur réalisation (Blanco & Cortés, 2012).

Une autre méthode communément employée pour attester de la présence du Loup et estimer le nombre de meutes ou d’individus minimum est le pistage hivernal (Duchamp et al. 2003, 2012 ; Fuller et al. 2003 ; Nowak et al. 2008 ; Latham et al. 2014 ; Bassi et al. 2015). Celui-ci consiste en la détection d’empreintes de loups laissées dans la neige. Cependant, les loups ont pour habitude de se déplacer « à la queue leu leu » (i.e. en file indienne), posant ainsi leurs pattes

dans les traces des loups précédents, ce qui rend le dénombrement difficile (Landry, 2004). Bien que l'étude de ces pistes soit largement utilisée, celle-ci repose sur la présence de neige, ce qui n'est pas prévisible ni systématique dans tous les pays où le Loup est présent (i.e. Espagne et Portugal ; Blanco & Cortés, 2012). Elle demande également beaucoup de temps passé sur le terrain et représente un risque de confusion avec le Chien domestique (Landry, 2004 ; Blanco & Cortés, 2012).

2.3.2. Le piégeage photographique

Bien que leur patron de coloration ne permette pas de distinguer les individus les uns des autres, l'utilisation de pièges photographiques est une autre façon de détecter la présence du Loup de manière non invasive. Positionnés à des endroits stratégiques, ces appareils de terrain permettent d'obtenir des données de présence fiables et objectives (Kays & Slauson, 2004 ; Šver et al. 2016). En plus de révéler la présence d'individus, les pièges photographiques peuvent aussi se révéler efficaces pour détecter la présence de meutes et suivre l'évolution de leur abondance (Šver et al. 2016). Cependant, la faible surface couverte par ce type d'appareil reste la plus grande limite de cette méthode (Blanco & Cortés, 2012 ; Šver et al. 2016).

2.3.3. La télémétrie

Équiper des loups de colliers GPS ou VHF permet principalement de suivre leurs déplacements, d'étudier l'utilisation du domaine vital, la taille de leur territoire ou encore de localiser les sites de rendez-vous (Jedrzejewski et al. 2001 ; Fuller et al. 2003 ; Burch et al. 2005 ; Ciucci et al. 2009 ; Iliopoulos et al. 2013 ; Latham et al. 2014). La télémétrie est la méthode de suivi la plus communément employée aux États-Unis (Fuller & Sampson, 1988 ; Burch et al. 2005). Cependant, bien qu'elle fournisse des informations très précises, cette méthode reste très invasive et ne permet le suivi que de quelques individus (Duchamp et al. 2012). Enfin, sans évoquer le coût du matériel, ce type de méthode reste complexe à mettre en œuvre puisqu'elle requiert au préalable la capture de loups puis leur suivi sur le terrain dans des milieux parfois extrêmement difficiles d'accès (Burch et al. 2005 ; Latham et al. 2014).

2.3.4. Hurlements provoqués

Une autre méthode, largement utilisée, est celle dite des « hurlements provoqués » (HP ; Harrington & Mech, 1982). Celle-ci repose sur le principe du playback (McGregor et al. 1992) et consiste en l'émission de hurlements d'hommes ou de loups afin que les loups présents dans la zone étudiée y répondent. Cette méthode permet alors aux observateurs de confirmer leur présence sur le territoire ciblé, d'éventuellement estimer le nombre d'individus entendus et/ou

encore de localiser grossièrement les sites de rendez-vous (Harrington & Mech, 1982 ; Harrington, 1986 ; Llana et al. 2005 ; Nowak et al. 2007, 2008 ; Blanco & Cortés, 2012 ; Duchamp et al. 2012 ; Bassi et al. 2015). Les HP pourraient également offrir la possibilité de détecter les événements de reproduction d'une meute en distinguant les vocalisations des louveteaux (Harrington, 1986 ; Duchamp et al. 2003 ; Sèbe et al. 2006 ; Nowak et al. 2007, 2008 ; Llana et al. 2014 ; Bassi et al. 2015). Cette méthode est généralement employée durant l'été jusqu'à l'automne, période durant laquelle les réponses des loups sont les plus importantes (Harrington & Mech, 1978, 1979, 1982, 1983 ; Gazzola et al. 2002 ; Nowak et al. 2007). De plus, pendant cette période, les individus restent à proximité des sites de rendez-vous pour élever les louveteaux dont les vocalisations peuvent encore être distinguées de celles des adultes (Harrington & Mech, 1982 ; Harrington 1986 ; Gazzola et al. 2002 ; Mech & Boitani, 2003 ; Packard, 2003 ; Sèbe et al. 2006 ; Nowak et al. 2007 ; Blanco & Cortés, 2012).

Toutefois, la possibilité d'estimer le nombre de loups ou de confirmer la présence de louveteaux grâce aux HP est au cœur d'un débat sur le plan méthodologique (Palacios et al. 2017 – voir **paragraphe 3**). Par ailleurs, le taux de réponses aux HP peut se révéler très faible (i.e. 5% - Leblond et al. 2017 ; 13 % - Joslin, 1967) et l'effet des HP sur le comportement des loups doit également être pris en compte (Harrington & Mech, 1983 ; Leblond et al. 2017). Puisque cette méthode ne permet pas de vérification visuelle, il existe également un risque de confusion entre les hurlements de chiens et de loups entendus (Fritts et al. 2003).

3. Les hurlements comme un outil de suivi ?

Ces trente dernières années, les hurlements du Loup gris ont fait l'objet d'études pour tenter de répondre à différents objectifs de suivi (dénombrement des meutes et des individus, localisation de la meute, identification des événements de reproduction, etc.). En effet, plusieurs auteurs, pionniers dans l'étude des loups en milieu naturel, assurent qu'avec des connaissances plus fines sur le hurlement, celui-ci pourrait être utilisé comme un outil de suivi naturel des loups (Harrington & Mech, 1978, 1982 ; Fuller & Sampson, 1988).

Des recherches (conduites en milieu naturel ou en captivité) ont ainsi été menées afin d'étudier la structure acoustique des hurlements composant les chorus et de mettre en évidence l'existence d'une signature vocale des meutes. Celle-ci permet de reconnaître ces meutes et de les suivre dans le temps et dans l'espace (Passilongo et al. 2010 ; Zaccaroni et al. 2012). D'autres études ont décelé la présence d'une signature vocale individuelle dans les hurlements de loups, permettant ainsi de compter, d'identifier, de reconnaître et de suivre les individus

(Passilongo et al. 2012 ; Root-Gutteridge et al. 2014a). La possibilité de détecter une meute et/ou la zone occupée par celle-ci à partir des hurlements produits par ses membres a également été étudiée (Joslin, 1967 ; Harrington & Mech, 1982 ; Fuller & Sampson, 1988 ; Llaneza et al. 2005 ; Ausband et al. 2011 ; Duchamp et al. 2012 ; Brennan et al. 2013 ; Root-Gutteridge et al. 2014b ; Bassi et al. 2015). L'analyse des hurlements produits par les loups permet par ailleurs de dénombrer les meutes (Passilongo et al. 2012) et d'étudier leurs mouvements (Joslin, 1967). Enfin, toujours dans l'objectif de suivre l'évolution de la population lupine, des études ont exploré la possibilité de dénombrer les loups (Filibeck et al. 1982 ; Harrington, 1989 ; Longis et al. 2004 ; Sèbe et al. 2004 ; Dugnot et al. 2007a, 2007b, 2008 ; Zaccaroni et al. 2012 ; Passilongo et al. 2015).

Comme vu précédemment (voir **paragraphe 2.3.4**), les événements de reproduction peuvent être détectés et le nombre d'individus estimé à partir des hurlements entendus (Harrington & Mech, 1982 ; Harrington, 1986 ; Duchamp et al. 2003, 2012 ; Longis et al. 2004 ; Nowak et al. 2007). Cependant, de récentes études révèlent que la détection des louveteaux et l'estimation du nombre de loups hurlant effectuées lors des campagnes de HP se révèlent difficiles lorsqu'elles sont réalisées « à l'oreille » directement sur le terrain mais aussi à cause de la complexité du chorus induite par les vocalisations des louveteaux (Harrington, 1975 ; Palacios et al. 2017). Le dénombrement à l'oreille semble ainsi être surestimé en présence de petites meutes (Harrington, 1989 ; Palacios et al. 2017) et limité à environ trois individus (Harrington, 1975, 1989 ; Harrington & Mech, 1982). De plus, en situation de vulnérabilité (i.e. effectif faible), les loups pourraient davantage moduler leurs hurlements afin que la meute paraisse plus grande qu'en réalité, on parle alors de la théorie de l'effet Beau Geste (Krebs, 1977) qui n'a cependant pas été démontrée (Harrington, 1989). Si cette théorie venait à être confirmée, cela impliquerait des risques de surestimation dans le cadre de dénombrement à l'oreille. Dans d'autres cas, au contraire, les effectifs peuvent être sous-estimés. Les individus subordonnés peuvent par exemple ne pas hurler ou certains membres peuvent être momentanément séparés de la meute. Ces individus ne seront donc pas comptabilisés (Harrington & Mech, 1979, 1982). Pour terminer, la méthode des HP s'avère assez inefficace pour les loups seuls et/ou en dispersion qui seraient moins enclin à émettre des hurlements (Harrington & Mech, 1979).

Compte tenu de ces erreurs d'estimation possibles, la méthode des HP n'est conseillée que pour des petites surfaces à échantillonner (Fuller & Sampson, 1988 ; Llaneza et al. 2005 ; Blanco & Cortés, 2012). De plus, une optimisation du protocole peut être entreprise grâce à la sélection de sites de HP prenant en considération la configuration du paysage, les conditions

environnementales (en particulier météorologiques) et les indices de présence recueillis à proximité (Llaneza et al. 2005 ; Ausband et al. 2010 ; Jiménez et al. 2016).

Enfin, à ce jour et à notre connaissance, seule l'équipe de Suter et al. (2016) a exploré le potentiel des enregistreurs autonomes dans le but de détecter une meute de manière passive en milieu naturel. Leurs résultats suggèrent que ces outils, non invasifs, sont particulièrement intéressants pour le suivi du Loup gris et confirment que la bioacoustique passive est une discipline à approfondir pour le suivi de cette espèce discrète.

4. Problématique et objectifs de la thèse

Cette introduction, accompagnée des études citées, a mis en évidence le potentiel et les avantages de la bioacoustique pour répondre à des questions relatives au suivi d'espèces discrètes produisant des signaux acoustiques. Actuellement, les méthodes traditionnellement employées pour le suivi de ces espèces peuvent s'avérer longues, onéreuses ou encore très intrusives. De plus, l'émergence de nouveaux dispositifs d'enregistrement passifs, tels que les enregistreurs autonomes, et de nouvelles méthodes d'analyses acoustiques ont récemment participé au développement d'études dans ce domaine de recherche.

Étant donné qu'il s'agit d'une espèce discrète vivant sur de vastes territoires, le suivi du Loup gris reste un véritable challenge. Même si plusieurs méthodes sont couramment employées de manière complémentaire, celles-ci laissent néanmoins apparaître quelques limites. Or, les études menées jusqu'à présent sur ses vocalisations ont mis en évidence le réel potentiel de la bioacoustique pour son suivi. Plus particulièrement, les informations contenues dans les hurlements que les loups produisent, seuls ou en meute, constituent une base intéressante pour concevoir de nouvelles méthodes de suivi.

C'est dans ce contexte que la présente thèse a vu le jour. Compte tenu des nombreuses possibilités qu'offrent les suivis acoustiques et le potentiel lié à l'étude des hurlements de loups, l'objectif a été de développer de nouvelles méthodes de suivi acoustiques complémentaires à celles traditionnellement employées. La recherche de méthodes innovantes, fiables et passives a pour but final d'aboutir à un meilleur suivi de l'espèce et à une meilleure évaluation de son statut de conservation.

Le travail réalisé a concilié phases de terrain, menées en milieu naturel et en captivité, principalement dans le Nord-Est de la France, ainsi que phases d'analyses acoustiques, statistiques et cartographiques. Des enregistreurs autonomes ont été utilisés dans l'objectif d'optimiser l'échantillonnage spatial pour favoriser la détection de hurlements de loups d'une

part, et d'autre part, de localiser les individus de manière passive. L'utilisation d'indices de diversité acoustique a par ailleurs été testée afin d'estimer l'effectif des meutes. Ces trois axes de recherche, font chacun l'objet d'un chapitre, rédigé sous forme de publication scientifique.

4.1. Détection passive des loups à l'aide d'enregistreurs autonomes

Étant donné la dynamique de recolonisation du Loup gris, la détection de nouveaux individus ou de nouvelles meutes s'avère particulièrement intéressante pour le suivi de son aire de répartition. L'utilisation des réseaux d'enregistreurs est de plus en plus répandue et pourrait utilement être appliquée dans cette perspective. Cependant, l'échantillonnage d'une vaste zone d'étude à l'aide d'un tel réseau soulève de nombreuses questions d'ordre méthodologique. Ainsi, le premier chapitre de ce manuscrit vise à optimiser l'échantillonnage spatial pour la détection du Loup à l'aide d'un réseau d'enregistreurs autonomes. Grâce à la combinaison d'analyses acoustiques, statistiques et cartographiques, la probabilité de détection des hurlements a été modélisée et cartographiée, puis a servi pour l'estimation de la surface réellement couverte par les enregistreurs autonomes. Une méthode a alors été proposée pour définir de nouveaux sites d'enregistrement et maximiser ainsi la probabilité de détection de hurlements.

➡ Le **Chapitre 1** fera l'objet d'une publication scientifique à l'issue de la thèse.

4.2. Localisation acoustique des individus

Même si la présence du Loup est détectée (**Chapitre 1**), compte tenu du vaste territoire qu'il occupe, localiser les individus permettrait d'intensifier les efforts de prospection dans ces zones restreintes (estimation de la localisation) puis d'affiner le suivi du Loup grâce à l'emploi d'autres méthodes. Le deuxième chapitre de ce manuscrit a ainsi examiné la possibilité de localiser les loups, sur des vastes superficies, grâce à l'enregistrement de leurs hurlements par des enregistreurs autonomes dans des milieux naturels contrastés. Les paramètres pouvant influencer la précision de la localisation ont été pris en compte de manière à pouvoir utiliser la localisation acoustique comme une méthode de suivi passif du Loup gris.

➡ Le **Chapitre 2** a été publié en début d'année 2018 dans la revue *Frontiers in Zoology*.

4.3. Vers une estimation de l'effectif des meutes ?

Une fois la présence du Loup détectée (**Chapitre 1**) et la meute localisée (**Chapitre 2**), une question reste en suspens : celle de l'estimation des effectifs. Le troisième et dernier chapitre de cette thèse a donc porté sur la possibilité d'utiliser des indices de diversité acoustique pour estimer l'effectif des meutes à partir de leurs hurlements. Plusieurs biais pouvant être rencontrés lors d'enregistrements réalisés en milieu naturel et susceptibles d'influencer l'estimation du nombre d'individus ont été explorés. Cette méthode non intrusive permettrait de suivre l'évolution de la population lupine sur le long terme de manière neutre et objective.

➡ Le **Chapitre 3** fait l'objet d'une publication scientifique en cours de soumission.



CHAPITRE 1

Optimisation de l'échantillonnage spatial pour la détection passive du Loup gris à l'aide d'un réseau d'enregistreurs autonomes

Chapitre 1 : Optimisation de l'échantillonnage spatial pour la détection passive du Loup gris à l'aide d'un réseau d'enregistreurs autonomes

Morgane PAPIN^{1,2}, Julian PICHENOT³, François GUÉROLD² & Estelle GERMAIN^{1*}

¹ Centre de Recherche et d'Observation sur les Carnivores (CROC), 4 rue de la banie, 57590 Lucy, France

² Université de Lorraine, CNRS, Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux, F-57000 Metz, France

³ Biologiste Écologue Consultant (BEC), 8A rue principale, 57590 Fonteny, France

Abstract

The development of new recording and acoustic analysis tools has constantly increased over the last years. Many monitoring methods based on the use of acoustics have thus emerged, making it possible to detect the presence of elusive species, to estimate their abundance or to localize individuals. Sampling methods are crucial for setting up an acoustic monitoring. Thus, in order to optimize the results obtained during these surveys, the detection probability of sounds produced by the studied species must be known as well as the detection space of the recorders.

Microphone array is a passive tool that is particularly useful for acoustic monitoring of rare or elusive species producing sounds, such as the Grey wolf (*Canis lupus*). Indeed, howls are beginning to be used to monitor the evolution of its populations (size estimation, reproduction events detection, etc.) and to study its biology (movements, behavior, etc.). As in other countries where the species is present, the monitoring of wolves in France is complex because of its discreet habits and also because it occupies large territories and lives at low densities. Studying the evolution of its populations requires a sustained effort of field surveys to collect occurrence data of wolves. Nowadays, detecting the presence as well as the establishment of new wolf packs are among the monitoring issues of this species, especially on colonization fronts.

In this context, the present study was conducted in north-eastern France, in two study areas of 30 km² with contrasting natural environments (mid-mountain and lowland environments), where the presence of the Grey wolf has been attested. In each study area, 20 autonomous recorders were placed according to a systematic sampling grid. A sound with similar acoustic properties to wolf howls was created. This synthetic sound was broadcasted from 60 sites over

three consecutive nights for both study areas. The propagation of each broadcasts was then modeled by considering the characteristics of the natural environments (topography and vegetation) and the sound source (frequency and intensity). A generalized mixed model was used to predict the detection probability of the synthetic sound in both study areas, in order to obtain a map of these predictions. Then, by combining acoustic, statistical and cartographic analysis, the *effective detection space* of autonomous recorders (i.e. surface whose sound detection probability is greater than 0.5 within a radius of 2 km around recorders) was estimated. Finally, a standardized approach, based on these results, is proposed to optimize the spatial sampling of study areas (i.e. choice of recording sites) for the detection of wolf howls. Differences between the two study areas were obtained in terms of the effectiveness of sound detection. Furthermore, nearly 70% of broadcasts were detected by at least one autonomous recorder in mid-mountain environment and more than 80% in lowland environment. Moreover, the synthetic sound was detected by recorders located at more than 2.7 km from the broadcast site in mid-mountain and more than 3.5 km in lowland. These results confirm the real potential of autonomous recorders for the Grey wolf passive monitoring at large scales. Predictions obtained using the generalized mixed model were used to calculate surface area concerned by a high to very high detection probability (i.e. greater than 0.5) in both study areas. In the mid-mountain area, this detection probability covered 5.72 km², compared with 21.43 km² in lowland area. Finally, in lowland environment, the *effective area ratio* of recorders (ratio of the area concerned by a sound detection probability greater than 0.5 and the theoretical maximum area covered by a recorder in the study area) was $71.24 \pm 18.34\%$ (mean $\pm$ standard deviation [SD]), compared with $19.19 \pm 5.23\%$ (mean $\pm$ SD) in mid-mountain environment. These results highlight the effect of landscape, more particularly the topography, on the synthetic sound propagation as well as its detection. Based on this approach, 20 new recording sites were defined to maximize the spatial coverage of recorders in both study areas.

Results obtained in this study and associated recommendations contribute to the improvement of acoustic monitoring methods for the Grey wolf, by using autonomous recorders. Thanks to the synthetic sound detection probability modeled and the estimation of the effective detection space of recorders, it was possible to optimize spatial sampling strategy in both study areas (i.e. objective choice of recording sites). This method also allows to measure the spatial coverage of an array of microphone in a study area for Grey wolf monitoring. It could be therefore generalized for the passive acoustic monitoring of other species, and thus, contribute to a knowledge improvement about their ecology.

Keywords: microphone array, *Canis lupus*, detection spaces, passive acoustic monitoring, sound propagation

1. Introduction

Les avancées technologiques en bioacoustique (e.g. enregistreurs autonomes) permettent aujourd'hui de suivre et d'étudier les espèces produisant des sons. En effet, ces outils de suivi passifs, sont de plus en plus utilisés pour la détection des individus et/ou des espèces (Heupel et al. 2006 ; Farina et al. 2013 ; Marques et al. 2013 ; Spillman et al. 2015 ; Suter et al. 2016), la localisation acoustique (Mennill et al. 2006, 2012 ; Spillman et al. 2015 ; Kalan et al. 2016 ; Papin et al. 2018), le suivi spatial des populations animales (Mennill et al. 2012 ; Rodriguez et al. 2014 ; Ulloa et al. 2016) ou encore pour l'évaluation de la biodiversité (Sueur et al. 2012 ; Digby et al. 2013 ; Gasc et al. 2013 ; Lellouch et al. 2014 ; Fairbrass et al. 2017). Les enregistreurs autonomes présentent l'avantage d'acquérir des données de manière passive sur de longues périodes et sur de vastes superficies (Wimmer et al. 2010 ; Bradbury & Vehrencamp, 2011 ; Mennill et al. 2012 ; Frommolt & Tauchert, 2014).

Bien que les enregistreurs autonomes soient de plus en plus utilisés, l'échantillonnage acoustique d'une zone d'étude pour le suivi de la faune sauvage n'est pas chose aisée. En effet, durant sa propagation, le signal sonore émis connaît une perte d'énergie (i.e. une diminution de l'intensité) via plusieurs mécanismes (étalement sphérique dû à la distance, absorption atmosphérique, absorption due au feuillage et à la couverture du sol – Wiley & Richards, 1978 ; Richards & Wiley, 1980 ; Obrist et al. 2010). De plus, l'identification et l'étude des signaux acoustiques peuvent être affectées par les propriétés du milieu de propagation (conditions climatiques locales et ambiance sonore) et les caractéristiques de la source sonore (fréquence et intensité - Wiley & Richards 1978, 1982 ; Harrison et al. 1980 ; Richards & Wiley, 1980 ; Lameira & Wich, 2008 ; Bradbury & Vehrencamp, 2011 ; Darras et al. 2016). La détection d'un signal par un enregistreur (signal enregistré par le dispositif) ou un observateur (signal détecté dans les enregistrements) dépend donc de deux paramètres : l'espace actif du signal émis (e.g. distance depuis la source sonore pour laquelle l'intensité du signal émis reste supérieur au seuil de détection des récepteurs - Brenowitz, 1982) d'une part et d'autre part, l'espace de détection du récepteur (i.e. surface ou volume échantillonné par des récepteurs - Obrist et al. 2010 ; Llusia et al. 2011 ; Darras et al. 2016).

Aujourd'hui, l'intégration de données issues de suivis acoustiques dans des modèles spatiaux permet la production de cartes sonores des habitats acoustiques (Merchant et al. 2015). Les

outils et les modèles développés sont de plus en plus performants. Ils permettent notamment d'intégrer de nombreux facteurs pouvant influencer la propagation des signaux étudiés (e.g. facteurs environnementaux, caractéristiques de la source sonore, etc.). Des études combinant les analyses acoustiques et la modélisation informatique sur Système d'Information Géographique (SIG) ont par exemple été menées dans le but d'étudier l'impact du bruit anthropique dans des zones d'activités de plein air (Harrison et al. 1980) ou encore pour évaluer l'efficacité des systèmes de prévention des tornades (Matthews et al. 2017). Cependant, alors que ces outils existent pour cartographier l'espace actif du signal émis (e.g. Reed et al. 2012 ; Job et al. 2016 ; Keyel et al. 2017) il n'existe pas, à notre connaissance, d'équivalent accessible pour une prise en compte de l'espace de détection des enregistreurs. Une telle approche pourrait pourtant se révéler intéressante pour optimiser la détection d'espèces rares et discrètes dans le cadre des suivis acoustiques passifs.

De nature discrète, le Loup gris (*Canis lupus*) a la particularité de vivre sur de vastes territoires et présente de grandes capacités de dispersion ainsi qu'une forte plasticité (Mech & Boitani, 2003 ; Ciucci et al. 2009). En raison de ses mœurs discrètes (Fritts et al. 2003), le suivi des populations de cette espèce, qui est depuis quelques décennies en pleine expansion (Boitani, 2003 ; Chapron et al. 2014), représente un enjeu de taille, en particulier sur les fronts de colonisation. En effet, détecter rapidement la présence d'individus, l'installation de meutes ou encore l'occurrence d'événements de reproduction sur de nouveaux territoires contribuerait à l'amélioration des connaissances. De manière générale, cela pourrait aussi aider à la mise en place plus réactive de mesures visant à réduire les conflits en lien avec certaines activités humaines comme l'élevage (Rigg et al. 2011 ; Mech, 2017).

Le Loup utilise un moyen de communication acoustique de longue portée très caractéristique, le hurlement (Joslin, 1967 ; Harrington & Mech, 1978), qui s'avère être un véritable atout pour son suivi. En effet, certaines recherches ont exploré la possibilité d'identifier et de suivre les individus grâce à leur signature vocale individuelle (Tooze et al. 1990 ; Palacios et al. 2007 ; Root-Gutteridge et al. 2014), d'identifier les événements de reproduction (Longis et al. 2004 ; Sèbe et al. 2004 ; Palacios et al. 2016) mais aussi de dénombrer les loups à partir de leurs hurlements (Filibeck et al. 1982 ; Harrington, 1989 ; Longis et al. 2004 ; Sèbe et al. 2004 ; Zaccaroni et al. 2012 ; Passilongo et al. 2015). Certaines études montrent par ailleurs que les hurlements peuvent être entendus et/ou enregistrés jusqu'à 2 km en milieu forestier (Harrington & Mech, 1982 ; Fuller & Sampson, 1988 ; Nowak et al. 2007 ; Ausband et al. 2011 ; Suter et al. 2016) et jusqu'à 10 km en milieu ouvert (Harrington & Mech, 1978). Elles révèlent également que le rayon moyen de détection de l'observateur et/ou de l'enregistreur (i.e. espace

de détection), peut varier en fonction de la topographie, de la végétation et de l'ambiance sonore (i.e. bruit ambiant). Ces paramètres peuvent effectivement provoquer une dégradation des caractéristiques acoustiques des hurlements à partir de 100 m de distance par rapport au point d'émission (Ausband et al. 2011).

Dans ce contexte, une étude expérimentale a été menée dans le Nord-Est de la France en moyenne montagne et en plaine, afin de simuler la probabilité de détection de hurlements de loups, en fonction de paramètres paysagers et de l'ambiance sonore. Le potentiel des enregistreurs autonomes pour détecter la présence du Loup gris a ainsi pu être évalué. L'objectif final a été de développer une méthode, combinant les analyses acoustiques, cartographiques et statistiques, pour optimiser l'échantillonnage spatiale d'une zone d'étude (i.e. choix des sites d'enregistrement). Pour ce faire, un réseau d'enregistreurs autonomes a été mis en place sur les deux zones d'étude puis, un son synthétique, ayant des propriétés acoustiques similaires aux hurlements de loups, a été émis depuis 60 sites durant trois nuits consécutives. La propagation de chaque émission sonore a ensuite été modélisée en tenant compte des caractéristiques du paysage (topographie et végétation) et de la source sonore (fréquence et intensité). Un modèle mixte généralisé a été utilisé afin de prédire la probabilité de détection du son synthétique sur l'ensemble de ces deux zones d'étude, dans le but d'obtenir une cartographie de ces prédictions. Puis, à partir de ces prédictions, l'espace de détection efficace des enregistreurs autonomes (i.e. surface dont la probabilité de détection du son est supérieure à 0.5 dans un rayon correspondant à la distance maximale théorique estimée pour la propagation du son synthétique) a été estimé. Enfin, une démarche standardisée a été proposée pour choisir la localisation optimale des enregistreurs pour la détection des hurlements de loups dans les deux zones d'étude. Finalement, des recommandations ont été formulées pour guider les gestionnaires dans la mise en place de méthodes de suivi du Loup gris qui pourraient être adaptées à d'autres espèces terrestres.

2. Matériels et méthodes

Plusieurs étapes, schématisées en **Figure 1**, ont été nécessaires pour développer une méthode d'échantillonnage acoustique permettant d'estimer l'espace de détection efficace d'enregistreurs autonomes (voir définition **paragraphe 2.9**) pour ensuite proposer d'optimiser spatialement leur emplacement pour de futurs suivis. Une phase de terrain a tout d'abord permis d'acquérir des données acoustiques et météorologiques utilisées par la suite pour réaliser des modélisations cartographiques de la propagation du son synthétique. Les résultats et données

issus de ces modélisations ont ensuite été inclus dans un modèle statistique. Ce dernier a permis de prédire la probabilité de détection du son sur l'ensemble des deux zones d'étude puis d'estimer l'espace de détection efficace de chaque enregistreur autonome. La dernière étape a alors permis de définir des localisations optimales pour poser les enregistreurs à l'avenir.

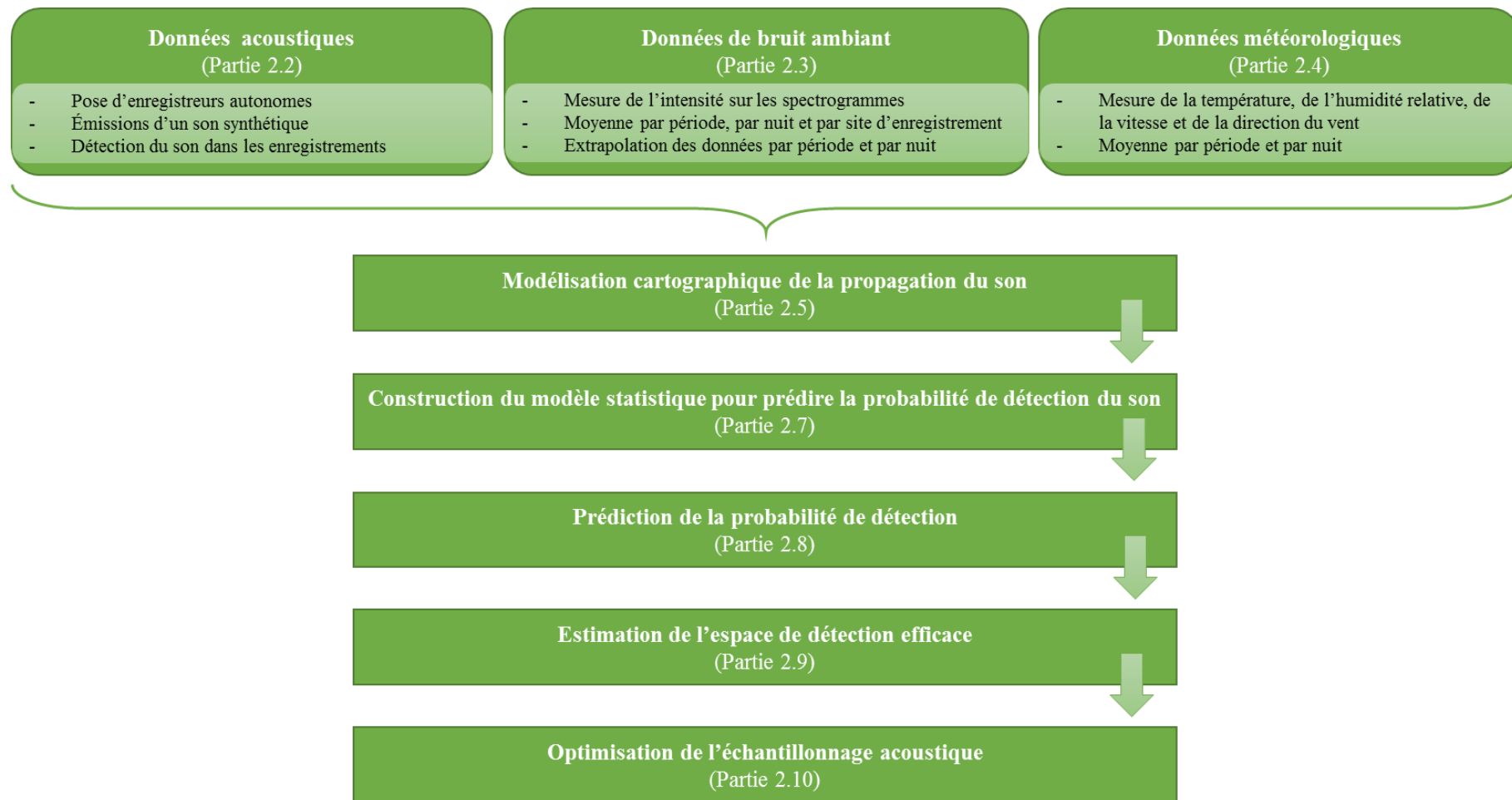


Figure 1 : Présentation synthétique de l'approche proposée pour l'optimisation de l'échantillonnage spatial à l'aide d'un réseau d'enregistreurs autonomes.

2.1. Zones d'étude

Deux zones d'étude de 30 km² (6 km Est-Ouest ; 5 km Nord-Sud), situées sur le front de colonisation du Loup gris (L'équipe animatrice du réseau, 2012, 2017 ; Laurent, 2014a, b) et dans des contextes environnementaux différents (voir **Figure 2 A**), ont été choisies : le Massif des Vosges (VM – milieu de moyenne montagne) et les Côtes de Meuse (CM – milieu de plaine).

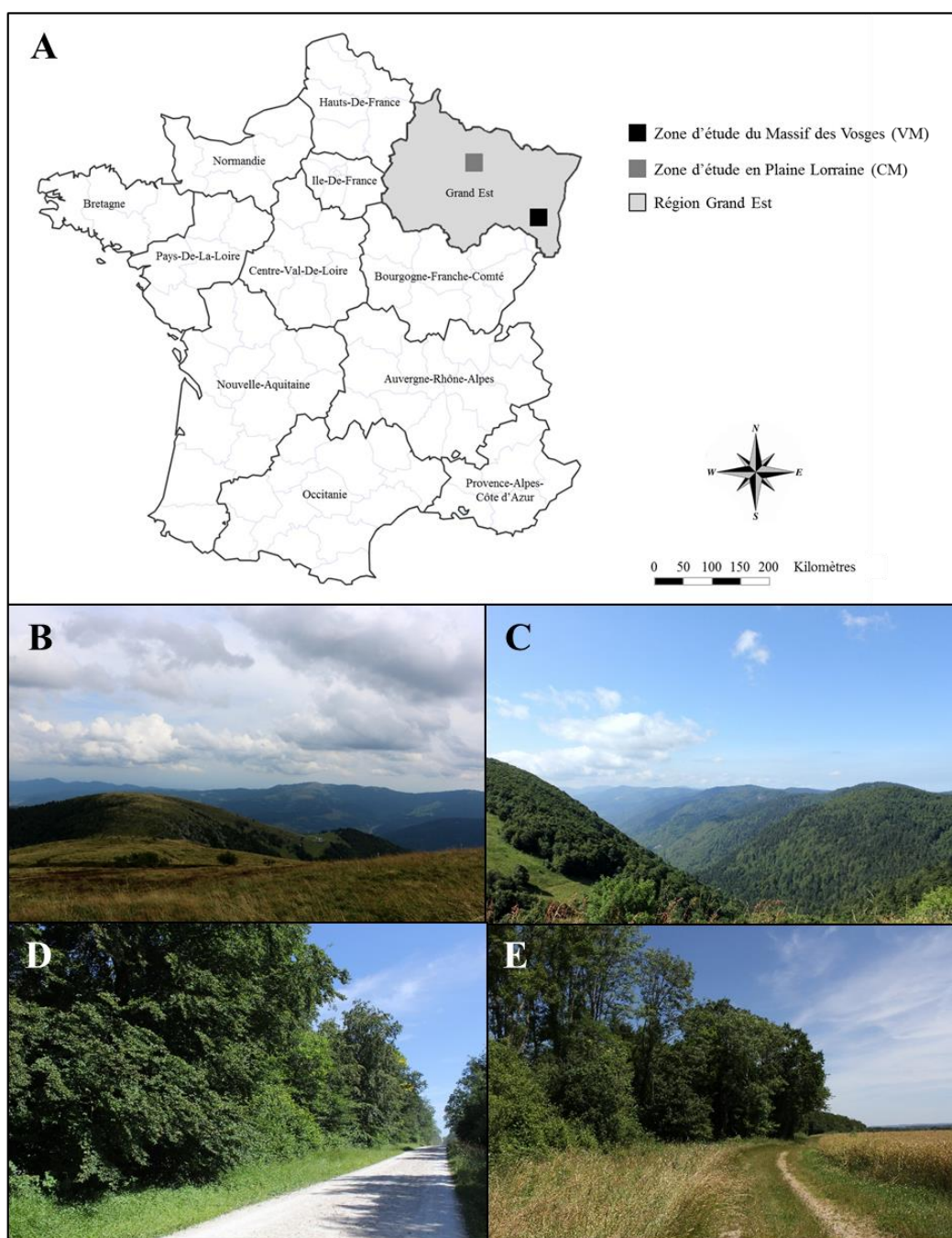


Figure 2 : Zones d'étude situées dans le Nord-Est de la France (A), dans le Massif des Vosges (VM – B et C - © M. PAPIN / CROC 2015) et en Plaine Lorraine (CM – D et E - © M. PAPIN / CROC 2016).

La zone d'étude VM se situe au cœur du Massif des Vosges, à cheval entre la Lorraine (département des Vosges) et l'Alsace (département du Haut-Rhin). Le paysage y est diversifié et représentatif des Hautes-Vosges (voir **Figure 2 B** et **C**). Il se caractérise en effet par une occupation des sols diversifiée, composée de milieux fermés (forêts composées majoritairement de sapins et de hêtres), alternant avec des milieux ouverts comme les chaumes sur les crêtes. La topographie y est aussi variée avec une altitude comprise entre 518 m et 1 305 m (sommet du Rothenbachkopf), pour une altitude moyenne de 930 m.

La zone d'étude CM se situe quant à elle sur les Côtes de Meuse, en plaine Lorraine (département de la Meuse). La topographie est représentative d'un milieu de plaine avec une altitude comprise entre 247 et 381 m (moyenne : 329 m). L'occupation des sols est majoritairement dominée par les forêts de feuillus mais se compose également de quelques parcelles de milieux ouverts à la végétation herbacée, principalement sur la périphérie de la zone d'étude (voir **Figure 2 D** et **E**).

Ces deux zones d'étude ont fait l'objet d'un travail de terrain conduit à l'occasion de deux sessions : la première en août 2015 en VM et la seconde en août 2016 en CM.

2.2. Acquisition des données acoustiques

Afin d'estimer la probabilité de détection de hurlements de loups par des enregistreurs autonomes, des données acoustiques ont été collectées sur le terrain dans différents contextes paysagers. Un échantillonnage a été réalisé sur la base de l'émission d'un son synthétique aux propriétés acoustiques similaires à celles des hurlements de loups et d'un réseau d'enregistreurs autonomes (voir **Figure 3**).

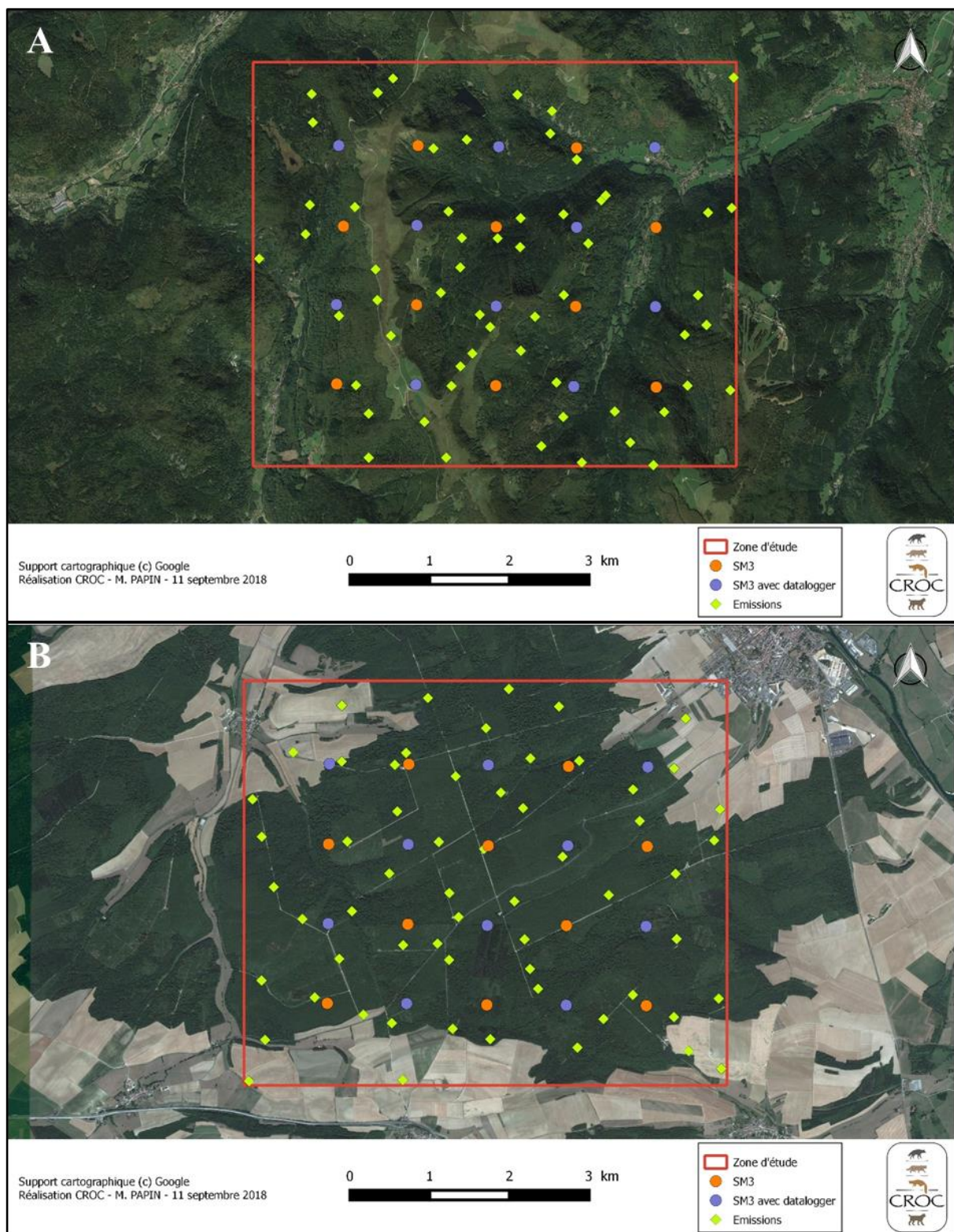


Figure 3 : Cartographies avec vue aérienne de l'échantillonnage mis en place en milieu de moyenne montagne (VM - **A**) et de plaine (CM - **B**).

2.2.1. Mise en place du réseau d'enregistreurs autonomes

Au total, 20 enregistreurs autonomes (modèle : SM3 ; Wildlife Acoustics Inc., Concord, MA, USA) munis de deux micros omnidirectionnels (SM3-A1, bande passante : 20–20 000 Hz, réponse en fréquence : 20–20 000 Hz $\pm$ 10 dB) ont été répartis sur chaque zone d'étude selon un échantillonnage systématique, à 1 km de distance les uns des autres (voir **Figure 3**).

Les enregistreurs autonomes ont été fixés aux arbres à une hauteur de 2.88 ± 0.49 m (moyenne $\pm$ SD – voir **Figure 4**) et programmés pour fonctionner de 20h55 à 8h54 (fichiers stéréo, .wav, 16 bit, fréquence d'échantillonnage : 16 000 Hz).



Figure 4 : Mise en place d'un enregistreur autonome de type SM3 (A) et enregistreur posé dans le Massif des Vosges (B) (© CROC 2015).

Les coordonnées spatiales de tous les sites d'enregistrement ont également été acquises par GPS (modèle : Juno 5B EGPS, précision en temps réel : 2–4 m ; Trimble Navigation Limited, Sunnyvale, CA, SA).

2.2.2. Création d'un son synthétique

Pour des raisons scientifiques (i.e. contrôle des caractéristiques acoustiques du signal émis) et sociales (i.e. sujet du Loup sensible - Rigg et al. 2011), le signal émis était un son synthétique aux propriétés acoustiques similaires à celles des hurlements de loups (Harrington & Mech, 1979 ; Harrington & Asa, 2003). Il s'agissait d'un assemblage de huit sons non modulés, composés de fréquences comprises entre 300 et 1 000 Hz et chacun étant accompagné de quatre

harmoniques (voir **Figure 5**). Le son synthétique a été créé à l'aide du package Seewave (Sueur et al. 2008) sur le logiciel R (version 3.1.2 - R Development Core Team, 2014).

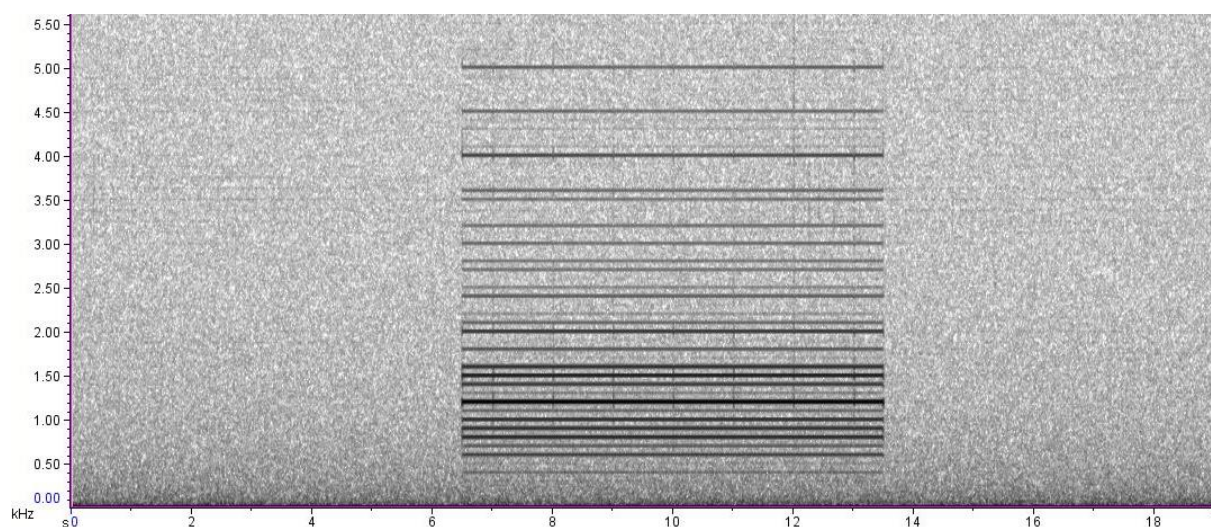


Figure 5 : Spectrogramme du son synthétique créé pour simuler l'émission de hurlements de loups, ici enregistré par un enregistreur autonome situé à 100 m de la source (logiciel Raven Pro - version 1.5 – Charif et al. 2010 ; paramètres d'affichage : Hann, 1 024 samples, 90% overlap).

2.2.3. Sites et dispositif d'émission

Soixante sites d'émission du son synthétique ont été répartis sur chaque zone d'étude selon un échantillonnage aléatoire stratifié proportionnel, en fonction du relief (Indice de Position Topographique 'TPI' - '*Topographical Position Index*' - De Reu et al. 2013) et de l'occupation du sol (typologie Corine Land Cover ; Union européenne - SoeS, Corine Land Cover, 2006). Des zones tampons de 500 m autour des habitations et des zones naturelles sensibles ont été prises en compte dans l'échantillonnage afin de limiter l'éventuel dérangement lié aux émissions sonores durant ces expérimentations. Les sites d'émission situés à l'écart de routes ou de chemins carrossables, ont ensuite été légèrement déplacés pour permettre un accès en véhicule (voir **Figure 3**). L'échantillonnage spatial des sites d'émission, en termes de distances par rapport aux enregistreurs autonomes, était similaire dans les deux zones d'étude (test z: $z = -1.8180$, $\alpha = 0.05$).

Lors de chaque session de terrain, le son a été émis durant trois nuits consécutives permettant ainsi de visiter les sites d'émission à des périodes différentes, grâce à un parcours adapté : 21h-0h (i.e. crépuscule), 0h-3h (i.e. nuit), 3h-6h (i.e. aube). Les coordonnées des sites d'émission ont été acquises par GPS (voir **Figure 6**). Le son a été émis à l'aide de 4 haut-parleurs (modèle : MSH 30/BT, bande passante : 90–20 000 Hz, sortie : 50 W à 8 Ω ; Work Pro CA, Valence, Espagne) fixés sur le toit du véhicule et d'un amplificateur (modèle: PA 90/2 USB, réponse en

fréquence : 80–18 000 Hz $\pm$ 3 dB ; sortie: 30 W RMS ; Work Pro CA) alimenté par une batterie 12V. L'intensité sonore a été contrôlée avec un sonomètre (modèle : FI 70SD, bande passante : 31.5–8 000 Hz, réponse en fréquence : 8 000 Hz $\pm$ 5.6 dB, paramétrages : fast response, A-weighting ; Distrame S.A, Sainte-Savine, France) et était en moyenne de 115.04 $\pm$ 3.07 dBA (moyenne $\pm$ SD) en VM et de 116.53 $\pm$ 3.59 dBA (moyenne $\pm$ SD) en CM (voir **Figure 6**).



Figure 6 : Émission du son synthétique à l'aide de haut-parleurs et prises de mesures (point GPS, intensité sonore - **A**) et dispositif d'émission sonore fixé au toit du véhicule de terrain (**B**) (© CROC 2015).

2.3. Acquisition des données de bruit ambiant

Comme le bruit ambiant est susceptible d'affecter le rapport signal/bruit et donc d'empêcher ou de réduire la détection du son synthétique, des données ont été acquises par période à partir des spectrogrammes des enregistrements réalisés sur le terrain.

Ainsi, l'intensité (en dB) du bruit ambiant sur chaque site d'enregistrement durant chacune des émissions a été mesurée à partir des spectrogrammes générés par le logiciel Raven Pro (version 1.5 – Charif et al. 2010 ; paramétrages d'affichage du spectrogramme : Hann, 1 024 samples, 90% overlap - Average Power). La mesure a été réalisée sur une sélection de 6 s entre 282 et 1 122 Hz, soit sur les 7 tiers de bandes d'octaves concernés par les fréquences fondamentales du son synthétique. Ces valeurs d'intensité sonore ont ensuite été moyennées par période (3 périodes / nuit) et par site d'enregistrement (i.e. 20 sites).

Sous SIG (logiciel ArcGIS - version 10.4 – ESRI, 2016), ces valeurs moyennes d'intensité de bruit ambiant ont ensuite été extrapolées par krigeage², permettant ainsi d'obtenir une carte de bruit ambiant par période sur l'ensemble des deux zones d'étude. L'intensité du bruit ambiant dans les cellules correspondant aux sites d'enregistrement (*'Bruit_Période_SM3'* - en dB) a été

² Technique géostatistique basée sur des modèles statistiques ayant la capacité de produire une surface de prévision.

extraite pour construire le modèle de probabilité de détection (voir **paragraphe 2.7**) et les valeurs dans les autres cellules ont ensuite été utilisées pour l'extrapolation globale des résultats de ce modèle à l'échelle des zones d'étude (voir **paragraphe 2.8**).

2.4. Acquisition des données météorologiques

Les conditions météorologiques dans lesquelles ont eu lieu les émissions sonores peuvent aussi avoir un effet sur leur propagation (Wiley & Richards, 1978, 1982 ; Harrison et al. 1980 ; Richards & Wiley, 1980). La mesure de certains paramètres comme la température et l'humidité de l'air ou encore la vitesse et la direction du vent, est donc nécessaire. Grâce à 10 dataloggers (modèle : DT-174B ; Center for Educational Measurement Inc., Makati, Philippines), positionnés en-dessous de 10 enregistreurs autonomes répartis sur chaque zone d'étude, la température et l'humidité relative de l'air ont été mesurées de manière continue au cours des sessions de terrain (voir **Figure 3**). La vitesse et la direction du vent (mesures faites à 10 m de hauteur) ont quant à elles été obtenues grâce aux données collectées par des stations météo situées à proximité de chacune des deux zones d'étude. Pour VM, la station météo la plus proche se situait à Markstein, à ± 7 km de son barycentre (altitude de la station : 1 184 m). Pour CM, la station météo se trouvait à Loxéville, à ± 11 km de son barycentre (altitude de la station : 313 m).

2.5. Modélisation cartographique de la propagation du son

La modélisation cartographique de la propagation du son a été effectuée à l'aide du logiciel ArcGIS (version 10.4 – ESRI, 2016) accompagné de Python (version 2.7) ainsi que des extensions Spatial Analyst et Sound Mapping Tools (version 4.4.1 - Keyel et al. 2017). Chaque zone d'étude a été découpée selon un maillage composé de 34 510 cellules de 30 mètres de côté, correspondant à une superficie totale de 31.06 km². La propagation du son depuis les 60 sites d'émission, dans les deux zones d'étude et au cours des trois nuits, a été modélisée avec l'outil SPreAD-GIS (*'System for the Prediction of Acoustic Detectability'*), initialement développé pour modéliser la propagation d'un bruit (e.g. sons anthropiques tels que les bruits de moteurs) dans un environnement, en tenant compte de différents paramètres (caractéristiques de la source sonore, topographie, végétation, météorologie, ambiance sonore – Harrison et al. 1980 ; Reed et al. 2010 ; Keyel et al. 2017). Les paramètres utilisés et renseignés pour réaliser ces modélisations sont présentés dans le **Tableau 1**. Concernant les conditions météorologiques à inclure dans la démarche de modélisation, les données de température et d'humidité relative

de l'air ainsi que la vitesse du vent ont été moyennées pour chaque zone d'étude par période et par nuit. Pour la direction du vent, plutôt qu'une moyenne, une tendance (i.e. choix d'une direction globale du vent selon les différentes valeurs d'angle recueillies toutes les heures par la station météo) a été déterminée pour chacune des périodes.

Tableau 1 : Paramètres et informations saisis dans SPreAD-GIS afin de modéliser la propagation de chaque émission du son synthétique.

Paramètres	Informations
Coordonnées du site d'émission	X, Y (UTM-1983-12N)
Intensité du son synthétique	Average Power (dB) du signal par tiers de bandes d'octaves (6 s ; 282-1 122 Hz)
Couverture végétale	Typologie Corine Land Cover (European Union – SoeS, Corine Land Cover 2006) convertie en SPREADTYPE (Reed et al. 2010 ; Keyel et al. 2017) Résolution (taille de cellule) : 30 m
Topographie	Modèle Numérique de Terrain (DEM) basé sur BD ALTI® (IGN) (m) Résolution (taille de cellule) : 30 m
Conditions météorologiques (/ période / nuit)	Température moyenne de l'air (°C) Humidité relative moyenne de l'air (%) Vitesse moyenne du vent (km/h) Direction (tendance) du vent (°)
Étendue du modèle	Zone d'étude de 31.06 km ² Résolution (taille de cellule) : 30 m

Finalement, à l'issue de cette modélisation, des valeurs d'intensité théorique du son intégrant tous les tiers de bandes d'octaves ('*Signal_SM3*' - en dBA) ont été obtenues pour chaque cellule de la zone d'étude.

2.6. Analyses des données de propagation

Avant de construire le modèle statistique, l'ensemble des sons enregistrés aux heures d'émission a été écouté et visualisé grâce à des spectrogrammes sur le logiciel Raven Pro (version 1.5 – Charif et al. 2010 ; voir paramétrages dans le **paragraphe 2.3**) afin de détecter le son émis dans les enregistrements ('*Detection_Signal*'). Pour comparer le nombre d'enregistreurs autonomes avec lesquels le son émis a été détecté entre les deux zones d'étude ainsi que le nombre d'émissions détectées par nuit et par période dans chacune des deux zones d'étude, le test du Chi² de Pearson a été utilisé. En complément, la variation de l'intensité sonore du bruit ambiant moyennée par période et par site d'enregistrement dans les deux zones d'étude a été étudiée à l'aide du test d'homogénéité des variances de Bartlett par permutation.

2.7. Construction du modèle statistique pour prédire la probabilité de détection du son synthétique

Des modèles mixtes généralisés (fonction `glmer` du package `lme4` – Bates et al. 2015) ont été construits afin de tester l'influence de plusieurs variables sur la détection du son synthétique (*'Detection_Signal'*) et de prédire la probabilité de sa détection en fonction de ces variables. Les effets fixes inclus dans les modèles étaient l'intensité du son synthétique (*'Signal_SM3'*) et l'intensité du bruit ambiant moyennée par période sur chaque site d'enregistrement (*'Bruit_Periode_SM3'*). La réplication spatiale des sites d'émission (3 passages sur chaque site au cours du protocole ; *'Id_Emission'*) a été intégrée comme effet aléatoire. Le modèle retenu a été choisi selon le critère d'information d'Akaike (AIC) le plus bas (Burnham & Anderson, 2002). La significativité de chaque effet fixe compris dans le modèle retenu a été évaluée à l'aide d'une ANOVA de type II.

Afin de valider le modèle statistique choisi, une phase de confrontation a été nécessaire entre les données acquises sur le terrain (par la suite désignées par « vérité terrain »), qui correspondent au résultat de la détection du son émis pour chaque enregistreur faite par l'opérateur (i.e. son détecté ou son non détecté) d'une part, et d'autre part la probabilité de détection prédite par le modèle statistique retenu pour le même son émis et pour les mêmes enregistreurs (i.e. pour une probabilité de détection supérieure à 0.5, le son est considéré comme détecté et quand celle-ci est inférieure à 0.5, il est considéré comme non détecté). À l'issue de cette phase, le taux de vrais positifs (i.e. son réellement détecté par l'opérateur et prédit comme détecté par le modèle) et de faux négatifs (i.e. son détecté par l'opérateur mais prédit comme non détecté par le modèle) peuvent alors être calculés dans l'objectif d'évaluer la robustesse et la performance du modèle retenu. C'est dans cet objectif qu'une courbe ROC (*'Receiver Operating Characteristic Curve'*) a été tracée afin d'évaluer la performance du modèle en fonction de sa sensibilité (i.e. proportion de vrais positifs) et de sa spécificité (i.e. proportion de vrais négatifs). Par la suite, l'AUC (*'Area Under the Curve'*) a été calculée, donnant ainsi une indication sur la qualité de la prédiction (i.e. 1 pour une prédiction idéale, 0.5 pour une prédiction aléatoire). La courbe ROC et l'AUC ont été obtenus grâce au package `ROCR` (Sing et al. 2005) sur le logiciel R (version 3.1.2 - R Development Core Team, 2014).

2.8. Prédiction et cartographie de la probabilité de détection

Afin de prédire et de cartographier la probabilité de détection du son synthétique sur l'ensemble des deux zones d'étude, de nouvelles données théoriques de propagation ont été générées selon

un maillage régulier couvrant l'ensemble des deux zones. La résolution de chaque zone d'étude (i.e. taille des cellules) a de nouveau été fixée à 30 m (soit 34 510 cellules en tout pour chaque zone).

Au total, 120 nouveaux sites d'émission théoriques ont été définis avec un espacement de 500 m entre chaque site. Pour cette phase de prédiction, une seule période a été retenue, à savoir le crépuscule. Les données météorologiques ainsi que les valeurs d'intensité de bruit ambiant précédemment calculées et correspondant à cette période ont été utilisées. La modélisation de la propagation de ces 120 émissions théoriques a de nouveau été réalisée avec l'outil SPreAD-GIS sur le logiciel ArcGIS. Pour chacune de ces émissions, les intensités successives prédites par SPreAD-GIS ont été moyennées par cellule. Sur la base de ces données d'intensité du signal, le modèle mixte généralisé retenu (voir **paragraphe 2.7**) a ensuite été utilisé afin de prédire la probabilité de détection du son synthétique dans toutes les cellules. Les résultats ont été synthétisés en créant une carte globale pour chacune des deux zones d'étude.

Afin de lisser les résultats, trop dépendants de l'échantillonnage des sites d'émission théoriques, une fenêtre flottante circulaire d'un rayon de 250 m a été appliquée (longueur du rayon optimale, représentant la moitié de la distance séparant les sites d'émission théoriques et retenue après avoir procédé à plusieurs tests avec d'autres valeurs).

Les valeurs de probabilité de détection ont ensuite été classées en 4 catégories (0-0.25 : très faible probabilité de détection, 0.25-0.50 : faible probabilité de détection, 0.50-0.75 : forte probabilité de détection, 0.75-1 : très forte probabilité de détection). Les surfaces (en km²) correspondant à chacune de ces classes ont ensuite été calculées avec le logiciel ArcGIS. Les résultats obtenus dans les deux zones d'étude ont été comparés visuellement puis à l'aide d'un test de Chi² de Pearson.

2.9. Estimation de l'espace de détection efficace des enregistreurs autonomes

En plus de la cartographie de la probabilité de détection, l'objectif de cette expérimentation est d'estimer l'espace de détection efficace de chaque enregistreur mis en place sur le terrain. Nous appelons « espace de détection efficace » la surface considérée comme échantillonnée efficacement par les enregistreurs pour le son synthétique (i.e. probabilité de détection supérieure à 0.5) dans un rayon correspondant à la distance maximale théorique estimée pour la propagation du son. Pour obtenir cette mesure, deux paramètres ont été pris en compte : la distance maximale de propagation théorique du son synthétique et la probabilité de détection de ce dernier.

La distance maximale de propagation théorique a été calculée grâce au package Seewave (fonction '*attenuation*' – Sueur et al. 2008) sous R. Le bruit ambiant peut cependant masquer le son synthétique et influencer négativement sa détection. Cette distance maximale a donc été ajustée en fonction du bruit ambiant (à partir des mesures faites sur les enregistrements - voir **paragraphe 2.3**). La distance maximale de propagation théorique a par la suite servi de taille de rayon pour la création de zones tampons (i.e. '*buffers*') autour de chaque enregistreur dans les deux zones d'étude. Les cellules de 30 m situées à l'intérieur de ces zones tampon et correspondant à une probabilité de détection supérieure à 0.5 (i.e. probabilité de détection jugée « forte » à « très forte ») ont été conservées afin de calculer l'espace de détection efficace (en km²) de chaque enregistreur. Afin de prendre en compte la présence de zones tampons incomplètes pour les enregistreurs situés en bordure de zone d'étude, l'espace de détection efficace de chaque enregistreur a été ramené à une proportion surfacique efficace (PSE - en %) définie telle que

$$PSE = \frac{S2}{S1} * 100$$

où S1 correspond à la surface des zones tampons (complètes ou incomplètes) de 2 km de rayon autour des enregistreurs et comprise dans la zone d'étude (en km²) et S2 représente la surface correspondant à une probabilité de détection supérieure à 0.5 dans S1 (en km²).

Pour finir, la relation entre le nombre de détections du son pour chacun des 20 enregistreurs autonomes et leur proportion surfacique efficace a été étudiée grâce à un test de corrélation de Spearman.

2.10. Optimisation de l'échantillonnage spatial

À partir des cartes de probabilité de détection obtenues, l'objectif final est de définir de nouvelles localisations pour les enregistreurs afin d'optimiser l'échantillonnage spatial des zones d'étude pour la détection de hurlements de loups. Ainsi, une démarche par étapes est proposée pour choisir, de manière standardisée, l'emplacement des 20 enregistreurs en vue d'optimiser la couverture des deux zones d'étude.

La première étape a consisté à générer aléatoirement, à l'aide du logiciel ArcGIS, des localisations dans les polygones catégorisés par classes de probabilité de détection. Le nombre de localisations a été généré de manière proportionnelle à la surface totale couverte par ces classes (i.e. densité d'enregistreurs proportionnelle à la somme des surfaces de polygones de même classe). Pour cela l'outil 'Création des points aléatoires' dans la boîte à outils 'Outils de gestion des données / Échantillonnage' d'ArcGIS a été utilisé. Afin de limiter le nombre de

localisations, une distance minimale de 500 m entre les sites potentiels d'enregistrement a été utilisée pour chaque classe de probabilité de détection.

Dans un second temps, l'espace de détection efficace a été estimé pour chacun de ces nouveaux sites. Seules les 20 localisations ayant les plus grandes proportions surfaciques efficaces et respectant une distance minimale de 500 m entre elles ont été sélectionnées et choisies comme nouveaux sites d'enregistrement dans une troisième et dernière étape.

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (version 3.5.0 - R Development Core Team, 2014) et les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs lorsque $P \leq 0.05$.

3. Résultats

3.1. Émissions sonores et enregistrements réalisés sur le terrain

Pour la zone d'étude VM située en moyenne montagne, 174 émissions ont été réalisées. En effet, deux sites d'émission ont dû être exclus de l'échantillonnage en raison d'un accès trop dangereux. Pour la zone d'étude CM, située en plaine, le son synthétique a été émis, comme prévu, à 180 reprises.

Au total, 120 émissions ont été détectées dans les enregistrements d'au moins un SM3 en VM (68.97 %) et 149 en CM (82.78 %). Le nombre d'enregistreurs autonomes ayant détecté une même émission sonore a différé entre les deux zones d'études, celui-ci était plus élevé en CM (Test du χ^2 de Pearson : $\chi^2 = 17.82$, $df = 4$, $P < 0.01$ – voir **Figure 7**).

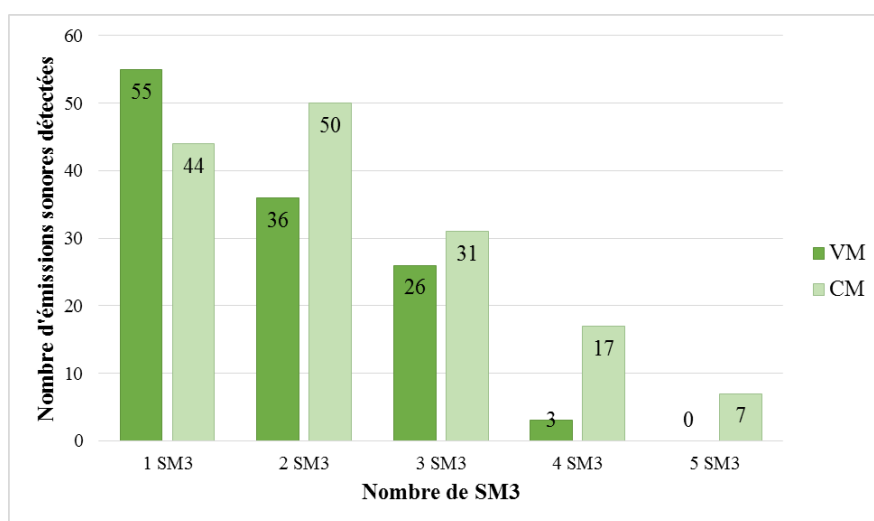


Figure 7 : Histogramme du nombre d'émissions sonores détectées dans les enregistrements d'1, 2, 3, 4 et 5 enregistreur(s) autonome(s) (SM3) en VM et en CM.

Pour chaque zone d'étude, le nombre d'émissions détectées par période n'a pas présenté de différence significative (VM : Test du χ^2 de Pearson : $\chi^2 = 3.09$, $df = 4$, $P > 0.05$; CM : Test du χ^2 de Pearson : $\chi^2 = 1.66$, $df = 4$, $P > 0.05$ – voir **Tableau 2**).

Tableau 2 : Moyenne du nombre d'émissions détectées dans les enregistrements d'au moins un enregistreur autonome au cours des trois nuits et par période (crépuscule, nuit, aube) dans chaque zone d'étude.

Période	Zone d'étude	
	VM	CM
	Moyenne $\pm$ SD	
Crépuscule	13.33 $\pm$ 3.22	15.33 $\pm$ 1.53
Nuit	13.00 $\pm$ 3.61	16.67 $\pm$ 3.06
Aube	13.67 $\pm$ 0.58	17.67 $\pm$ 2.08

La distance maximale à laquelle le son synthétique a été détectée (distance entre le site d'émission et l'enregistreur) était de 2 749 m (min : 137.67 m, moy : 972.40 $\pm$ 551.21 m) en VM et de 3 594 m en CM (min : 64.54 m, moy : 899.60 $\pm$ 588.07 m).

Enfin, l'ambiance sonore (intensité sonore du bruit ambiant moyennée par période et par site d'enregistrement) a varié entre les sites d'enregistrement dans les deux zones d'étude (test d'homogénéité des variances de Bartlett par permutation : $P < 0.05$). Cette ambiance sonore n'était donc pas homogène sur l'ensemble des deux zones d'étude : les sites d'enregistrement situés à proximité de routes ou de cours d'eau étaient dans un environnement sonore plus bruyant.

3.2. Conditions météorologiques pendant l'étude

Les conditions météorologiques rencontrées lors des deux sessions de terrain ont été optimales. En effet, aucune précipitation (i.e. pluie) n'a été rencontrée et, bien que la direction du vent ait changé au cours des nuits, sa vitesse n'a jamais dépassé les 15 km/h. Les températures ont varié au cours des nuits et des périodes d'émission allant de 9 °C à plus de 14 °C en VM et de 8 °C à 17 °C en CM. L'humidité relative était quant à elle comprise entre 69 % et plus de 83 % en VM et entre un peu plus de 81 % et presque 92 % en CM (voir **Tableau 3** pour un descriptif complet).

Tableau 3 : Descriptif des conditions météorologiques rencontrées durant les trois nuits d'émission dans chaque zone d'étude.

Zone d'étude	Nuit	Période	Température (°C)	Humidité relative (%)	Vitesse du vent (km/h)	Direction du vent (°)
			Moyenne $\pm$ SD	Moyenne $\pm$ SD	Moyenne $\pm$ SD	Tendance
VM	N1	crépuscule	11.01 $\pm$ 1.34	80.32 $\pm$ 5.40	9.72 $\pm$ 2.22	30
		nuit	9.91 $\pm$ 1.15	82.90 $\pm$ 4.50	9.63 $\pm$ 1.98	25
		aube	9.36 $\pm$ 1.08	83.76 $\pm$ 4.73	11.79 $\pm$ 3.45	30
	N2	crépuscule	11.09 $\pm$ 1.11	76.28 $\pm$ 4.16	6.66 $\pm$ 1.60	40
		nuit	10.30 $\pm$ 0.99	82.23 $\pm$ 5.89	3.51 $\pm$ 1.19	135
		aube	9.95 $\pm$ 0.97	79.85 $\pm$ 5.60	2.52 $\pm$ 0.59	65
	N3	crépuscule	14.27 $\pm$ 1.09	69.39 $\pm$ 5.15	8.46 $\pm$ 3.84	70
		nuit	13.61 $\pm$ 1.14	71.10 $\pm$ 5.11	10.35 $\pm$ 1.23	70
		aube	12.44 $\pm$ 1.15	73.01 $\pm$ 5.85	12.15 $\pm$ 1.75	50
CM	N1	crépuscule	17.55 $\pm$ 1.42	81.94 $\pm$ 7.46	5.67 $\pm$ 1.26	180
		nuit	15.95 $\pm$ 1.46	85.11 $\pm$ 7.25	8.73 $\pm$ 4.29	185
		aube	14.91 $\pm$ 1.11	88.79 $\pm$ 4.74	5.22 $\pm$ 0.86	225
	N2	crépuscule	14.97 $\pm$ 0.55	87.88 $\pm$ 2.83	6.21 $\pm$ 2.11	270
		nuit	13.81 $\pm$ 0.37	91.11 $\pm$ 1.94	6.12 $\pm$ 0.78	290
		aube	13.09 $\pm$ 0.32	90.19 $\pm$ 2.12	9.27 $\pm$ 2.39	300
	N3	crépuscule	11.99 $\pm$ 1.10	81.79 $\pm$ 4.54	11.79 $\pm$ 0.95	10
		nuit	9.82 $\pm$ 0.75	88.79 $\pm$ 3.04	6.03 $\pm$ 3.87	30
		aube	8.40 $\pm$ 0.97	91.98 $\pm$ 2.15	5.94 $\pm$ 1.19	315

3.3. Choix et robustesse du modèle statistique

Le modèle mixte généralisé retenu comprend les deux effets fixes testés (intensité du son synthétique simulée par SPreAD-GIS '*Signal_SM3*' et intensité du bruit ambiant mesurée, moyennée puis extrapolée par période '*Bruit_Periode_SM3*'), tous deux significatifs ('*Signal_SM3*' : Estimation $\pm$ erreur standard [SE] = 0.21 $\pm$ 0.001, $P < 0.05$; '*Bruit_Periode_SM3*' : Estimation $\pm$ SE = -0.08 $\pm$ 0.001, $P < 0.05$ – voir **Tableau 4**).

Tableau 4 : Effets de l'intensité du son simulée par SPreAD-GIS et du bruit ambiant (moyennée puis extrapolée par période) sur la détection du son synthétique, déterminés par le modèle mixte généralisé.

	Estimation $\pm$ SE	df	X ²	P
Variable réponse : ' <i>Detection_Signal</i> '				
' <i>Signal_SM3</i> '	0.21 $\pm$ 0.001	1	30 858.6	< 2.2e-16
' <i>Bruit_Periode_SM3</i> '	-0.08 $\pm$ 0.001	1	5 918.4	< 2.2e-16

Ce modèle statistique met en évidence que plus l'intensité du signal simulée par SPreAD-GIS sur les sites d'enregistrement augmente, plus la probabilité de détecter le son synthétique est élevée. Par contre, la probabilité de détection diminue lorsque l'intensité du bruit ambiant augmente.

L'AUC obtenue pour ce modèle, accompagnée de la courbe ROC (qui permet de confronter la « vérité terrain » à la détection prédite) était de 0.94 ± 0.01 (38 760 combinaisons), validant ainsi le modèle grâce à sa robustesse élevée (voir **Figure 8**).

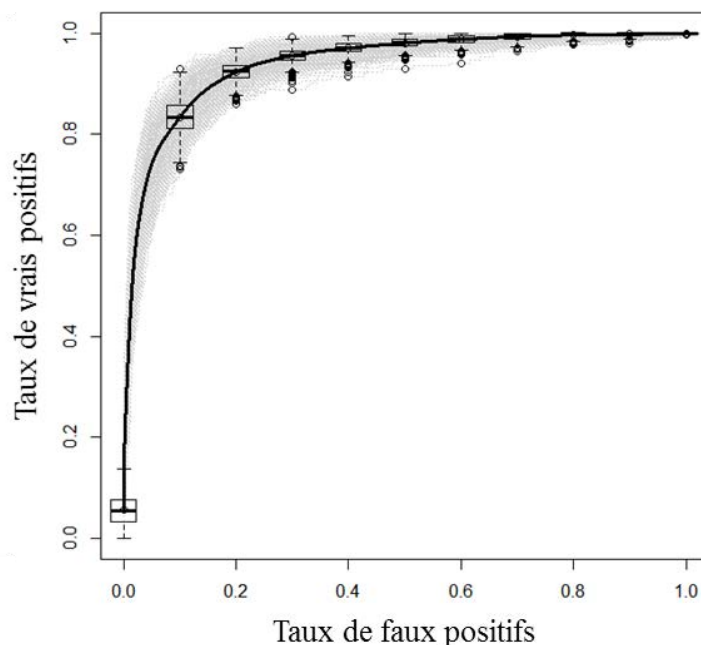


Figure 8 : Courbe ROC obtenue pour le modèle mixte généralisé sélectionné (illustration pour 1 000 combinaisons).

3.4. Prédiction de la probabilité de détection

Après avoir utilisé la fenêtre flottante, les cartes de prédiction concernant le crépuscule ont pu être obtenues pour les deux zones d'étude (voir **Figure 9**) et les surfaces de chacune des 4 classes de probabilité de détection ont alors pu être calculées (voir **Figure 10**). Sur ces cartes de prédiction du modèle, chaque polygone de couleur représente une zone à l'intérieur de laquelle la probabilité de détecter le son avec un enregistreur est soit, très faible (rouge), faible (jaune), forte (bleu clair) ou très forte (bleu foncé). Ainsi, ces cartes représentent en quelque sorte la « rugosité » du paysage vis-à-vis de la propagation du son synthétique.

Visuellement, il apparaît que le milieu de plaine (**Figure 9 B**) semble plus propice à la propagation et donc à la détection du son comparé au milieu de moyenne montagne (**Figure 9 A**). En effet, la probabilité de détection du son est forte voire très forte sur une grande partie de la zone d'étude CM. En VM en revanche, des zones dont la probabilité de détection du son est très faible (rouge) apparaissent nettement.

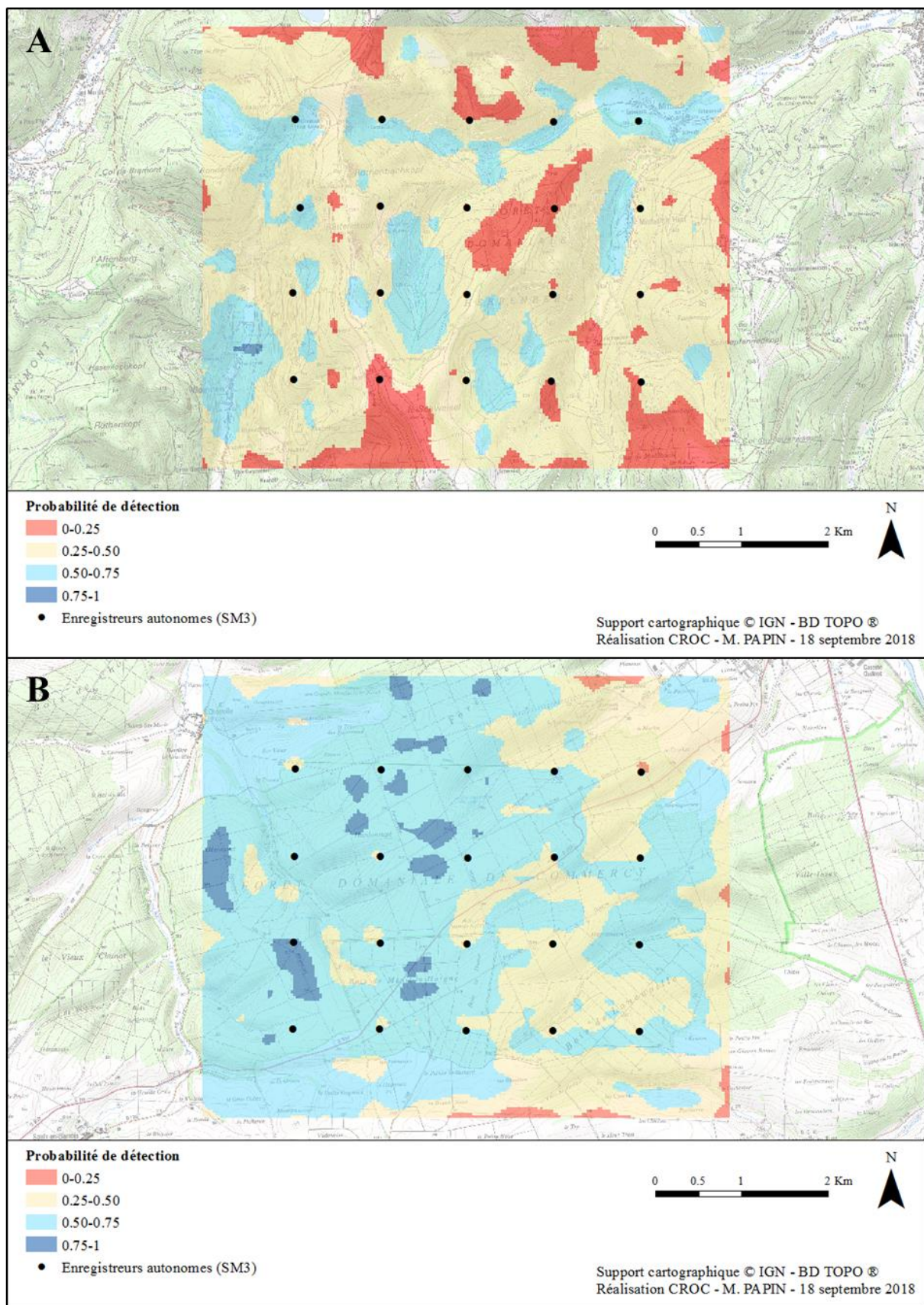


Figure 9 : Représentation cartographique de la probabilité de détection du son prédite par le modèle statistique durant le crépuscule dans les deux zones d'étude ; **A** : VM ; **B** : CM.

Ces observations sont confirmées par l'étude des surfaces couvertes par chaque classe de probabilité de détection (**Figure 10** – Test du χ^2 de Pearson : $\chi^2 = 17.232$, $df = 3$, $P < 0.01$). Plus précisément, la surface où la probabilité de détection du son synthétique est très forte (supérieure à 0.75) correspond à 0.03 km² en VM et 1.20 km² en CM, soit respectivement 0.11% et 3.87% de la zone d'étude de 31.06 km². Par ailleurs, plus de 70 % de la zone d'étude VM correspond à une probabilité de détection faible à très faible (inférieure à 0.5), confirmant ainsi l'effet des paramètres environnementaux (i.e. topographie en particulier) sur la probabilité de détection du son émis.

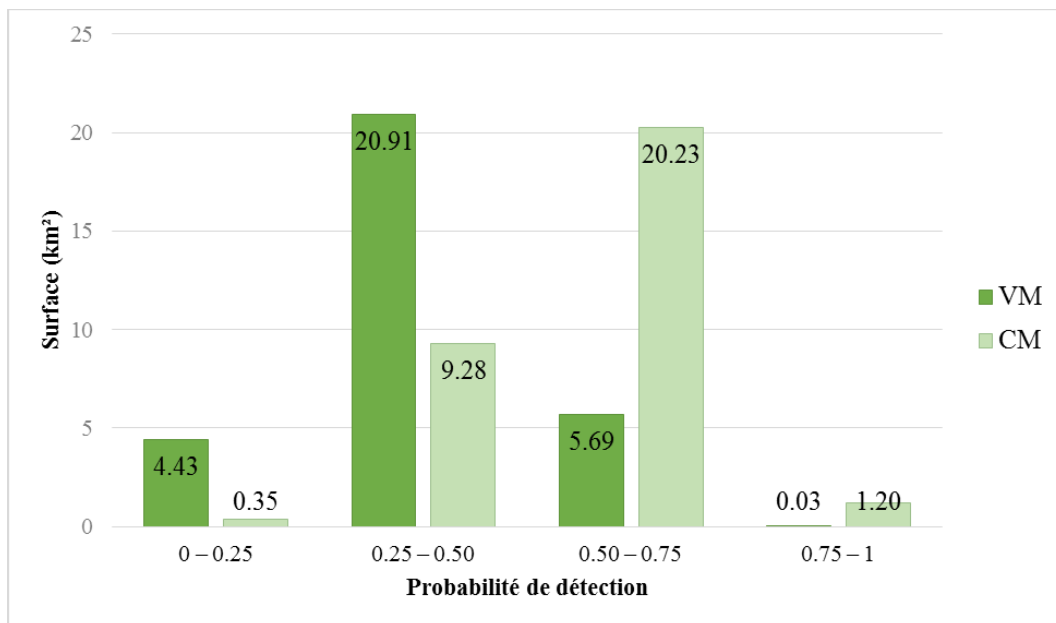


Figure 10 : Surface (km²) selon la probabilité de détection pour la période correspondant au crépuscule dans chacune des deux zones d'étude.

3.5. Estimation de l'espace de détection efficace des enregistreurs autonomes

En se basant sur les probabilités de détection supérieures à 0.5 et la distance maximale théorique de propagation, l'espace de détection efficace de chaque enregistreur a pu être estimé. Sur la base des données théoriques, il apparaît que le son synthétique peut se propager à plus de 10 km (i.e. sans tenir compte des effets de la végétation, de la topographie, des conditions météorologiques et de bruit ambiant). Cependant, le bruit ambiant (approximativement 50 dB selon mesures faites sur les spectrogrammes) peut masquer le son synthétique et donc influencer négativement sa détection. Ainsi, la distance maximale de propagation théorique à laquelle l'intensité du son synthétique dépassait ce bruit ambiant (supérieure à 50 dB) correspond approximativement à 2 km. En prenant en compte ces seuils de distance et de probabilité de

détection, l'espace de détection efficace de chaque enregistreur a ainsi été estimé puis rapporté à une proportion surfacique efficace (voir définition dans le **paragraphe 2.9**). Ces proportions surfaciques efficaces par enregistreur ont ensuite été moyennées par zone d'étude (voir **Tableau 5**). Ainsi, la proportion surfacique efficace des enregistreurs est plus importante en milieu de plaine (CM) puisqu'elle est d'environ 71.24 ± 18.34 %, contre 19.19 ± 5.23 % en milieu de moyenne montagne (VM).

Tableau 5 : Proportion surfacique efficace des enregistreurs (%) selon la classe de probabilité de détection durant le crépuscule dans chaque zone d'étude.

Zone d'étude	Probabilité de détection		
	0.50 – 0.75	0.75 – 1	0.50 - 1
	Moyenne $\pm$ SD	Moyenne $\pm$ SD	Moyenne $\pm$ SD
VM	19.11 ± 5.12	0.08 ± 0.15	19.19 ± 5.23
CM	66.92 ± 15.35	4.32 ± 3.14	71.24 ± 18.34

Enfin, l'étude de la relation entre le nombre de détections du son pour chacun des 20 enregistreurs autonomes et leur proportion surfacique efficace respective a mis en évidence l'existence d'une corrélation positive seulement pour la zone d'étude CM (corrélation de Spearman en VM : $\rho = 0.16$, $P = 0.50$ et en CM : $\rho = 0.54$, $P = 0.01$). Ce qui implique, en CM, que plus la proportion surfacique efficace de l'enregistreur est importante et plus le son émis est détecté.

3.6. Optimisation de l'échantillonnage acoustique

La démarche par étapes utilisée a conduit à un total de 26 localisations de nouveaux sites d'enregistrement en VM contre 24 en CM (voir **Figure 11**). Cependant, certains sites localisés dans des classes de probabilité de détection différentes se trouvaient à moins de 500 m les uns des autres. Ainsi, les 20 sites ayant les espaces de détection les plus grands et respectant une distance minimale de 500 m entre eux ont été sélectionnés comme nouveaux sites potentiels d'enregistrement.

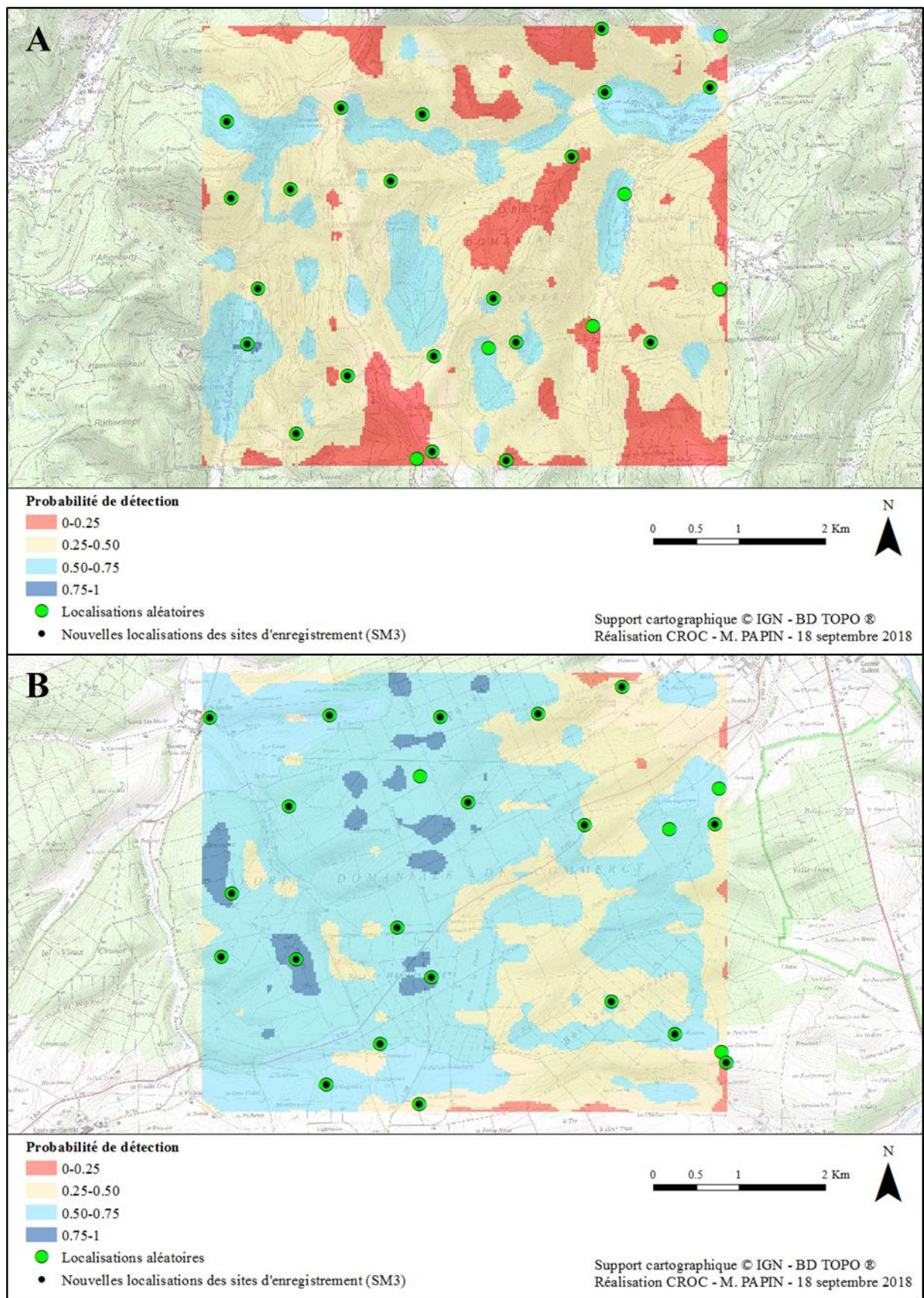


Figure 11 : Une configuration possible (tirage aléatoire) de nouvelles localisations des 20 enregistreurs autonomes en vue d'optimiser l'échantillonnage acoustique pour la détection de hurlements de loups dans les deux zones d'étude ; **A** : VM ; **B** : CM.

4. Discussion

L'objectif de cette étude conduite dans le Nord-Est de la France (Massif des Vosges et Côtes de Meuse), était de combiner des analyses acoustiques, statistiques et cartographiques afin de modéliser la probabilité de détection permettant alors d'estimer l'espace de détection efficace des enregistreurs autonomes. Dans notre cas, l'idée était plus précisément d'optimiser spatialement l'échantillonnage acoustique (i.e. choix des sites d'enregistrement) d'une zone d'étude pour la détection de hurlements de loups gris.

4.1. Méthode d'échantillonnage acoustique adaptée à la détection du Loup gris

La présente étude a permis de confirmer le potentiel des enregistreurs autonomes pour le suivi du Loup gris sur de vastes zones. En effet, plus de 80 % des émissions réalisées à partir de différents sites d'émission, ont été détectées par au moins un enregistreur autonome en milieu de plaine et près de 70 % en milieu de moyenne montagne. De plus, le son a pu être détecté par des enregistreurs situés à plus de 2.7 km en milieu de moyenne montagne et à plus de 3.5 km en milieu de plaine. Ces distances correspondent à celles annoncées dans la littérature dans le cas de hurlements de loups entendus et/ou enregistrés dans un environnement dominé par le milieu forestier comme c'est le cas de nos deux zones d'étude (Harrington & Mech, 1982 ; Fuller & Sampson, 1988 ; Nowak et al. 2007 ; Ausband et al. 2011 ; Suter et al. 2016).

L'ensemble des analyses statistiques et cartographiques réalisées par la suite ainsi que le modèle statistique développé pour prédire la probabilité de détection sur les deux zones d'étude ont permis d'estimer l'espace de détection efficace des enregistreurs autonomes. Les cartographies résultant de ce travail ainsi que le nombre d'émissions détectées dans chacune des deux zones d'étude montrent que le milieu de plaine semble plus propice à la propagation et ainsi à la détection du son synthétique par rapport au milieu de moyenne montagne.

En effet, en milieu de moyenne montagne (VM), il apparaît que les fonds de vallée et les zones de plateau, où la topographie est moins marquée, sont les plus propices à la propagation et donc à la détection du son synthétique. En revanche, dans les zones dont le relief est particulièrement accidenté, la probabilité de détection est faible (i.e. inférieure à 0.25). En milieu de plaine (CM), le constat est différent. La proportion surfacique efficace des enregistreurs et la couverture globale de la zone d'étude par ces derniers sont plus importantes. La détection du son synthétique y semble donc bien plus prévisible et l'emplacement des enregistreurs plus facile à choisir. D'après ces résultats, la topographie apparaît comme un facteur particulièrement contraignant et limitant pour la détection du son synthétique, et plus largement des hurlements

de loups. D'ailleurs, l'absence de corrélation entre le nombre de détections par enregistreur et leur proportion surfacique efficace confirme et appuie l'effet négatif de la topographie du Massif des Vosges sur la détection du son. Comme on pouvait logiquement s'y attendre, la détection et le suivi du Loup gris dans des zones montagneuses, où le relief est très marqué, s'avèreront plus difficiles qu'en milieu de plaine. La mise en place d'un suivi acoustique passif du Loup dans de telles zones doit donc être mûrement réfléchie afin de prendre en compte ces contraintes de terrain. Le nombre d'enregistreurs autonomes à déployer devra donc tenir compte des caractéristiques de la zone d'étude (e.g. végétation, topographie) mais également des propriétés acoustiques du son ciblé (e.g. Obrist et al. 2010 ; Huetz & Aubin, 2012).

La visualisation des probabilités de détection sur l'ensemble des deux zones d'étude et l'estimation de l'espace de détection efficace de chaque enregistreur autonome offrent la possibilité d'optimiser spatialement l'échantillonnage acoustique pour maximiser la couverture de la zone d'étude et ainsi garantir la détection de hurlements de loups. En effet, à partir des cartes de probabilité de détection obtenues, il est possible de choisir visuellement où concentrer l'effort d'échantillonnage (i.e. localisation et nombre d'enregistreurs) afin de maximiser la surface couverte par le réseau d'enregistreurs autonomes. Afin d'affiner la localisation des sites d'enregistrement et d'optimiser la distribution spatiale des enregistreurs autonomes, une approche par étapes a été proposée. De nouveaux sites potentiels ont donc été générés aléatoirement dans les polygones catégorisés par classes de probabilité de détection (i.e. densité d'enregistreurs proportionnelle à la somme des surfaces de polygones de même classe). Les nouveaux sites d'enregistrement choisis correspondaient aux 20 localisations ayant les plus grandes proportions surfaciques efficaces et respectant une distance minimale de 500 m entre elles. Cependant, une autre stratégie d'échantillonnage pourrait privilégier la pose d'enregistreurs autonomes dans les zones dont la probabilité de détection est très faible (i.e. inférieure à 0.25). De cette manière, le nombre d'enregistreurs serait adapté aux classes de probabilité : nombre d'enregistreurs inversement proportionnel à la valeur de la probabilité de détection d'un polygone donné (i.e. davantage d'enregistreurs dans les zones où les valeurs de probabilité de détection sont faibles). Cependant, les contraintes d'ordre logistique et économique (i.e. nombre d'enregistreurs et coût à l'achat ainsi qu'à leur déploiement), qui sont des facteurs limitants, devraient également être prises en compte avec une telle approche (e.g. Job et al. 2016).

À noter, la méthodologie proposée pour optimiser le suivi acoustique passif du Loup gris pourrait finalement être transposée pour la mise en place des Hurlements Provoqués (HP - Harrington & Mech, 1982). Cette méthode, largement utilisée en Europe et aux États-Unis, qui

repose sur le principe du playback (McGregor et al. 1992), consiste en la diffusion de hurlements d'hommes ou de loups afin de stimuler l'activité vocale des individus présents sur la zone étudiée. En effet, lors des HP, des sites sont choisis, à la fois pour émettre les hurlements mais également pour écouter les potentielles réponses des loups. Ainsi, les sites où ont lieu les HP pourraient être définis de façon à ce que l'espace actif des hurlements émis par les hommes soit le plus grand possible tout en leur assurant la possibilité d'entendre les potentielles réponses des loups.

4.2. Limites et recommandations

L'ensemble des résultats présentés dans cette étude se base sur des simulations établies à l'aide d'un son synthétique. Une phase d'expérimentation en milieu naturel, où la présence de loups est attestée durant la mise en place du dispositif, pourrait être envisagée afin de tester et confirmer l'efficacité de la méthodologie proposée.

Avant tout travail de terrain ou de modélisation, l'échelle spatiale et temporelle d'une étude doivent être clairement définies afin d'acquérir les données acoustiques attendues (Heupel et al. 2006 ; Obrist et al. 2010). Comme montré précédemment, la configuration d'un réseau et la localisation des enregistreurs (i.e. choix des sites d'enregistrement) doivent être soigneusement choisies (Obrist et al. 2010). Pour cela, différentes configurations théoriques du réseau d'enregistreurs peuvent être envisagées afin d'obtenir des résultats fiables (Job et al. 2016).

Dans cette perspective, trois étapes clés ont été mises en évidence pour optimiser spatialement l'échantillonnage d'une zone d'étude dans laquelle la présence d'une espèce comme le Loup doit être détectée. Dans un premier temps, le modèle statistique construit sur la base des données acquises sur le terrain et simulées avec le logiciel cartographique, doit être utilisé pour prédire la probabilité de détection du son dans les zones d'étude. La cartographie de ces prédictions permet alors de mettre en évidence l'effet des caractéristiques de la zone d'étude, telle que la topographie par exemple, sur la propagation et la détection du son. Enfin, de nouveaux sites d'enregistrement potentiels sont générés puis sélectionnés selon une procédure standardisée tenant compte de leur espace de détection afin d'optimiser l'échantillonnage spatial de la zone ciblée.

Bien que les avantages de cette méthodologie soient nombreux de par la possibilité de l'appliquer à de différentes espèces et espaces, quelques recommandations peuvent néanmoins être faites dans le but de l'améliorer. Pour commencer, le choix des sites d'émission, permettant de simuler l'émission de hurlements de loups à différents endroits de notre zone d'étude, a été

fait en tenant compte de la végétation (strates herbacée, arbustive et arborescente) et du relief (i.e. variation topographique obtenu à l'aide de l'indice TPI - De Reu et al. 2013). Il pourrait être envisageable d'intégrer l'orientation de la pente (Nord, Sud, Est ou Ouest) au modèle statistique afin d'optimiser la couverture de tous les versants de la zone d'étude, surtout lorsque celle-ci est caractérisée par une topographie marquée. De plus, le choix des sites d'émission théoriques et l'absence d'enregistreurs en bordure des zones d'étude peuvent expliquer la probabilité de détection du son très faible à ces endroits (particulièrement en milieu de moyenne montagne). En effet, tel qu'il a été conçu et mis en place, l'échantillonnage acoustique (i.e. maillage fixe séparant les enregistreurs d'un kilomètre les uns des autres) était concentré au cœur de nos deux zones d'étude. Il ne nous a donc pas permis de vérifier la robustesse du modèle statistique au niveau de ces bordures puisqu'aucune « vérité terrain » (i.e. aucune détection faite par l'opérateur en raison de l'absence d'enregistreurs) n'était disponible pour ces endroits. Ainsi, les futurs travaux devront prendre en compte une zone d'étude plus grande afin de limiter ces effets bordures et d'obtenir les informations nécessaires dans la zone véritablement ciblée. Cette amélioration contribuera également au calcul des espaces de détection efficaces de tous les enregistreurs sans avoir besoin de les convertir en proportion surfacique efficace (i.e. zone tampon de 2 km de rayon complète pour tous les enregistreurs).

Ensuite, plusieurs des paramètres mesurés, tels que le bruit ambiant et les conditions météorologiques, ont varié entre les 3 différentes périodes de la nuit étudiées ici. Nous recommandons donc de réaliser cette démarche méthodologique au cours de plusieurs périodes, considérées comme les plus favorables à la détection de l'espèce étudiée (e.g. aube et crépuscule pour le Loup gris – Harrington & Mech, 1978 ; Gazzola et al. 2002 ; ou pour les oiseaux – Ulloa et al. 2016 ; Zhang et al. 2016 ; Frommolt, 2017) afin de choisir celle qui maximise la probabilité de détection du son émis et donc l'espace de détection efficace du dispositif d'enregistrement. Concernant le bruit ambiant, des données doivent être collectées en amont de la mise en place de réseaux d'enregistreurs autonomes, afin d'obtenir une probabilité de détection intégrant ce facteur. Il est également recommandé d'identifier les potentielles sources de bruit très localisées, telles que les cours d'eau, les parcs éoliens, les routes à fort passage, afin de limiter leur impact sur les enregistrements acoustiques obtenus (éloignement des enregistreurs). Dans le cas contraire, l'outil SPreAD-GIS peut être paramétré de façon à intégrer ces sources de bruit dans les modélisations (Reed et al. 2012 ; Keyel et al. 2017).

Par ailleurs, notre modèle statistique de prédiction repose sur les données relatives à la détection du son par les enregistreurs puis par l'opérateur dans les enregistrements. Il pourrait y avoir un biais induit non seulement par le matériel d'enregistrement mais aussi par l'opérateur. Afin de

limiter le biais lié à l'opérateur, une solution serait de développer une méthode de détection automatique adaptée à la reconnaissance du son visé dans les enregistrements, permettant par la même occasion un gain de temps (e.g. Swiston & Mennill, 2009 ; Rocha et al. 2015 ; Shonfiels & Bayne, 2017). Pour le biais induit par le matériel d'enregistrement, la sensibilité ainsi que le bruit propre de chaque microphone et/ou enregistreur numérique devraient être évalués au cours des sessions de suivis afin d'être pris en compte et de garantir des résultats homogènes et précis quant à la détection du son par les enregistreurs (Obrist et al. 2010 ; Merchant et al. 2015 ; Turgeon et al. 2017).

Le rayon théorique, dont la taille correspond à la distance maximale théorique de propagation estimée pour le son ciblé avec la prise en compte du bruit ambiant, peut être amené à varier en fonction de différents facteurs (e.g. bruit ambiant, conditions météorologiques, etc.). Il serait donc possible d'améliorer l'approche en prenant en compte les facteurs susceptibles d'influencer la taille de ce rayon de propagation. De plus, même si la méthode présentée permet d'obtenir une mesure de l'espace de détection efficace (en terme de surface) afin d'optimiser l'échantillonnage spatial, elle ne permet cependant pas d'obtenir une représentation cartographique de ces derniers. Il serait donc intéressant de poursuivre les investigations sur ces aspects.

Il serait aussi intéressant que la quantification des espaces de détection soit précisée dans les futures publications. En effet, à partir de ces données, la probabilité de détection de l'espèce ciblée ainsi que son occurrence pourraient être calculées et les résultats déduits de ces études comparés entre les différentes configurations d'enregistrement (Dawson & Efford, 2009 ; Darras et al. 2016). Les connaissances sur les espèces étudiées pourraient alors être renforcées.

4.3. Conclusion et perspectives

La méthodologie développée pour notre modèle d'étude, à savoir le Loup gris, est évidemment valable et applicable pour un grand nombre d'espèces terrestres et de milieux naturels. En effet, les modélisations cartographiques de la propagation du son reposent sur des paramétrages personnalisables concernant à la fois la zone d'étude (étendue, topographie, végétation, bruit ambiant, conditions météorologiques) et le son à étudier (fréquences, intensité). Cette méthode pourrait donc être adaptée et convenir à la détection ainsi qu'au suivi sur le long terme d'autres espèces de mammifères terrestres (e.g. Coyote - *Canis latrans* ; Cerf élaphe - *Cervus elaphus*) ou d'oiseaux (e.g. Grand-duc d'Europe - *Bubo bubo*) émettant des signaux de longue distance. Les informations biologiques récoltées grâce au suivi acoustique passif pourraient ainsi

grandement participer à l'amélioration des connaissances ainsi qu'à la conservation des espèces étudiées.

5. Remerciements

Nous remercions M. Clasquin, P. Germain, Dr A. Charbonnel et C. Botta pour leur aide sur le terrain. Nous remercions Météo-France qui, dans le cadre d'une licence « enseignement recherche », nous a fourni les données météorologiques des deux stations citées dans ce chapitre. De la même manière, nous remercions l'Institut National de l'Information Géographique (IGN) pour la mise à disposition des bases de données BD TOPO® et BD ALTI® (CGU « Recherche ou Enseignement »). Nous tenons également à remercier Dr A. Keyel pour ses conseils concernant l'utilisation de l'extension Sound Mapping Toolbox. Nous remercions également l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS) pour l'accès à la base de données Loup. Cette étude n'aurait pu être réalisée sans les autorisations et accords des municipalités, des gestionnaires de l'environnement (ONCFS, ONF, réserves naturelles, parcs naturels, etc.) et des propriétaires dans les zones d'étude que nous remercions également. Nous remercions les partenaires financiers : l'Union Européenne dans le cadre du Programme Opérationnel FEDER-FSE « Lorraine et Massif des Vosges 2014-2020 », le Commissariat à l'Aménagement du Massif des Vosges pour le FNADT (Fonds National d'Aménagement et de Développement du Territoire), la DREAL Grand Est (Direction Régionale pour l'Environnement, l'Aménagement et le Logement), la Région Grand Est, l'ANRT (Agence Nationale de la Recherche et de la Technologie, bourse CIFRE), le Zoo d'Amnéville et le Parc Animalier de Sainte Croix. Nous remercions également la Fondation Le Pal Nature pour son soutien financier complémentaire.

6. Références

- Ausband, D.E., Skrivseth, J. & Mbatesitchell, M.S. (2011) An automated device for provoking and capturing wildlife calls. *Wildlife Society Bulletin*, **35**, 498–503.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. & Walker, S. (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Stat Soft*, **67**, 1–48.
- Boitani, L. (2003) Wolf conservation and recovery. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press; p. 317-340.

- Bradbury, J.W. & Vehrencamp, S.L. (2011) Principles of Animal Communication. Sunderland: Sinauer Associates.
- Brenowitz, E.A. (1982) The active space of the red winged blackbird song. *Journal of Comparative Physiology*, **147**, 511-522.
- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (2002) *Model Selection and Multimodel Inference : A Practical Information-Theoretic Approach*. Springer.
- Chapron, G., Kaczensky, P., Linnell, J.D.C., von Arx, M., Huber, D., Andrén, H., López-bao, J.V. & Adamec, M. (2014) Recovery of large carnivores in Europe ' s modern human-dominated landscapes. *Science*, **346**, 1517–1519.
- Charif, RA, Waack, A. & Strickman, L. (2010) Raven Pro 1.4 User's Manual. , 1–379.
- Ciucci, P., Reggioni, W., Maiorano, L. & Boitani, L. (2009) Long-distance dispersal of a rescued Wolf from the Northern Apennines to the Western Alps. *Journal of Wildlife Management*, **73**, 1300–1306.
- Darras, K., Pütz, P., Fahrurrozi, Rembold, K. & Tschardtke, T. (2016) Measuring sound detection spaces for acoustic animal sampling and monitoring. *Biological Conservation*, **201**, 29–37.
- Dawson, D.K. & Efford, M.G. (2009) Bird population density estimated from acoustic signals. *Journal of Applied Ecology*, **46**, 1201–1209.
- Digby, A., Towsey, M., Bell, B.D. & Teal, P.D. (2013) A practical comparison of manual and autonomous methods for acoustic monitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, **4**, 675–683.
- ESRI. (2016) ArcGIS 10.4. ESRI, Redlands, USA.
- Fairbrass, A.J., Rennett, P., Williams, C., Titheridge, H. & Jones, K.E. (2017) Biases of acoustic indices measuring biodiversity in urban areas. *Ecological Indicators*, **83**, 169–177.
- Farina, A., Pieretti, N. & Morganti, N. (2013) Acoustic patterns of an invasive species: The Red-billed Leiothrix (*Leiothrix lutea* Scopoli 1786) in a Mediterranean shrubland. *Bioacoustics*, **22**, 175–194.
- Filibeck, U., Nicoli, M., Rossi, P. & Boscagli, G. (1982) Detection by frequency analyzer of individual wolves howling in a chorus: A preliminary report. *Bolletino di zoologia*, **49**, 151–154.
- Fritts, S.H., Stephenson, R.O., Hayes R.D. & Boitani, L. (2003) Wolves and humans. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press; p. 289–316.
- Frommolt, K.H. (2017) Information obtained from long-term acoustic recordings: applying

- bioacoustic techniques for monitoring wetland birds during breeding season. *Journal of Ornithology*, **158**, 659–668.
- Frommolt, K.-H. & Tauchert, K.-H. (2014) Applying bioacoustic methods for long-term monitoring of a nocturnal wetland bird. *Ecological Informatics*, **21**, 4–12.
- Fuller, T.K. & Sampson, B.A. (1988) Evaluation of a simulated howling survey for wolves. *The Journal of Wildlife Management*, **52**, 60–63.
- Gasc, A., Sueur, J., Pavoine, S., Pellens, R. & Grandcolas, P. (2013) Biodiversity sampling using a global acoustic approach: contrasting sites with microendemics in New Caledonia. *PLoS ONE*, **8**, e65311.
- Gazzola, A., Avanzinelli, E., Mauri, L., Scandura, M. & Apollonio, M. (2002) Temporal changes of howling in south European wolf packs. *Italian Journal of Zoology*, **69**, 157–161.
- Harrington, F.H. (1989) Chorus howling by wolves: acoustic structure, pack size and the Beau Geste Effect. *Bioacoustics*, **2**, 117–136.
- Harrington, F.H. & Asa, C.S. (2003) Wolf communication. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press; p. 66-103.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1978) Howling at two Minnesota wolf pack summer homesites. *Canadian Journal of Zoology*, **56**, 2024–2028.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1979) Wolf howling and its role in territory maintenance. *Behaviour*, **68**, 207–249.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1982) An analysis of howling response parameters useful for wolf pack censusing. *The Journal of Wildlife Management*, **46**, 686–693.
- Harrison, R.T., Clark, R.N. & Stankey, G.H. (1980) *Predicting Impact of Noise on Recreationists*. USDA Forest Service, Equipment Development Center.
- Heupel, M.R., Semmens, J.M. & Hobday, A.J. (2006) Automated animal tracking: scales, design and deployment of listening station arrays. *Marine and Freshwater Research*, **57**, 1–13.
- Huetz, C. & Aubin, T. (2012) Bioacoustics approaches to locate and identify animals in terrestrial environments. *Sensors for ecology*, 83–96.
- Job, J.R., Myers, K., Naghshineh, K. & Gill, S.A. (2016) Uncovering spatial variation in acoustic environments using sound mapping. *PLoS ONE*, **11**, e0159883.
- Joslin, P.W.B. (1967) Movements and homesites of timber wolves in Algonquin Park. *American Zoologist*, **7**, 279–288.

- Kalan, A.K., Piel, A.K., Mundry, R., Wittig, R.M., Boesch, C. & Kühl, H.S. (2016) Passive acoustic monitoring reveals group ranging and territory use: a case study of wild chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Frontiers in Zoology*, **13**, 34.
- Keyel, A.C., Reed, S.E., McKenna, M.F. & Wittemyer, G. (2017) Modeling anthropogenic noise propagation using the Sound Mapping Tools ArcGIS toolbox. *Environmental Modelling and Software*, **97**, 56–60.
- L'équipe animatrice du réseau. (2012) Du nouveau sur le front de colonisation Vosgien et Franc-comtois. Bulletin Loup du réseau, **27**, 2.
- L'équipe animatrice du réseau. (2017) Les données du réseau. Bulletin Loup du réseau, **36**, 16-27.
- Lameira, A.R. & Wich, S.A. (2008) Orangutan long call degradation and individuality over distance: a playback approach. *International Journal of Primatology*, **29**, 615–625.
- Laurent, A. (2014a) Une meute d'au moins 4 loups installée dans les Vosges. Bulletin Loup du réseau, **30**, 5.
- Laurent, A. (2014b) Nouveaux indices de présence du loup en Meuse. Bulletin Loup du réseau, **31**, 2.
- Lellouch, L., Pavoine, S., Jiguet, F., Glotin, H. & Sueur, J. (2014) Monitoring temporal change of bird communities with dissimilarity acoustic indices. *Methods in Ecology and Evolution*, **5**, 495–505.
- Llusia, D., Márquez, R. & Bowker, R. (2011) Terrestrial sound monitoring systems, a methodology for quantitative calibration. *Bioacoustics*, **20**, 277–286.
- Longis, S., Leonard, Y., Sèbe, F. & Duchamp, C. (2004) Test de la méthode du hurlement provoqué. *Compte rendu suivi estival du loup 2004*, 1–4.
- Marques, T.A., Thomas, L., Martin, S.W., Mellinger, D.K., Ward, J.A., Moretti, D.J., Harris, D. & Tyack, P.L. (2013) Estimating animal population density using passive acoustics. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **88**, 287–309.
- Mathews, A.J., Haffner, M. & Ellis, E.A. (2017) GIS-based modeling of tornado siren sound propagation: Refining spatial extent and coverage estimations. *International Journal of Disaster Risk Reduction*, **23**, 36–44.
- McGregor, P.K., Catchpole, C.K., Dabelsteen, T., Falls, J.B., Fusani, L., Gerhardt, H.C., Gilbert, F., Horn, A.G., Klump, G.M., Kroodsma, D.E., Lambrechts, M.M., McComb, K.E., Nelson, D.A., Pepperberg, I.M., Ratcliffe, L., Searcy, W.A. & Weary, D.M. (1992) Design of playback experiments: the Thornbridge hall nato arw consensus. *Playback and studies of animal communication, Springer US*, 1–9.

- Mech, L.D. (2017) Where can wolves live and how can we live with them? *Biological Conservation*, **210**, 310–317.
- Mech, D.L. & Boitani, L. (2003) Wolf social ecology. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: Behavior, Ecology, and Conservation*. Chicago: University of Chicago Press; p. 35–65.
- Mennill, D.J., Battiston, M., Wilson, D.R., Foote, J.R. & Doucet, S.M. (2012) Field test of an affordable, portable, wireless microphone array for spatial monitoring of animal ecology and behaviour. *Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 704–712.
- Mennill, D.J., Burt, J.M., Fristrup, K.M. & Vehrencamp, S.L. (2006) Accuracy of an acoustic location system for monitoring the position of duetting songbirds in tropical forest. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **119**, 2832–2839.
- Merchant, N.D., Fristrup, K.M., Johnson, M.P., Tyack, P.L., Witt, M.J., Blondel, P. & Parks, S.E. (2015) Measuring acoustic habitats. *Methods in Ecology and Evolution*, **6**, 257–265.
- Nowak, S., Jędrzejewski, W., Schmidt, K., Theuerkauf, J., Mysłajek, R.W. & Jędrzejewska, B. (2007) Howling activity of free-ranging wolves (*Canis lupus*) in the Białowieża Primeval Forest and the Western Beskid Mountains (Poland). *Journal of Ethology*, **25**, 231–237.
- Obrist, M.K., Pavan, G., Sueur, J., Riede, K., Llusia, D. & Márquez, R. (2010) Bioacoustics approaches in biodiversity inventories. *Manual on Field Recording Techniques and Protocols for All Taxa Biodiversity Inventories*, pp. 68–99.
- Palacios, V., Font, E. & Marquez, R. (2007) Iberian wolf howls: acoustic structure, individual variation, and a comparison with north american populations. *Journal of Mammalogy*, **88**, 606–613.
- Palacios, V., López-Bao, J.V., Llaneza, L. & Fernández, C. (2016) Decoding group vocalizations : The acoustic energy distribution of chorus howls is useful to determine wolf reproduction. *PLoS ONE*, **11**, e0153858.
- Papin, M., Pichenot, J., Guérol, F. & Germain, E. (2018) Acoustic localization at large scales : a promising method for grey wolf monitoring. *Frontiers in Zoology*, **15**.
- Passilongo, D., Mattioli, L., Bassi, E., Szabó, L. & Apollonio, M. (2015) Visualizing sound: counting wolves by using a spectral view of the chorus howling. *Frontiers in Zoology*, **12**, 12–22.
- R Development Core Team. (2014) R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Reed, S.E., Boggs, J.L. & Mann, J.P. (2010) SPreAD-GIS: an ArcGIS toolbox for modeling the propagation of engine noise in a wildland setting. *The Wilderness Society*, 1–27.

- Reed, S.E., Boggs, J.L. & Mann, J.P. (2012) A GIS tool for modeling anthropogenic noise propagation in natural ecosystems. *Environmental Modelling and Software*, **37**, 1–5.
- De Reu, J., Bourgeois, J., Bats, M., Zwertvaegher, A., Gelorini, V., de Smedt, P., Chu, W., Antrop, M., de Maeyer, P., Finke, P., Van Meirvenne, M., Verniers, J. & Crombé, P. (2013) Application of the topographic position index to heterogeneous landscapes. *Geomorphology*, **186**, 39–49.
- Richards, D.G. & Wiley, R.H. (1980) Reverberations and amplitude fluctuations in the propagation of sound in a forest: implications for animal communication. *The American Naturalist*, **115**, 381–399.
- Rigg, R., Findo, S., Wechselberger, M., Gorman, M.L., Sillero-Zubiri, C. & Macdonald, D.W. (2011) Mitigating carnivore–livestock conflict in Europe: lessons from Slovakia. *Oryx*, **45**, 272–280.
- Rocha, L.H.S., Ferreira, L.S., Paula, B.C., Rodrigues, F.H.G. & Sousa-Lima, R.S. (2015) An evaluation of manual and automated methods for detecting sounds of maned wolves (*Chrysocyon brachyurus* Illiger 1815). *Bioacoustics*, **24**, 185–198.
- Rodriguez, A., Gasc, A., Pavoine, S., Grandcolas, P., Gaucher, P. & Sueur, J. (2014) Temporal and spatial variability of animal sound within a neotropical forest. *Ecological Informatics*, **21**, 133–143.
- Root-Gutteridge, H., Bencsik, M., Chebli, M., Gentle, L.K., Terrell-nield, C., Bourit, A. & Yarnell, R.W. (2014) Improving individual identification in captive Eastern grey wolves (*Canis lupus lycaon*) using the time course of howl amplitudes. *Bioacoustics*, **23**, 1–15.
- Sèbe, F., Heintz, N., Latini, R. & Aubin, T. (2004) Le wolf howling: un outil pour le recensement et la conservation des loups. Possibilités et limites de la méthode. *Colloque Grands Prédateurs et Pastoralisme*, pp. 53–59.
- Shonfield, J. & Bayne, E.M. (2017) Autonomous recording units in avian ecological research: current use and future applications. *Avian Conservation and Ecology*, **12**, art14.
- Sing, T., Sander, O., Beerenwinkel, N., Lengauer T. (2005) ROCR: visualizing classifier performance in R. *Bioinformatics*, **21**, 3940–3941.
- Spillmann, B., van Noordwijk, M.A., Willems, E.P., Mitra Setia, T., Wipfli, U. & Van Schaik, C.P. (2015) Validation of an acoustic location system to monitor Bornean orangutan (*Pongo pygmaeus wurmbii*) long calls. *American Journal of Primatology*, **77**, 767–776.
- Sueur, J., Aubin, T. & Simonis, C. (2008) Seewave, a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*, **18**, 213–226.
- Sueur, J., Gasc, A., Grandcolas, P. & Pavoine, S. (2012) Global estimation of animal diversity

- using automatic acoustic sensors. *Sensors for Ecology: Towards integrated knowledge of ecosystems*, 101–119.
- Suter, S.M., Giordano, M., Nietlispach, S., Apollonio, M. & Passilongo, D. (2016) Non-invasive acoustic detection of wolves. *Bioacoustics*, **26**, 237–248.
- Swiston, K.A. & Mennill, D.J. (2009) Comparison of manual and automated methods for identifying target sounds in audio recordings of Pileated, Pale-billed, and putative Ivory-billed woodpeckers. *Journal of Field Ornithology*, **80**, 42–50.
- Tooze, Z.J., Harrington, F.H. & Fentress, J.C. (1990) Individually distinct vocalizations in timber wolves, *Canis lupus*. *Animal Behaviour*, **40**, 723–730.
- Turgeon, P.J., Van Wilgenburg, S.L. & Drake, K.L. (2017) Microphone variability and degradation: implications for monitoring programs employing autonomous recording units. *Avian Conservation and Ecology*, **12**, art9.
- Ulloa, J.S., Gasc, A., Gaucher, P., Aubin, T., Réjou-Méchain, M. & Sueur, J. (2016) Screening large audio datasets to determine the time and space distribution of Screaming Piha birds in a tropical forest. *Ecological Informatics*, **31**, 91–99.
- Wiley, R.H. & Richards, D.G. (1978) Physical constraints on acoustic communication in the atmosphere: Implications for the evolution of animal vocalizations. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **3**, 69–94.
- Wiley, R. & Richards, D. (1982) Adaptations for acoustic communication in birds: sound transmission and signal detection. *Acoustic communication in birds* (eds D.E. Kroodsma, E.H. Miller, & H. Ouellet), pp. 131–181. Academic press.
- Wimmer, J., Towsey, M., Planitz, B., Roe, P. & Williamson, I. (2010) Scaling acoustic data analysis through collaboration and automation. *Proceedings - 2010 6th IEEE International Conference on e-Science, eScience 2010*, pp. 308–315.
- Zaccaroni, M., Passilongo, D., Buccianti, A., Dessì-Fulgheri, F., Facchini, C., Gazzola, A., Maggini, I. & Apollonio, M. (2012) Group specific vocal signature in free-ranging wolf packs. *Ethology Ecology & Evolution*, **24**, 322–331.
- Zhang, L., Towsey, M., Zhang, J. & Roe, P. (2016) Computer-assisted sampling of acoustic data for more efficient determination of bird species richness. *Proceedings - 15th IEEE International Conference on Data Mining Workshop, ICDMW 2015*, pp. 798–805.



CHAPITRE 2

La localisation acoustique à grande
échelle : une méthode prometteuse
pour le suivi du loup gris

Chapitre 2 : La localisation acoustique à grande échelle : une méthode prometteuse pour le suivi du Loup gris

Acoustic localization at large scales: a promising method for Grey wolf monitoring

Morgane PAPIN^{1,2}, Julian PICHENOT³, François GUÉROLD² & Estelle GERMAIN^{1*}

¹ Centre de Recherche et d'Observation sur les Carnivores (CROC), 4 rue de la banie, 57590 Lucy, France

² Université de Lorraine, CNRS, Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux, F-57000 Metz, France

³ Biologiste Écologue Consultant (BEC), 8A rue principale, 57590 Fonteny, France

* Corresponding author: Estelle GERMAIN, Centre de Recherche et d'Observation sur les Carnivores (CROC), 4 rue de la banie, 57590 Lucy, France, estelle.germain@croc-asso.org

Abstract

Background: The Grey wolf (*Canis lupus*) is naturally recolonizing its former habitats in Europe where it was extirpated during the previous two centuries. The management of this protected species is often controversial and its monitoring is a challenge for conservation purposes. However, this elusive carnivore can disperse over long distances in various natural contexts, making its monitoring difficult. Moreover, methods used for collecting signs of presence are usually time-consuming and/or costly. Currently, new acoustic recording tools are contributing to the development of passive acoustic methods as alternative approaches for detecting, monitoring, or identifying species that produce sounds in nature, such as the Grey wolf. In the present study, we conducted field experiments to investigate the possibility of using a low-density microphone array to localize wolves at a large scale in two contrasting natural environments in north-eastern France. For scientific and social reasons, the experiments were based on a synthetic sound with similar acoustic properties to howls. This sound was broadcast at several sites. Then, localization estimates and the accuracy were calculated. Finally, linear mixed-effects models were used to identify the factors that influenced the localization accuracy. **Results:** Among 354 nocturnal broadcasts in total, 269 were recorded by at least one autonomous recorder, thereby demonstrating the potential of this tool. Besides, 59 broadcasts were recorded by at least four microphones and used for acoustic localization. The broadcast

sites were localized with an overall mean accuracy of 315 ± 617 (standard deviation) m. After setting a threshold for the temporal error value associated with the estimated coordinates, some unreliable values were excluded and the mean accuracy decreased to 167 ± 308 m. The number of broadcasts recorded was higher in the lowland environment, but the localization accuracy was similar in both environments, although it varied significantly among different nights in each study area.

Conclusions: Our results confirm the potential of using acoustic methods to localize wolves with high accuracy, in different natural environments and at large spatial scales. Passive acoustic methods are suitable for monitoring the dynamics of Grey wolf recolonization and so, will contribute to enhance conservation and management plans.

Key-words: acoustic monitoring, autonomous recorders, *Canis lupus*, field research, localization estimation, microphone array, wolf howl

1. Introduction

Passive acoustic monitoring is being used increasingly to study species that produce sounds in their natural environments (e.g. vocalizations and stridulations – Blumstein et al. 2011). The current protocols based on passive acoustics methods allow the study of elusive and/or nocturnal species that live in harsh environments (e.g. dangerous access, thick vegetation or limited visibility – Mennill et al. 2012; Borker et al. 2015; Ulloa et al. 2016). These protocols are focused on species detection (Bardeli et al. 2010), density estimation (Dawson & Efford, 2009; Marques et al. 2013), territory use (Kalan et al. 2016), and localization (Mennill et al. 2006; Griffin et al. 2015). They are not technically limited to a time period, non-invasive and so, avoid interference with animal behavior in contrast to other monitoring methods (e.g. direct capture or the intrusive presence of observers in the field – Mennill et al. 2012; Bradbury & Vehrencamp, 1998). Passive acoustics may also help to reduce the time and human resources required in the field (Hartwig, 2005; Palacios et al. 2016). These main features of passive acoustics suggest that this interesting approach could be employed for monitoring elusive species that require conservation or management plans, such as the Grey wolf (*Canis lupus*).

During the two last centuries, the Grey wolf was extirpated in many areas throughout Europe and North America (Boitani, 2003). In Europe, the species is now legally protected by the Bern Convention (1979) and the Habitats Directive (1992). As a consequence, wolves have been recolonizing their former areas in recent decades (Boitani, 2003; Valière et al. 2003). However,

conflicts emerge with humans where their ranges overlap with human settlement and agriculture mainly due to the predation on livestock (Muhly & Musiani, 2009; Rigg et al. 2011). Thus, understanding and monitoring the expansion of the Grey wolf's range is important for preventing or mitigating conflicts as well as for conservation and management purposes. However, the monitoring of wolves is still challenging in the field because it is a wide-ranging habitat generalist, which lives at low densities and is often secretive and elusive (Latham et al. 2014; Louvrier et al. 2017). Moreover, the conventional methods used for detecting the presence of grey wolves and estimating their number and population dynamics can be very time-consuming and costly.

Studying howls may be a powerful approach for monitoring Grey wolf populations, especially in the summer and during the mating season when howls are produced widely (Harrington & Mech, 1979; Gazzola et al. 2002; Nowak et al. 2007). For instance, wolf howls can allow scientific and wildlife managers to identify a pack due to their acoustic structure (Passilongo et al. 2010; Zaccaroni et al. 2012). In addition, several studies performed in captivity have shown that wolf has individual vocal signature (Tooze et al. 1990; Palacios et al. 2007; Root-Gutteridge et al. 2014; Papin et al. 2015). Other studies have highlighted the potential use of bioacoustics for detecting wolves (Suter et al. 2016) as well as for counting them (Filibeck et al. 1982; Harrington, 1989; Sèbe et al. 2004; Papin et al. 2015; Passilongo et al. 2015) or detecting reproduction events (Palacios et al. 2016). The results of these studies support the possibility of using acoustics for monitoring wolves in the wild. However, to our knowledge, very few studies have employed passive acoustics for monitoring wolves (e.g. Suter et al. 2016) and none for localizing them.

In the present study, we conducted field experiments to investigate the possibility of using a low-density microphone array to localize wolves at a large scale in two areas located in the colonization front of the species in north-eastern France (L'équipe animatrice du réseau, 2012, 2017; Laurent, 2014a,b). For scientific and social reasons, the experiments were based on a synthetic sound with similar acoustic properties to wolf howls. As these areas were characterized by two contrasting environmental contexts (mid-mountain and lowland), the synthetic sound was broadcast at several sites defined according to a stratified sampling technique based on topography and land-use. We calculated localization estimates and the accuracy. Finally, we identified the parameters and biases that influenced the localization accuracy.

2. Materials and methods

2.1. Study areas

The study was conducted in two different areas located in the colonization front of Grey wolf in north-eastern France (**Figure 1**). The first study area was located in a mid-mountain environment in the Massif des Vosges (VM), where the presence of a wolf pack (at least two individuals) has been attested since 2011 (L'équipe animatrice du réseau, 2012, 2017; Laurent, 2014a). This area is covered by mainly herbaceous vegetation (22%), shrub (51%), and coniferous forest (27%), and the altitude ranges from 518 to 1305 m above sea level (mean: 930 m).

The second study area was located in the Côtes de Meuse (CM) at altitude ranging from 247 to 381 m above sea level (mean: 329 m), where the presence of the Grey wolf was observed in 2012 (Laurent, 2014b). The area is covered mainly by deciduous forest (90%) and open land with herbaceous vegetation accounts for only 10% of the area.

The Grey wolf howls throughout the year but the periods with the most frequent howling activity are the breeding season (January to April: Harrington & Mech, 1979) and the months following the birth of pups (August to October: Gazzola et al. 2002). Thus, this study was conducted during August 2015 in VM and August 2016 in CM. These periods also coincided with good conditions for access to the study areas.

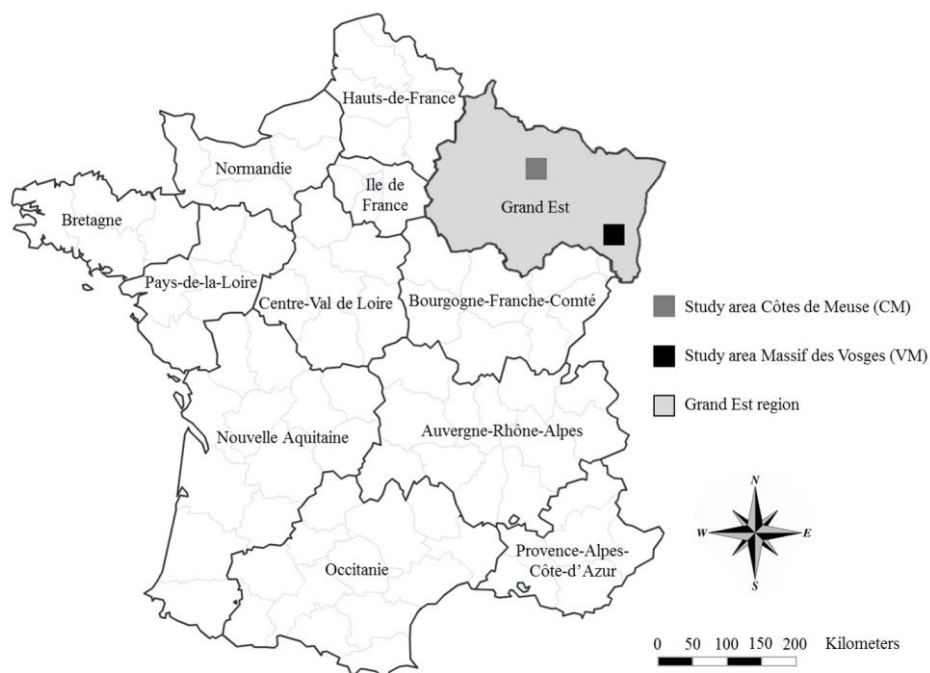


Figure 1: Locations of the two study areas in north-eastern France.

2.2. Sampling methods and microphone arrays

Twenty autonomous recorders were placed on a systematic grid with an area of 30 km² (6 × 5 km; **Figure 2**) at a regular spacing of 1 km, conducting to a relatively low recorder density (0.67 recorders per km²) for both study areas. The automatic recording units employed were Wildlife Acoustics Song Meters (model: SM3; Wildlife Acoustics Inc., Concord, MA, USA) with two built-in omnidirectional microphones (SM3-A1, bandpass: 20–20000 Hz, frequency response: 20–20000 Hz ± 10 dB). All of the recorders were associated with a global positioning system (GPS) unit (Garmin International Inc., Olathe, KS, USA) to synchronize their clock time automatically with high precision. The recorders collected 40 acoustic information channels in stereo using 16-bit .wav files at a sampling rate of 16000 Hz. The recorders were programmed to operate from 8:55 PM to 8:54 AM and to generate 59-min files separated by a break of 1 min (ensure time synchronization). The gain was set to 24 dB for each channel.

The recorders were fixed to tree trunks at a height of 2.88 ± 0.49 m (mean ± standard deviation [SD]). Their locations were measured with a Trimble GPS (model: Juno 5B EGPS, real-time accuracy: 2–4 m; Trimble Navigation Limited, Sunnyvale, CA, USA).

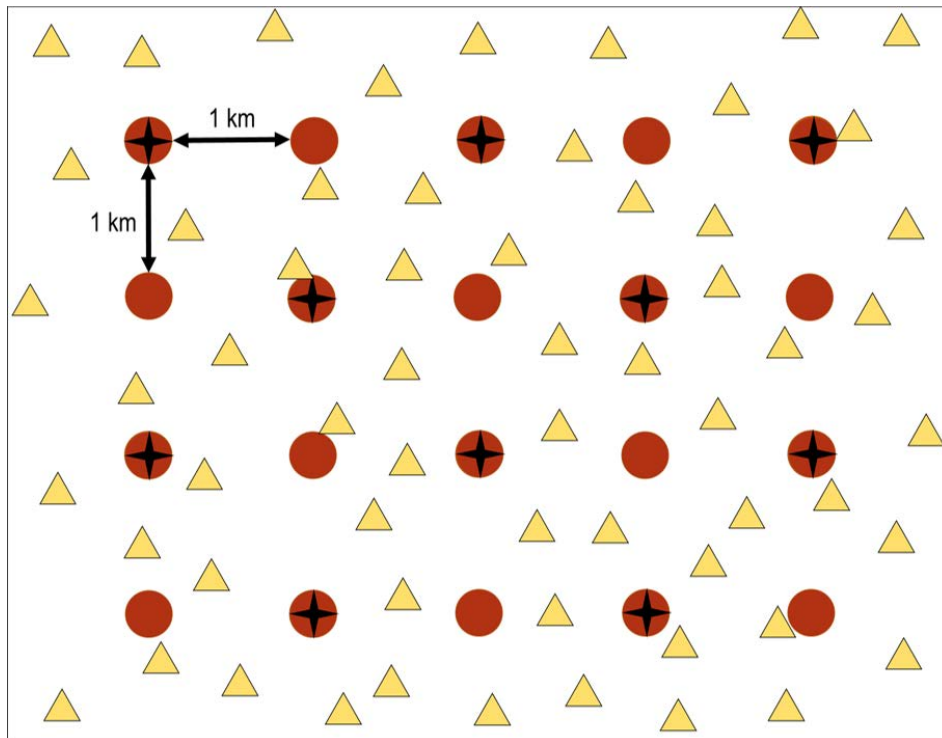


Figure 2: Sampling method employed in each study area. Red circles: autonomous recorders (20). Black stars: dataloggers (10). Yellow triangles: broadcast sites (60).

2.3. Broadcast sites and periods

In each study area, 60 broadcast sites were randomly distributed by stratified sampling according to the topography using the “*Topographic Position Index*” (Reed et al. 2010, 2012; De Reu et al. 2013) and land-use using the “*Corine Land Cover*” code (European Union – SoeS, Corine Land Cover 2006) with QGIS software (version 2.8.1: QGIS Development Team, 2014). The sites located away from roads were then moved to the closest road to allow access with a vehicle. The spatial sampling of the broadcast sites in terms of the distances to the autonomous recorders was similar in the two study areas (z-test: $z = -1.8180$, $\alpha = 0.05$).

The sound was broadcast during three consecutive nights from 9 PM to 6 AM, where each night was divided into three periods (dusk: 9 PM to 12 AM; night: 12 AM to 3 AM; dawn: 3 AM to 6 AM). For each night, a different itinerary was used so that each broadcast site was visited once during the three different periods. All of the broadcast sites locations were measured using the Trimble GPS.

2.4. Synthetic sound and broadcast equipment

As the study of large carnivores is a sensitive subject (Rigg et al. 2011; Mech, 2017), we chose to use a synthetic sound with similar acoustic properties to wolf howls rather than using real howls. This sound also permitted to exclude the effects of wolves’ individual acoustic characteristics (Theberge & Falls, 1967; Tooze et al. 1990; Palacios et al. 2007; Root-Gutteridge et al. 2014; Papin et al. 2015). It was created with the Seewave package (Sueur et al. 2008) in R software (version 3.1.2). The sound comprised mixed pure tones of 7 s with fundamental frequencies ranging from 300 to 1000 Hz, which was accompanied by four harmonics that covered a wide range of the frequencies that can be found in wolf howls (Harrington & Mech, 1979; Papin et al. 2015; Harrington & Asa, 2003).

The sound was broadcast from four directional loudspeakers (model: MSH 30/BT, bandpass: 90–20000 Hz, output: 50 W at 8 Ω ; Work Pro CA, Valencia, Spain) connected to a mixing amplifier (model: PA 90/2 USB, frequency response: 80–18000 Hz $\pm$ 3 dB; output: 30 W RMS; Work Pro CA) and a 12 V battery. The loudspeakers were attached to a car roof. During each broadcast, a digital sound level meter was employed to control the intensity level at 1 m (model: FI 70SD, bandpass: 31.5–8000 Hz, frequency response: 8000 Hz $\pm$ 5.6 dB, settings: fast response, A-weighting; Distrame S.A, Sainte-Savine, France).

2.5. Meteorological context

The nights were selected according to the optimal meteorological conditions for acoustic experimentation, i.e. very low wind speed and no rainfall. The wind speed was measured for 1 min at each broadcast site with an anemometer (model: WS9500; La Crosse Technology, Geispolsheim, France) and it was always less than 2 m.s^{-1} . In addition, 10 weather dataloggers (model: DT-174B; Center for Educational Measurement Inc., Makati, Philippines) were installed below 10 recorders to record the air temperature every 2 min (**Figure 2**). The temperature data acquired by all of the dataloggers were averaged per night period and per night. They were used subsequently to calculate the speed of sound during the nocturnal broadcast period, which was required for localization estimation.

2.6. Analysis of recordings and localization estimates

The two channels in all of the recordings were analyzed with Raven Pro software to detect the synthetic sound (version 1.5: Charif et al. 2010; Spectrogram view preset: Hann, 1024 samples, 90% overlap). We used the Sound Finder package in R software for localization estimation (see Wilson et al. 2014). This free tool has a higher accuracy than other software (Wilson et al. 2014). To estimate the localization of a sound, the algorithm in this package requires the time of arrival (TOA) of sound to at least four microphones, the temperature (mean temperature in the study area during the night period), and the coordinates of the microphones. Among the two microphones on each recorder that recorded the sound (ideally four different recorders), we chose that with the best signal-to-noise ratio. When the sound was recorded by only three different recorders, the second microphone on the recorder with the best signal-to-noise ratio was used to obtain a total of four microphones. As the signal-to-noise ratio was too low to use cross-correlation or automatic detection algorithms, the TOA were measured manually based on the spectrogram view (**Figure 3**). The TOA measures were repeated three times and then averaged.

Sound Finder was used to estimate the coordinates of the broadcast sites as well as the temporal error values. The temporal error is defined as the root-mean-squared error of the combined discrepancies between the theoretical and observed delays in the TOA for each pair of microphones (Wilson et al. 2014). It was used to evaluate the reliability of the localization estimates, where perfect localization had a temporal error of 0 ms.

The distance between the estimated localization (coordinates given by Sound Finder) and the actual broadcast site position (coordinates given by the GPS) corresponded to the localization accuracy. It was calculated using the distance matrix tool in QGIS software.

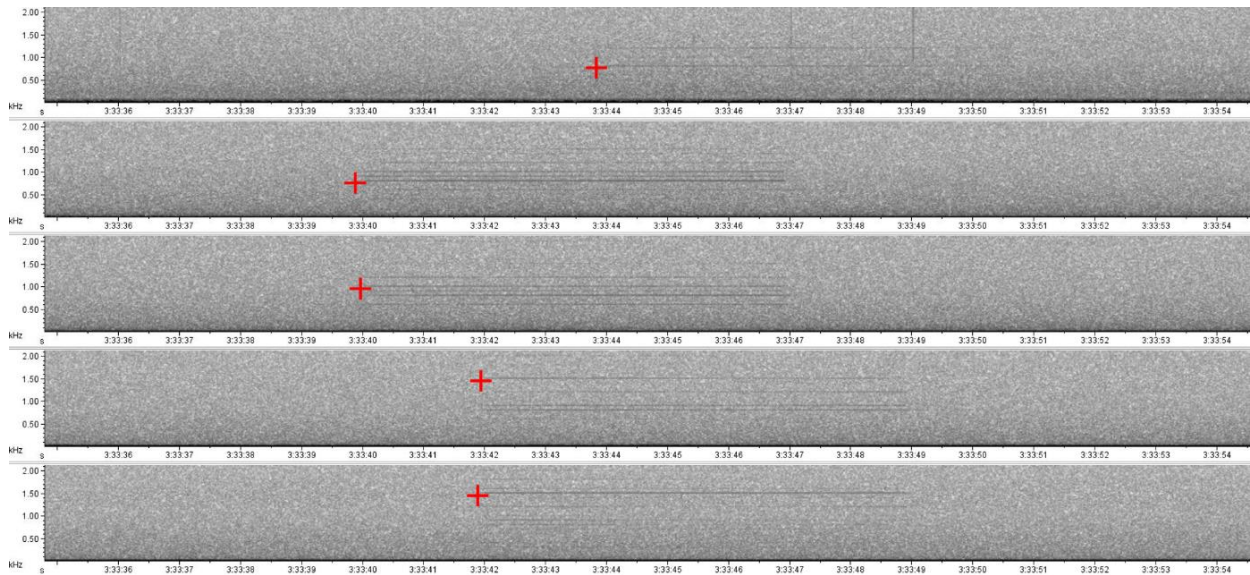


Figure 3: Time of arrival (TOA) measures based on a spectrogram obtained using Raven Pro software. Spectrogram view preset: Hann, 1024 samples, 90% overlap, time window length of 21.5 s, frequency range from 0 to 2000 Hz, greyscale color. Red crosses: pointers placed at the start positions detected in the broadcast sound signal.

2.7. Statistical analysis

All of the statistical analyses were conducted with R software (version 3.1.2: R Development Core Team, 2014) and results were considered to be statistically significant when $P \leq 0.05$. All of the values were reported as the mean $\pm$ SD.

Linear mixed-effects models (lmer function in the lme4 package: Bates et al. 2015) were used to identify parameters that influenced the localization accuracy (“*loc_accuracy*”). All combinations of the fixed effects and their interactions were used to construct the models. The four fixed effects (see **Figure 4**) comprised the microphones area (“*areamic*” in m²), the distance between the microphones area centroid and the broadcast site (“*dist*” in m), the broadcast period (dusk, night, or dawn: “*period*”), and the broadcast site position compared with the microphones area (in or out: “*inout*”). Given our data structure, random effect was built as a nested random effect because the data came from two study areas (VM or CM: “*array*”) on three nights (N1, N2, or N3: “*night*”) and in three broadcast periods.

The best model was selected according to the lowest Akaike’s information criterion (AIC – Burnham & Anderson, 2002). The significance of fixed effects was tested using one-way

analysis of variance (anova function in the MASS package: Venables & Ripley, 2002) and random effect with the restricted likelihood ratio test (exactRLRT function in the RLRsim package: Scheipl et al. 2008).

3. Results

3.1. Broadcasts

In VM, two sites were excluded from the study because they were too dangerous to access during field nights. Thus, the synthetic sound was broadcast 174 times in VM and 180 times in CM with a total of 354 broadcasts. The broadcast sound amplitude remained constant during the three nights with a mean sound intensity level at 1 m of 115.04 ± 3.07 dBA in VM and 116.53 ± 3.59 dBA in CM. These values are close to the natural amplitude of wolf howls (Suter et al. 2016; MP *unpublished observations*).

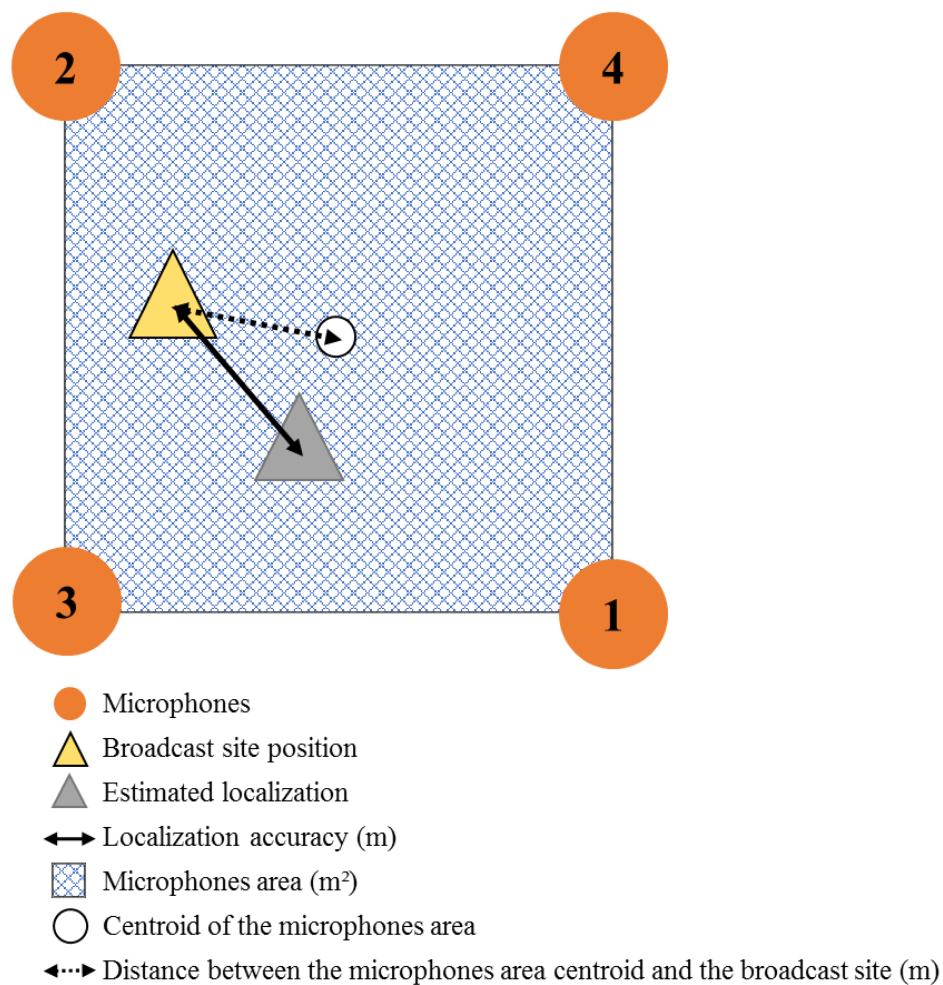


Figure 4: Representation of fixed effects when the broadcast site was positioned in the microphones area.

3.2. Effectiveness of the recorders

All of the autonomous recorders were functional so the effectiveness of the experiments was 100%, with nearly 1200 h of acoustic recordings. According to visual and audio inspections of the recordings, 269 broadcasts were recorded by at least one autonomous recorder. In total, 101 broadcasts were recorded by one recorder (56 in VM and 45 in CM), 85 by two (36 in VM and 49 in CM), 55 by three (25 in VM and 30 in CM), 21 by four (three in VM and 18 in CM), and seven by five only in CM.

3.3. TOA measures

The distances separating the broadcast sites and autonomous recorders ranged from 67 to 3595 m in CM and from 144 to 2751 m in VM. For several recordings, measures of the TOA were impossible to achieve because the signal-to-noise ratio was very low or the synthetic sound was only partially recorded and/or conspicuous. Thus, some recordings could not be included in the analysis. Finally, 59 broadcasts (17%), i.e. 14 in VM (8%) and 45 in CM (25%), recorded by at least four microphones were used for acoustic localization.

3.4. Localization estimation

Localization estimates were calculated for the 59 broadcast sites (14 in VM and 45 in CM). The mean localization accuracy was about 315 ± 617 m and the mean temporal error was 685.57 ± 2049.73 ms ($N = 59$; **Table 1**). All of the usable broadcast sites in VM were located out of the microphones area whereas in CM, 28 were “out” and 17 were “in”. The mean distance between the microphones area centroid and the broadcast site was about 656.55 ± 422.09 m. The mean microphones area was 746823 ± 342362 m² ($N = 59$).

There was a positive correlation between the localization accuracy and the temporal error value (Pearson’s correlation coefficient, $r = 0.83$, $P < 0.001$; **Figure 5**), which indicated that the localization accuracy decreased when the temporal error increased. Based on this relationship, we identified a threshold in the temporal error above which the estimates were unreliable. After setting this reliability threshold to 200 ms, six inaccurate data (two in VM and four in CM) with high localization accuracy values (ranging between 534 and 3083 m) were excluded (see **Figure 5**). The mean localization accuracy was then 167 ± 308 m ($N = 53$; **Table 1**). Considering the error threshold, all of the remaining data had accuracies less than 400 m, except three values having high localization accuracy and low temporal error values. These three aberrant data were

excluded from the dataset used in the analysis of parameters influencing the localization accuracy.

Table 1: Localization accuracy and temporal error values estimated with Sound Finder. (a) With all localization estimations. (b) According to the 200 ms error reliability threshold.

Study area	Localization accuracy (m)			Temporal error (ms)			N
	Mean $\pm$ SD	Min	Max	Mean $\pm$ SD	Min	Max	
(a)							
VM	442 $\pm$ 597	28	1987	903.37 $\pm$ 2321.32	1.60	7865.69	14
CM	276 $\pm$ 625	1	2983	617.81 $\pm$ 1981.50	0.21	9389.91	45
Total	315 $\pm$ 617	1	2983	685.57 $\pm$ 2049.73	0.21	9389.91	59
(b)							
VM	316 $\pm$ 540	28	1987	29.67 $\pm$ 32.08	1.60	118.00	12
CM	123 $\pm$ 185	1	937	42.03 $\pm$ 53.29	0.21	189.84	41
Total	167 $\pm$ 308	1	1987	39.23 $\pm$ 49.29	0.21	198.84	53

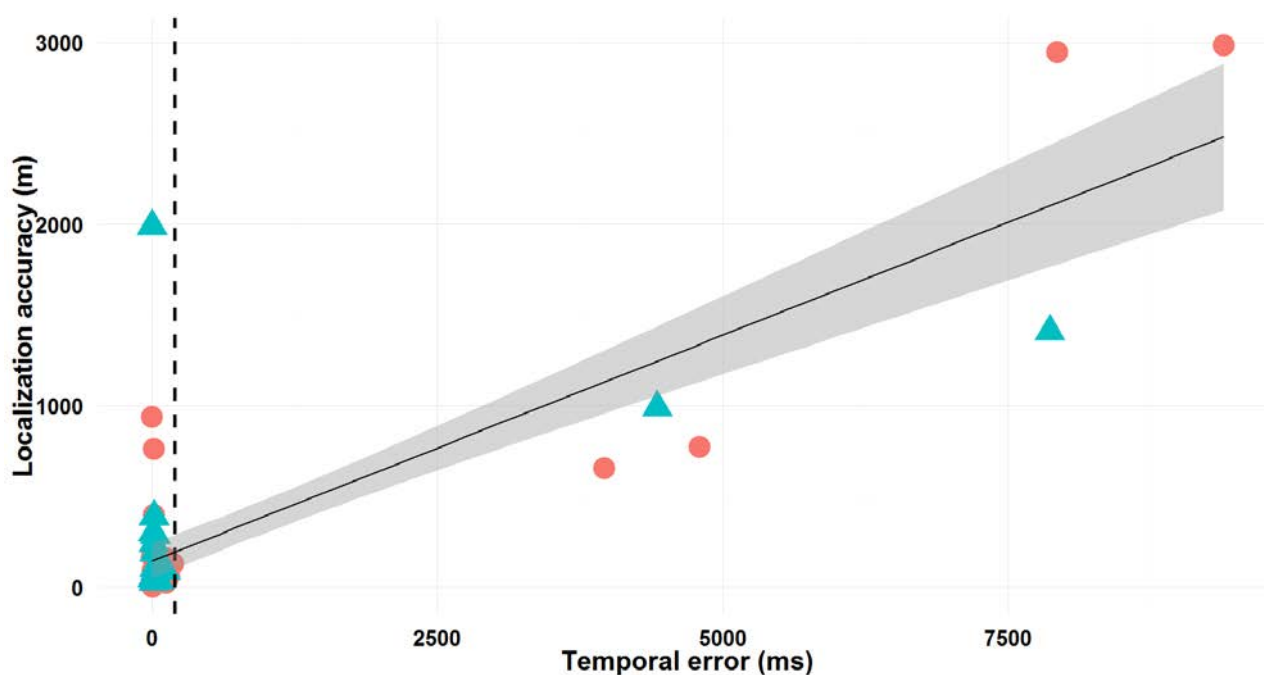


Figure 5: Relationship between the localization accuracy and temporal error in both study areas. Pearson's correlation coefficient: $r = 0.83$, $P < 0.001$, $N = 59$. Vertical dotted line: 200 ms reliability threshold for the temporal error. Blue triangles: VM. Red circles: CM.

3.5. Parameters that influenced the localization accuracy

Eleven linear mixed-effects models were built in order to identify the parameters that influenced the localization accuracy (**Table 2**). Among the four fixed effects, only the broadcast site position relative to the microphones area (in or out) was not tested because both conditions were not present in VM (all sites positions were out). The mixed-model with the fixed effect “*dist*” had the lowest AIC (i.e. “m2”: AIC = 591.35). Thus, the distance between the microphones area centroid and the broadcast site significantly affected the localization accuracy ($\chi^2(1) = 11.27, P < 0.001$). In particular, the localization accuracy was lower when the broadcast site was far from the microphones area centroid (estimate $\pm$ SE: 0.14 ± 0.04 m).

Table 2: Linear mixed-effects models used to identify parameters that influenced the localization accuracy. Models were built with fixed effects alone, summed (“+”) and with interactions (“*”). The nested random effect was similar for all of the models (see “m0”). Akaike’s information criterion (AIC) was calculated to select the best statistical model, i.e. the “m2” model.

Models			
Name	Fixed effects	Random effect	AIC
m0	1	(1 array)+(1 array:night)+(1 array:night:period)	600.62
m1	period		604.35
m2	dist		591.35
m3	areamic		602.62
m4	period+dist		594.98
m4.int	period*dist		591.70
m5	period+areamic		606.31
m5.int	period*areamic		604.10
m6	dist+areamic		593.26
m6.int	dist*areamic		594.79
mc	period+dist+areamic		596.95

Considering the random effect in the selected model, the localization accuracy did not vary between the two study areas (restricted likelihood ratio test [RLRT] = 0.06, $P > 0.05$) and there was no effect of period (RLRT = 0.05, $P > 0.05$). However, the localization accuracy varied significantly among the different nights inside each study area (RLRT = 4.53, $P < 0.05$; **Figure 6**).

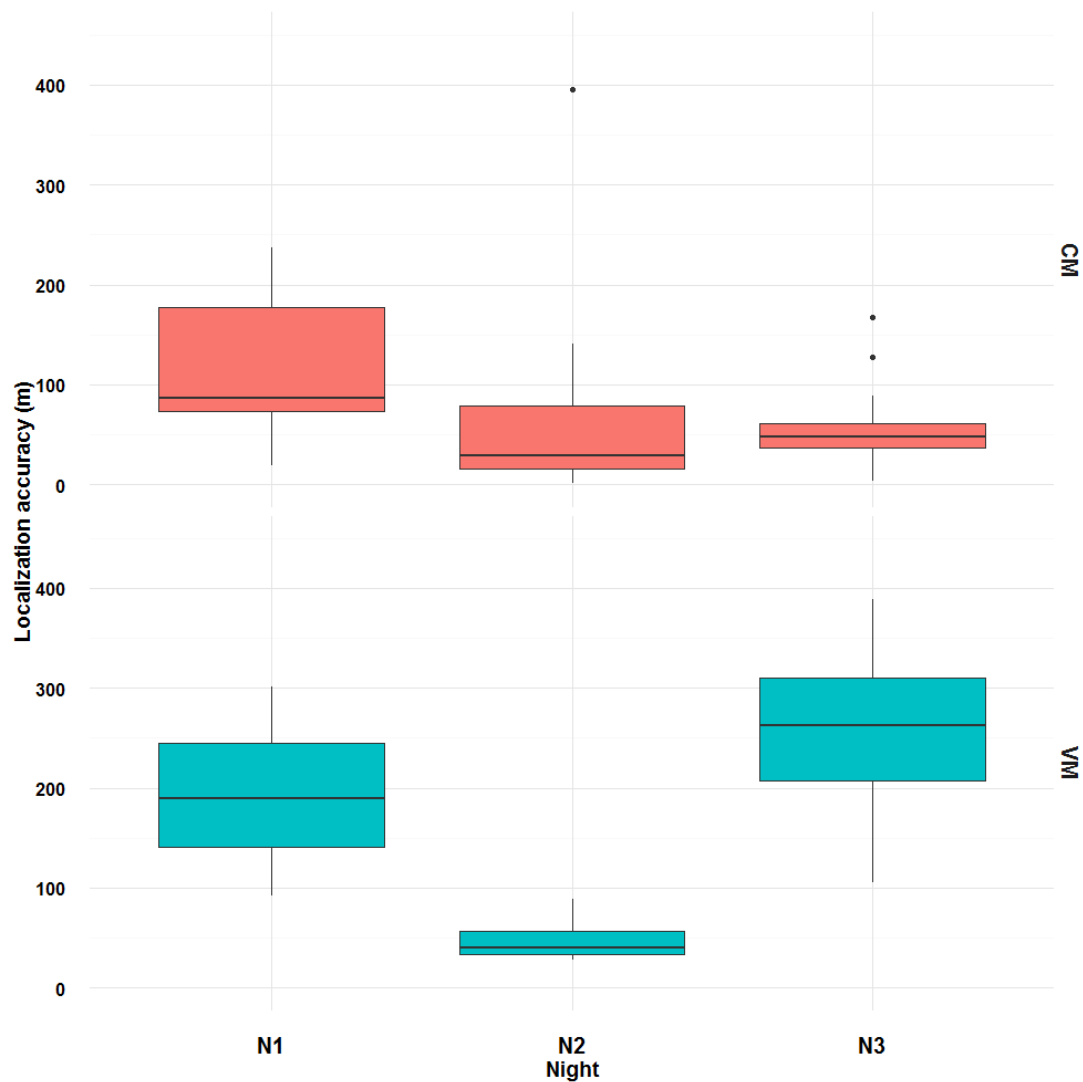


Figure 6: Variations in the localization accuracy on the three different nights in both study areas. Random effect of linear mixed-effect model: RLRT = 4.53, $P < 0.05$.

4. Discussion

Since its natural return to France from the Italian population (Fabbri et al. 2007), the Grey wolf first recolonized mountainous areas (French Alps) and its range is currently expanding west and northward into mid-mountain and lowland environments (L'équipe animatrice du réseau, 2012, 2017; Laurent, 2014a,b; Louvrier et al. 2017). Documenting and updating presence and localization of wolves is crucially important for managing this protected species and for preempting potential conflicts with human activities, especially livestock attacks. Thus, in this study, we investigated a new, non-invasive, and large-scale acoustic method for localizing wolves.

4.1. Acoustic localization estimates

In our study, 76% of the broadcasts were recorded by at least one recorder, thereby demonstrating the potential for using a low-density microphone array to detect howls over large areas (30 km²) with contrasting environmental contexts. The 59 broadcasts recorded by at least four microphones were used to estimate localizations. Although accuracies did not differ significantly between the two study areas, we observed a difference in the sample size of the broadcasts recorded and used for localization estimation, particularly in the lowland environment (45 in CM) compared with the mid-mountain environment (14 in VM).

After considering the relationship between the localization accuracy and the temporal error value, we defined a reliability threshold for the temporal error. We set this threshold to 200 ms. Then, most of the inaccurate values were excluded conducting to a mean localization accuracy of less than 200 m. This value may be considered a poor localization estimate when compared with most studies of acoustic localization (Bower & Clark, 2005; Muanke & Niezrecki, 2007; Mennill et al. 2012; Wilson et al. 2014). However, these previous studies were conducted in much smaller study areas. Thus, considering the distance between the autonomous recorders in our experiments, a localization accuracy of 200 m appears to be consistent.

In addition, we showed that some parameters could influence the localization accuracy and so, should be considered to optimize future protocols. First, the localization accuracy varied among different nights in each study area and at the same broadcast site (replicate). The wind speed was negligible during the experiments, but variations in other meteorological conditions among different nights may explain the differences in accuracy (e.g. air temperature or wind direction). Indeed, the meteorological conditions are known to have strong effects on sound propagation and signal detection, and thus on the localization accuracy (Wiley & Richards, 1978). We also showed that the distance between the microphones area centroid and the broadcast site had a significant effect on the localization accuracy. The localization accuracy was lower when the broadcast site was far from the microphones area centroid, as shown in previous studies (Bower & Clark, 2005; Mennill et al. 2012; Spillmann et al. 2015).

4.2. Recommendations and perspectives for Grey wolf monitoring

According to our results, some recommendations may be made regarding the development of effective acoustic methods for Grey wolf monitoring. The measures of the TOA were performed manually and this was a time-consuming task. Automatic and autonomous methods for detecting wolf howls in recordings and then for localizing them, such as methods based on

temporal cross-correlation, could improve the results and save time. However, these methods are still very complicated (Wimmer et al. 2010; Ausband et al. 2011). Moreover, amplitude and frequency modulations in wolf howls may make difficult to parameterize a unique automatic detector that could be trusted without human verification.

As shown in the present study and previous investigations (e.g. Mennill et al. 2012; Bower & Clark, 2005; Spillmann et al. 2015), the distance between the sound source and the microphones area centroid influenced the localization accuracy. Similarly, during field recordings, large distances between the study species and recorders may also influence the localization accuracy because of a low signal-to-noise ratio (as found in our study). Thus, the selection of the recording sites should be optimized according to the ecology and behavior of wolves but also based on local expert knowledge in order to increase the likelihood of collecting acoustic data. The structure and the composition of the landscape, such as the topography and vegetation (e.g. composition and stand density), could also influence the localization estimations, and thus they should be considered when defining protocols based on acoustic methods. This may partly explain the difference in the sample sizes for the broadcasts used in the lowland and mid-mountain environments. Previous studies also demonstrated that the optimal placement of recorders is important for ensuring maximum cover of the study area (Bower & Clark, 2005; Suter et al. 2016).

These recommendations highlight the necessity to find a compromise between the distance that separates the microphones, the area covered by the microphone array, the areas where vocalizations or sounds are produced, and the desired localization accuracy (Bower & Clark, 2005). Considering our results and soundscape parameters, it would be interesting to model the sound detection space of the autonomous recorders in order to place them optimally in the field and to improve the localization accuracy.

Finally, the acoustic localization protocol may concern much more wolves living in pack rather than dispersers or lone wolves (less frequent howls; Harrington & Mech, 1979). This potential limit could be balanced by combining autonomous recorders with howling playback method to elicit wolves to howl (Rocha et al. 2015). This would be even more recommended in the colonization fronts (like in north-eastern France) for monitoring wolf dispersion but also for detecting new pack installation (Brennan et al. 2013).

5. Conclusions

Currently, monitoring of the distribution and demographic dynamics of the Grey wolf in France is based on the standardized collection of presence signs by a network of 3500 trained volunteers (Duchamp et al. 2012). Different methods are used such as opportunistic survey (scat, hair, saliva, etc.), non-invasive genetics analysis, intensive snow-tracking during the winter, and wolf howling in summer to detect breeding events (Duchamp et al. 2012). However, the potential use of acoustic and autonomous recorders has not been considered for localizing individuals as well as specific areas such as rendezvous sites in contrasting environments. Thus, the development of a localization protocol based on passive acoustic methods could help scientists and decision-makers to collect new data to understand and monitor wolf recolonization. Importantly, these data could help prevent or mitigate conflicts with human activities as well as being used for conservation and management purposes.

Today, more than ever, large scale studies for monitoring elusive species are necessary and remain challenging (Llaneza et al. 2014). Localization protocols based on our results and recommendations could be applied to species producing long-distance acoustic signals, even in large territories and contrasting environments. This kind of protocols will considerably help to monitor the conservation status of many elusive species in the long term.

6. Acknowledgments

We are very grateful to CROC members M. Clasquin, M. Marc, P. Germain, Dr A. Charbonnel, and C. Botta for their help with fieldwork. We are also grateful to the National Game and Wildlife Agency (ONCFS) for authorization to access the wolves database, and to D. Wilson and J. Brzustowski for their advice regarding the Sound Finder package. We would like to thank the funding partners: the European Union within the framework of the Operational Program FEDER-FSE “Lorraine et Massif des Vosges 2014–2020”, the Commissariat à l’Aménagement du Massif des Vosges for the FNADT (Fonds National d’Aménagement et de Développement du Territoire), the DREAL Grand Est (Direction Régionale pour l’Environnement, l’Aménagement et le Logement), the Région Grand Est, the ANRT (Agence Nationale de la Recherche et de la Technologie, CIFRE award), the Zoo d’Amnéville, and the Parc Animalier de Sainte Croix. We also thank the Fondation Le Pal Nature for its complementary financial support. This study could not have been conducted without authorizations and agreements from municipalities, environmental managers (ONCFS, ONF, natural reserves, natural parks, etc.),

and owners in the study areas. We also thank the two anonymous reviewers for their careful reading and their perceptive comments and suggestions.

7. References

- Ausband, D.E., Skrivseth, J. & Mitchell, M.S. (2011) An automated device for provoking and capturing wildlife calls. *Wildlife Society Bulletin*, **35**, 498–503.
- Bardeli, R., Wolff, D., Kurth, F., Koch, M., Tauchert, K.H. & Frommolt, K.-H. (2010) Detecting bird sounds in a complex acoustic environment and application to bioacoustic monitoring. *Pattern Recognition Letters*, **31**, 1524–1534.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. & Walker, S. (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Stat Soft*, **67**, 1–48.
- Blumstein, D.T., Mennill, D.J., Clemins, P., Girod, L., Yao, K., Patricelli, G., Deppe, J.L., Krakauer, A.H., Clark, C., Cortopassi, K.A., Hanser, S.F., McCowan, B., Ali, A.M. & Kirschel, A.N.G. (2011) Acoustic monitoring in terrestrial environments using microphone arrays: Applications, technological considerations and prospectus. *Journal of Applied Ecology*, **48**, 758–767.
- Boitani, L. (2003) Wolf conservation and recovery. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press, p. 317–340.
- Borker, A.L., Halbert, P., McKown, M.W., Tershy, B.R. & Croll, D.A. (2015) A comparison of automated and traditional monitoring techniques for marbled murrelets using passive acoustic sensors. *Wildlife Society Bulletin*, **39**, 813–818.
- Bower, J.L. & Clark, C.W. (2005) A field test of the accuracy of a passive Acoustic Location System. *Bioacoustics*, **15**, 1–14.
- Bradbury, J.W. & Vehrencamp, S.L. (1998) *Principles of Animal Communication*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Brennan, A., Cross, P.C., Ausband, D.E., Barbknecht, A. & Creel, S. (2013) Testing automated howling devices in a wintertime wolf survey. *Wildlife Society Bulletin*, **37**, 389–393.
- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (2002) *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach*. Springer.
- Charif, RA, Waack, A. & Strickman, L. (2010) Raven Pro 1.4 User's Manual. , 1–379.
- Dawson, D.K. & Efford, M.G. (2009) Bird population density estimated from acoustic signals. *Journal of Applied Ecology*, **46**, 1201–1209.

- Duchamp, C., Boyer, J., Briaudet, P.E., Leonard, Y., Moris, P., Bataille, A., Dahier, T., Delacour, G., Millisher, G., Miquel, C., Poillot, C. & Marboutin, E. (2012) A dual frame survey to assess time- and space-related changes of the colonizing wolf population in France. *Hystrix*, **23**, 14–28.
- Fabbri, E., Miquel, C., Lucchini, V., Santini, A., Caniglia, R., Duchamp, C., Weber, J.M., Lequette, B., Marucco, F., Boitani, L., Fumagalli, L., Taberlet, P. & Randi, E. (2007) From the Apennines to the Alps: Colonization genetics of the naturally expanding Italian wolf (*Canis lupus*) population. *Molecular Ecology*, **16**, 1661–1671.
- Filibeck, U., Nicoli, M., Rossi, P. & Boscagli, G. (1982) Detection by frequency analyzer of individual wolves howling in a chorus: A preliminary report. *Bolletino di zoologia*, **49**, 151–154.
- Gazzola, A., Avanzinelli, E., Mauri, L., Scandura, M. & Apollonio, M. (2002) Temporal changes of howling in south European wolf packs. *Italian Journal of Zoology*, **69**, 157–161.
- Griffin, A., Alexandridis, A., Pavlidi, D., Mastorakis, Y. & Mouchtaris, A. (2015) Localizing multiple audio sources in a wireless acoustic sensor network. *Signal Processing*, **107**, 54–67.
- Harrington, F.H. (1989) Chorus howling by wolves: acoustic structure, pack size and the Beau Geste Effect. *Bioacoustics*, **2**, 117–136.
- Harrington, F.H. & Asa, C.S. (2003) Wolf communication. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. Wolves: behavior, ecology, and conservation. Chicago: University of Chicago Press, p. 66-103.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1979) Wolf howling and its role in territory maintenance. *Behaviour*, **68**, 207–249.
- Hartwig, S. (2005) Individual acoustic identification as a non-invasive conservation tool: an approach to the conservation of the African wild dog *Lycaon pictus* (Temminck, 1820). *Bioacoustics*, **15**, 35–50.
- Kalan, A.K., Piel, A.K., Mundry, R., Wittig, R.M., Boesch, C. & Kühl, H.S. (2016) Passive acoustic monitoring reveals group ranging and territory use: a case study of wild chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Frontiers in Zoology*, **13**, 34.
- L'équipe animatrice du réseau. (2012) Du nouveau sur le front de colonisation Vosgien et Franc-comtois. Bulletin Loup du réseau, **27**, 2.
- L'équipe animatrice du réseau. (2017) Les données du réseau. Bulletin Loup du réseau, **36**, 16-27.

- Latham, M.C., Latham, A.D.M., Webb, N.F., Mccutchen, N.A. & Boutin, S. (2014) Can occupancy-abundance models be used to monitor wolf abundance? *PloS one*, **9**, e102982.
- Laurent, A. (2014a) Une meute d'au moins 4 loups installée dans les Vosges. Bulletin Loup du réseau, **30**, 5.
- Laurent, A. (2014b) Nouveaux indices de présence du loup en Meuse. Bulletin Loup du réseau, **31**, 2.
- Llaneza, L., García, E.J. & López-Bao, J.V. (2014) Intensity of territorial marking predicts wolf reproduction: Implications for wolf monitoring. *PLoS ONE*, **9**, e93015.
- Louvrier, J., Duchamp, C., Lauret, V., Marboutin, E., Cubaynes, S., Choquet, R., Miquel, C. & Gimenez, O. (2017) Mapping and explaining wolf recolonization in France using dynamic occupancy models and opportunistic data. *Ecography*, **40**, 1–13.
- Marques, T.A., Thomas, L., Martin, S.W., Mellinger, D.K., Ward, J.A., Moretti, D.J., Harris, D. & Tyack, P.L. (2013) Estimating animal population density using passive acoustics. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **88**, 287–309.
- Mech, L.D. (2017) Where can wolves live and how can we live with them? *Biological Conservation*, **210**, 310–317.
- Mennill, D.J., Battiston, M., Wilson, D.R., Foote, J.R. & Doucet, S.M. (2012) Field test of an affordable, portable, wireless microphone array for spatial monitoring of animal ecology and behaviour. *Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 704–712.
- Mennill, D.J., Burt, J.M., Fristrup, K.M. & Vehrencamp, S.L. (2006) Accuracy of an acoustic location system for monitoring the position of duetting songbirds in tropical forest. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **119**, 2832–2839.
- Muanke, P.B. & Niezrecki, C. (2007) Manatee position estimation by passive acoustic localization. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **121**, 2049–2059.
- Muhly, T.B. & Musiani, M. (2009) Livestock depredation by wolves and the ranching economy in the Northwestern U.S. *Ecological Economics*, **68**, 2439–2450.
- Nowak, S., Jędrzejewski, W., Schmidt, K., Theuerkauf, J., Mysłajek, R.W. & Jędrzejewska, B. (2007) Howling activity of free-ranging wolves (*Canis lupus*) in the Białowieża Primeval Forest and the Western Beskidy Mountains (Poland). *Journal of Ethology*, **25**, 231–237.
- Palacios, V., Font, E. & Marquez, R. (2007) Iberian wolf howls: acoustic structure, individual variation, and a comparison with north american populations. *Journal of Mammalogy*, **88**, 606–613.
- Palacios, V., López-Bao, J.V., Llaneza, L. & Fernández, C. (2016) Decoding group vocalizations : The acoustic energy distribution of chorus howls is useful to determine

- wolf reproduction. *PLoS ONE*, **11**, e0153858.
- Papin, M., Pichenot, J. & Germain, E. (2015) La bioacoustique : un outil prometteur pour l'estimation des effectifs de loups gris. *In*: 11e Rencontres Bourgogne-Nature et du 37e Colloque francophone de Mammalogie, Les Mammifères sauvages - Recolonisation et réémergence, Revue Scientifique Bourgogne Nature. p. 256-65.
- Passilongo, D., Bucciatti, A., Dessì-Fulgheri, F., Gazzola, A., Zaccaroni, M. & Apollonio, M. (2010) The acoustic structure of wolf howls in some eastern tuscany (Central Italy) free ranging packs. *Bioacoustics*, **19**, 159–175.
- Passilongo, D., Mattioli, L., Bassi, E., Szabó, L. & Apollonio, M. (2015) Visualizing sound: counting wolves by using a spectral view of the chorus howling. *Frontiers in Zoology*, **12**, 12–22.
- QGIS Development Team. (2014) Quantum GIS Geographic Information System. Beaverton, United States: Open Source Geospatial Foundation Project.
- R Development Core Team. (2014) R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Reed, S.E., Boggs, J.L. & Mann, J.P. (2010) SPreAD-GIS: an ArcGIS toolbox for modeling the propagation of engine noise in a wildland setting. *The Wilderness Society*, 1–27.
- Reed, S.E., Boggs, J.L. & Mann, J.P. (2012) A GIS tool for modeling anthropogenic noise propagation in natural ecosystems. *Environmental Modelling and Software*, **37**, 1–5.
- De Reu, J., Bourgeois, J., Bats, M., Zwertvaegher, A., Gelorini, V., de Smedt, P., Chu, W., Antrop, M., de Maeyer, P., Finke, P., Van Meirvenne, M., Verniers, J. & Crombé, P. (2013) Application of the topographic position index to heterogeneous landscapes. *Geomorphology*, **186**, 39–49.
- Rigg, R., Findo, S., Wechselberger, M., Gorman, M.L., Sillero-Zubiri, C. & Macdonald, D.W. (2011) Mitigating carnivore–livestock conflict in Europe: lessons from Slovakia. *Oryx*, **45**, 272–280.
- Rocha, L.H.S., Ferreira, L.S., Paula, B.C., Rodrigues, F.H.G. & Sousa-Lima, R.S. (2015) An evaluation of manual and automated methods for detecting sounds of maned wolves (*Chrysocyon brachyurus* Illiger 1815). *Bioacoustics*, **24**, 185–198.
- Root-Gutteridge, H., Bencsik, M., Chebli, M., Gentle, L.K., Terrell-nield, C., Bourit, A. & Yarnell, R.W. (2014) Improving individual identification in captive Eastern grey wolves (*Canis lupus lycaon*) using the time course of howl amplitudes. *Bioacoustics*, **23**, 1–15.
- Scheipl, F., Greven, S. & Küchenhoff, H. (2008) Size and power of tests for a zero random effect variance or polynomial regression in additive and linear mixed models.

- Computational Statistics & Data Analysis*, **52**, 3283–3299.
- Sèbe, F., Heintz, N., Latini, R. & Aubin, T. (2004) Le wolf howling: un outil pour le recensement et la conservation des loups. Possibilités et limites de la méthode. *Colloque Grands Prédateurs et Pastoralisme*, pp. 53–59.
- Spillmann, B., van Noordwijk, M.A., Willems, E.P., Mitra Setia, T., Wipfli, U. & Van Schaik, C.P. (2015) Validation of an acoustic location system to monitor Bornean orangutan (*Pongo pygmaeus wurmbii*) long calls. *American Journal of Primatology*, **77**, 767–776.
- Sueur, J., Aubin, T. & Simonis, C. (2008) Seewave, a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*, **18**, 213–226.
- Suter, S.M., Giordano, M., Nietlispach, S., Apollonio, M. & Passilongo, D. (2016) Non-invasive acoustic detection of wolves. *Bioacoustics*, **26**, 237–248.
- Theberge, J.B. & Falls, J.B. (1967) Howling as a means of communication in Timber Wolves. *American Zoologist*, **7**, 331–338.
- Tooze, Z.J., Harrington, F.H. & Fentress, J.C. (1990) Individually distinct vocalizations in timber wolves, *Canis lupus*. *Animal Behaviour*, **40**, 723–730.
- Ulloa, J.S., Gasc, A., Gaucher, P., Aubin, T., Réjou-Méchain, M. & Sueur, J. (2016) Screening large audio datasets to determine the time and space distribution of Screaming Piha birds in a tropical forest. *Ecological Informatics*, **31**, 91–99.
- Valière, N., Fumagalli, L., Gielly, L., Miquel, C., Lequette, B., Poulle, M.-L., Weber, J.-M., Arlettaz, R. & Taberlet, P. (2003) Long-distance wolf recolonization of France and Switzerland inferred from non-invasive genetic sampling over a period of 10 years. *Animal Conservation*, **6**, 83–92.
- Venables, W.N. & Ripley, B.D. (2002) *Modern Applied Statistics with S*.
- Wiley, R.H. & Richards, D.G. (1978) Physical constraints on acoustic communication in the atmosphere: Implications for the evolution of animal vocalizations. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **3**, 69–94.
- Wilson, D.R., Battiston, M., Brzustowski, J. & Mennill, D.J. (2014) Sound Finder: a new software approach for localizing animals recorded with a microphone array. *Bioacoustics*, **23**, 99–112.
- Wimmer, J., Towsey, M., Planitz, B., Roe, P. & Williamson, I. (2010) Scaling acoustic data analysis through collaboration and automation. *Proceedings - 2010 6th IEEE International Conference on e-Science, eScience 2010*, pp. 308–315.
- Zaccaroni, M., Passilongo, D., Bucciatti, A., Dessì-Fulgheri, F., Facchini, C., Gazzola, A., Maggini, I. & Apollonio, M. (2012) Group specific vocal signature in free-ranging wolf

packs. *Ethology Ecology & Evolution*, **24**, 322–331.



CHAPITRE 3

Utilisation d'indices de diversité
acoustique pour estimer l'effectif des
meutes de loups

Chapitre 3 : Utilisation d'indices de diversité acoustique pour estimer l'effectif des meutes de loups

Using acoustic diversity indices to estimate wolf pack size

Morgane PAPIN^{ab}, Mélanie AZNAR^a, Estelle GERMAIN^{a*}, François GUÉROLD^b and Julian PICHENOT^c

^a Centre de Recherche et d'Observation sur les Carnivores (CROC), 4 rue de la banie, 57590 Lucy, France

^b Université de Lorraine, CNRS, LIEC, F-57000 Metz, France

^c Biologiste Écologue Consultant (BEC), 8A rue principale, 57590 Fonteny, France

* Corresponding author: Estelle GERMAIN, Centre de Recherche et d'Observation sur les Carnivores (CROC), 4 rue de la banie, 57590 Lucy, France, estelle.germain@croc-asso.org

Abstract

Acoustic diversity indices were recently developed for biodiversity evaluation by measuring the acoustic heterogeneity generated by fauna in natural environments. Some of these indices focus on the species diversity in a community by studying frequency and temporal variations in acoustic signals. We explored the possibility of using acoustic diversity indices to estimate the size of Grey wolf packs by testing six acoustic diversity indices: *H*, *Hf*, *Ht*, *M*, *AR*, and *ACI*. The relationship between the average indices and the number of howling wolves was studied based on artificial solos and choruses created from howls extracted from wolf choruses recorded in captivity. Next, 16 real choruses were used to test the size predictions based on index values calculated previously from artificial solos and choruses as references. Finally, we explored three biases that might influence the acoustic index values and thus the chorus size estimates.

All of the acoustic indices were positively correlated with chorus size, although large standard deviations were observed. Moreover, *H*, *Hf*, and *Ht* reached a plateau at 7–8 wolves. The size predictions based on real choruses were overestimated or underestimated. However, *ACI* was the most accurate with chorus size predictions close to the actual value. *M* and *AR* also had good predictive power, especially for choruses made by a relatively small number of howling wolves. The overestimates may be explained by several sources of bias related to the natural composition of real choruses. Indeed, the acoustic indices were influenced by the audio file duration, signal-to-noise ratio (SNR), and temporal overlap of the wolf howls, but not in the

same manner for each index. In particular, H , Ht , and M were significantly influenced by the audio file duration and their values decreased as the duration increased. Excluding AR , all of the indices were affected by adding background noise. The H and Hf values decreased as the SNR decreased, but the opposite trend occurred for ACI . Only Hf and AR were not influenced by the temporal overlap of howls and the values of the four other indices decreased to a greater extent when more wolf howls overlapped.

The most promising indices were ACI , AR , and Hf , and they may provide an innovative census tool for estimating wolf pack size. Our results are encouraging although further research is needed to obtain a more effective and accurate tool. Several recommendations and directions for further studies are discussed.

Keywords: acoustic diversity index, bias, conservation management, pack size, wolf howl

1. Introduction

Recently, the rapid acoustic survey (RAS) approach has been developed to quantify the global acoustic variability in the sounds produced by animal communities (Sueur et al. 2008b). Among the RAS tools, acoustic indices have been produced for rapid evaluations of biodiversity (Sueur et al. 2008b; Obrist et al. 2010). After the first tests performed on artificial animal choruses, this approach was successfully tested *in situ* (see Sueur et al. 2014 for a review). In particular, several studies found correlations between the acoustic heterogeneity of a short sound (ranging from a few seconds to minutes) and the species richness (Sueur et al. 2008b; Depraetere et al. 2012; Towsey et al. 2014) or song types (Pieretti et al. 2011). Acoustic indices have many advantages such as permitting rapid analyses of large amounts of acoustic data recorded over large areas and long time periods using standardized or automatic processes without identifying species or individuals (Gasc et al. 2015).

Until now, acoustic diversity indices have mainly been applied to quantifying the diversity of multispecies assemblages. However, they could also be applied in the same manner to monospecies assemblages (i.e. several individuals from the same species), e.g. as a proxy for the abundance based on a chorus made by a species. In particular, the Grey wolf (*Canis lupus*) is a good candidate for testing this type of approach with monospecies assemblages because estimating wolf pack size is challenging.

During the two last centuries, the Grey wolf has been extirpated from many areas throughout Europe and North America (Boitani, 2003). However, in Europe, it is now legally protected by

the Bern Convention (1979) and the Habitats Directive (1992). Consequently, in recent decades, this elusive species has naturally recolonized its former areas (Valière et al. 2003; Fabbri et al. 2007). Indeed, this species comes into conflict with humans where its range overlaps with areas of human settlement and agriculture, mainly due to the predation of livestock (Rigg et al. 2011; Mech, 2017). In this context, understanding and monitoring the expansion of the Grey wolf is important for preventing or mitigating intense conflicts. Documenting and updating the size of wolf packs is of great importance for the conservation and management of this protected species. However, wolf monitoring remains challenging in the field because it is a wide-ranging generalist species that lives at a low density and it is often secretive and elusive (Latham et al. 2014; Louvrier et al. 2017).

Howls are long-range vocal signals that are regularly used by wolves in solos or choruses for long distance communication (Joslin, 1967; Harrington & Mech, 1978, 1983; Harrington & Asa, 2003). This type of vocalization has been studied to explore different topics, such as identifying individual and pack vocal signatures (Harrington, 1989; Tooze et al. 1990; Palacios et al. 2007; Passilongo et al. 2010, 2012; Zaccaroni et al. 2012; Root-Gutteridge et al. 2014), the chorus structure (Theberge & Falls, 1967; Harrington, 1975; Harrington & Mech, 1982), the detection of individuals (Fuller & Sampson, 1988; Llaneza et al. 2005; Ausband et al. 2011; Duchamp et al. 2012; Brennan et al. 2013; Bassi et al. 2015; Suter et al. 2016) or reproduction events (Harrington, 1986; Longis et al. 2004; Sèbe et al. 2006; Nowak et al. 2007, 2008; Llaneza et al. 2014; Palacios et al. 2016), as well as for acoustic localization (Papin et al. 2018). In addition, different methods have been used to estimate wolf chorus size based on howls, including discriminating the fundamental and harmonic frequencies of howling wolves (Filibeck et al. 1982; Sèbe et al. 2004), image processing techniques based on spectrograms (Dugnot et al. 2007a, 2007b, 2008), and visual inspections of spectrograms obtained from chorus recordings (Passilongo et al. 2015).

These previously developed approaches are useful for estimating wolf chorus size based on howls but most of them are time consuming or subjective, and they include potential sources of errors. According to Passilongo et al. (2015), it is possible to count up to six wolves based on visual inspections of the spectrograms obtained from chorus recordings, but this method could include sources of error, especially when the howls made by many wolves are superimposed. Field experiments have also demonstrated that counting wolves directly by ear during simulated howling surveys could be difficult and limited to three wolves (Harrington & Mech, 1982; Harrington, 1989). Recently, Palacios et al. (2017) showed that estimating the number of wolves in choruses by the unaided human ear is inaccurate, regardless of the experience of the

listener. Given the results of these previous studies, acoustic diversity indices may provide an alternative approach to overcome these inaccuracies, thereby providing a new tool for estimating wolf pack size.

In the present study, we hypothesized that quantifying the global acoustic variability in wolf choruses could be used for estimating chorus size. We examined the relationship between measures of acoustic variability and the number of howling individuals in choruses. Howling wolves exhibit complex vocal signatures (Harrington, 1989; Tooze et al. 1990; Palacios et al. 2007; Passilongo et al. 2012; Root-Gutteridge et al. 2014), so we expected that individuality would induce acoustic variability and consequently a correlation between acoustic index values and the number of howling wolves in choruses. Therefore, we tested six acoustic diversity indices for estimating wolf chorus size. First, we studied the relationship between the average index values and the number of howling wolves based on artificial solos and choruses created from wolf howls recorded in captivity. Next, we used a generalized linear model fitted to previously calculated index values for artificial solos and choruses in order to predict the size of 16 real choruses. Finally, we explored three biases that might influence the acoustic index values and thus the chorus size estimates.

2. Materials and methods

2.1. Acoustic recordings

The howls made by 12 adult grey wolves from three packs living in captivity were recorded from February to May 2014. Ten wolves (six females and four males) from two different packs were recorded in the Parc Animalier de Sainte Croix (Moselle, France) and two wolves (two females) from a pack living in the Zoo of Pescheray (Sarthe, France).

The recordings were acquired close to the packs (15 to 25 m) during optimal meteorological conditions (without rainfall or wind) in order to optimize the quality of the sounds recorded. The recordings were made with a digital recorder (Zoom H4n Handheld Audio Recorder; Zoom Corporation, Tokyo, Japan) at a sampling rate of 44.1 kHz with a 16-bit accuracy and a Rode NTG-3 directional microphone (super-cardioid, frequency response: 40 Hz to 20 kHz; Rode Microphones Company, Sydney, Australia). In addition, the solos and choruses were filmed with a camcorder (model: JVC HD Everio GZ-HD3; JVC Kenwood Corporation, Yokohama, Japan). The audio recordings and videos were synchronized in order to assign each howl to an

individual. Finally, the howls in “.wav” format assigned to each wolf were extracted using Sony SpectraLayers Pro™ software (Sony Creative Software, 2013; version 2.0).

2.2. Creation of the data set of artificial solos and choruses

Artificial solos and choruses were created in order to obtain samples that included a known number of howling wolves, only howl type vocalizations, and no background noise. The recorded and extracted howls (see **Section 2.1**) were employed to create howling sequences with a duration of 30 s using Audacity software (Audacity Team, 2014; version 2.0.6).

First, a set of artificial solos was created for each of the 12 wolves recorded where each solo was a combination of several howls made by the corresponding individual. This set of artificial solos was then used to create 10 series comprising one solo and 11 choruses from two to 12 individuals (with or without temporal overlap between the howls). Each series was prepared according to two consecutive random selection steps: selecting a solo for each individual and then selecting the order of the individual solos in the choruses. From one series to the next series, the previously selected solos were removed from the sample (random sampling without replacement). Finally, a total of 10 artificial solos and 110 artificial choruses were obtained.

2.3. Acoustic diversity indices

Six acoustic diversity indices were explored to estimate the number of howling wolves in choruses: the spectral entropy Hf (Sueur et al. 2008b), the temporal entropy Ht (Sueur et al. 2008b), the acoustic entropy H (Sueur et al. 2008b), the median of the amplitude envelope M (Depraetere et al. 2012), the acoustic richness AR (Depraetere et al. 2012), and the acoustic complexity index ACI (Pieretti et al. 2011).

The spectral entropy Hf (spectral index) was obtained from a mean and normalized spectrum, which was the average of a short-term Fourier transform (STFT) with a non-overlapping Hanning window of 512 samples (Sueur et al. 2008b). The mean spectrum was scaled by its maximum to obtain index values between 0 and 1 (Gasc et al. 2015). The two temporal indices comprising the temporal entropy Ht (Sueur et al. 2008b) and median of the amplitude envelope M (Depraetere et al. 2012) were computed based on the Hilbert amplitude envelope, which was scaled by its maximum to obtain index values between 0 and 1. The acoustic entropy H is the product of Hf and Ht (Sueur et al. 2008b), and the acoustic richness AR is based on the two temporal indices, i.e. Ht and M (Depraetere et al. 2012). The last acoustic diversity index used in this study was the acoustic complexity index ACI (Pieretti et al. 2011), which was computed

based on a non-scaled STFT with a non-overlapping Hanning window of 512 samples. *ACI* can be calculated over the total duration of the audio file or based on multiple parts of the file with the same duration, where the sum of the *ACI* values gives the final value for this index. The number of cutouts was adapted to the total duration of the audio files considered in order to obtain windows with a duration of 0.128 s. The final *ACI* was then scaled by its maximum to also obtain index values between 0 and 1 (Gasc et al. 2015).

The six acoustic diversity indices comprising *Hf*, *Ht*, *H*, *M*, *AR*, and *ACI* were calculated for the 10 artificial solos and 110 artificial choruses (see **Section 2.2**) using the Seewave package (Sueur et al., 2008a) with R software (R Development Core Team, 2014; version 3.1.2). The values were averaged based on the number of individuals and treated as references.

2.4. Effects of three biases on the reference values for the acoustic indices

Different sources of bias may be encountered when calculating acoustic diversity indices based on field recordings (Gasc et al. 2015; Zhang et al. 2016) and they could influence the chorus size estimates. Thus, in this study, we explored the effects of three biases by using reference values for the acoustic indices obtained from artificial solos and choruses with durations of 30 s.

2.4.1. Bias due to the audio file duration

Both the chorus and audio file durations could vary in the recordings, which might influence the acoustic index values (Gasc et al. 2015) and thus the chorus size estimates. Two treatments were applied to the 10 artificial solos and 110 artificial choruses in order to explore the effect of the sound file duration on the reference values for the acoustic indices (see **Supplementary material A**).

The 10 artificial solos and 110 artificial choruses (described in **Section 2.2**) were used as a control data set (T0, 120 audio files of 30 s). The first treatment involved adding 30 s of silence to each T0 audio file in order to increase the total duration of the file to 60 s (T1, 120 audio files of 60 s). The second treatment involved adding 60 s of silence to each T0 audio file in order to increase the total duration of the file to 90 s (T2, 120 audio files of 90 s). The six acoustic diversity indices were calculated for these 360 audio files.

2.4.2. Bias due to the signal-to-noise ratio (SNR)

Field recordings are often characterized by a low SNR because of the distance separating the target sound source from the recording equipment, the background noise level, and the intensity

of the signal investigated (Wiley & Richards, 1978, 1982; Araya-Salas et al. 2017). The effect of the SNR on reference values for the acoustic indices was tested by applying three treatments to the 10 artificial solos and 110 artificial choruses (see **Supplementary material B**).

The 10 artificial solos and 110 artificial choruses (see **Section 2.2**) were used as a control data set (T0, 120 audio files without any background noise). The treatments involved mixing T0 with a sequence comprising 30 s of natural background noise recorded during 2012 in the Vosges Mountains. Three different amplitude levels of added background noise were applied to vary the SNR threshold: high SNR with the original amplitude level of the background noise (T1), medium SNR where the amplitude level was multiplied by 2.5 (T2), and low SNR where the amplitude level was multiplied by 5 (T3). The six acoustic diversity indices were calculated based on these 480 audio files.

2.4.3. Bias due to the temporal overlap of howls in choruses

Variations in the temporal overlap between individual songs or vocalizations within choruses may influence the size estimates obtained with acoustic indices (Gasc et al. 2015). To test this bias, we combined artificial solos from six wolves to obtain new artificial choruses of six individuals for three different treatments (see **Supplementary material C**).

For each of the six wolves, 100 artificial solos with durations of 30 s (see **Section 2.2**) were randomly selected (with replacement) to obtain artificial choruses by six wolves (180 s) with three different time lags. The solos were alternated in the first treatment (T1, no temporal overlap). The second treatment comprised a half overlap between individual solos (T2). The third treatment comprised the maximum overlap (superposition) between the six individual solos (T3). The six acoustic indices were calculated based on these 300 new choruses with durations of 180 s.

2.5. Statistical analysis

2.5.1. Relationship between the acoustic diversity indices and numbers of howling wolves

Spearman's rank correlation coefficients were calculated to investigate: (i) the possible relationship between the average indices and numbers of howling wolves (artificial solos and choruses); and (ii) the relationship between the average indices including bias (audio file duration and SNR biases; see **Sections 2.4.1** and **2.4.2**) and the number of howling wolves. For both investigations (with or without biases), pairwise comparisons were conducted with

Mood's median test to explore the potential differences in the index values with different wolf chorus sizes.

2.5.2. Wolf chorus size prediction

The wolf chorus size was predicted using the reference values for the acoustic indices obtained from artificial solos and choruses (see **Section 2.3**). The six acoustic diversity indices were calculated based on sequences with a duration of 30 s selected from 16 real wolf choruses (with background noise, potentially different vocalization types, etc.), which were recorded in the Parc Animalier de Sainte Croix (see **Section 2.1**; eight choruses made by three howling wolves and eight choruses made by six wolves). To predict the number of howling individuals in these real choruses, Poisson regression fitted to the reference values for the acoustic indices obtained from artificial solos and choruses (see **Section 2.3**) was performed using a generalized linear model (glm function in R software).

2.5.3. Differences between treatments in the bias tests

The following tests were applied to the data obtained from the three bias tests (see **Section 2.4**). In the case of homogeneity of variances, permutational analysis of the variance table was first used to determine whether significant differences existed between treatments. Next, pairwise comparisons were conducted using permutational *t*-tests to identify differences more precisely. Alternatively, a Friedman rank sum test was conducted followed by pairwise comparisons using the Wilcoxon signed rank test with the same objective.

All of the statistical analyses were conducted with R software (R Development Core Team, 2014; version 3.1.2) and results were considered to be statistically significant when $P \leq 0.05$.

3. Results

3.1. Relationship between the acoustic diversity indices and numbers of howling wolves

As expected, all of the average indices calculated based on artificial solos and choruses had significant and positive correlation with the number of howling wolves (Spearman's rank correlation coefficient, $\rho = 1$, $P < 0.01$; **Figure 1**). However, the standard deviations associated with the average indices were large for each chorus size. Moreover, *H*, *Hf*, and *Ht* reached a plateau at 7–8 wolves. Pairwise comparisons using Mood's median tests detected

more significant differences between the chorus sizes based on the values of Ht , AR , and ACI ($P < 0.05$), especially between one and five wolves (**Table 1**).

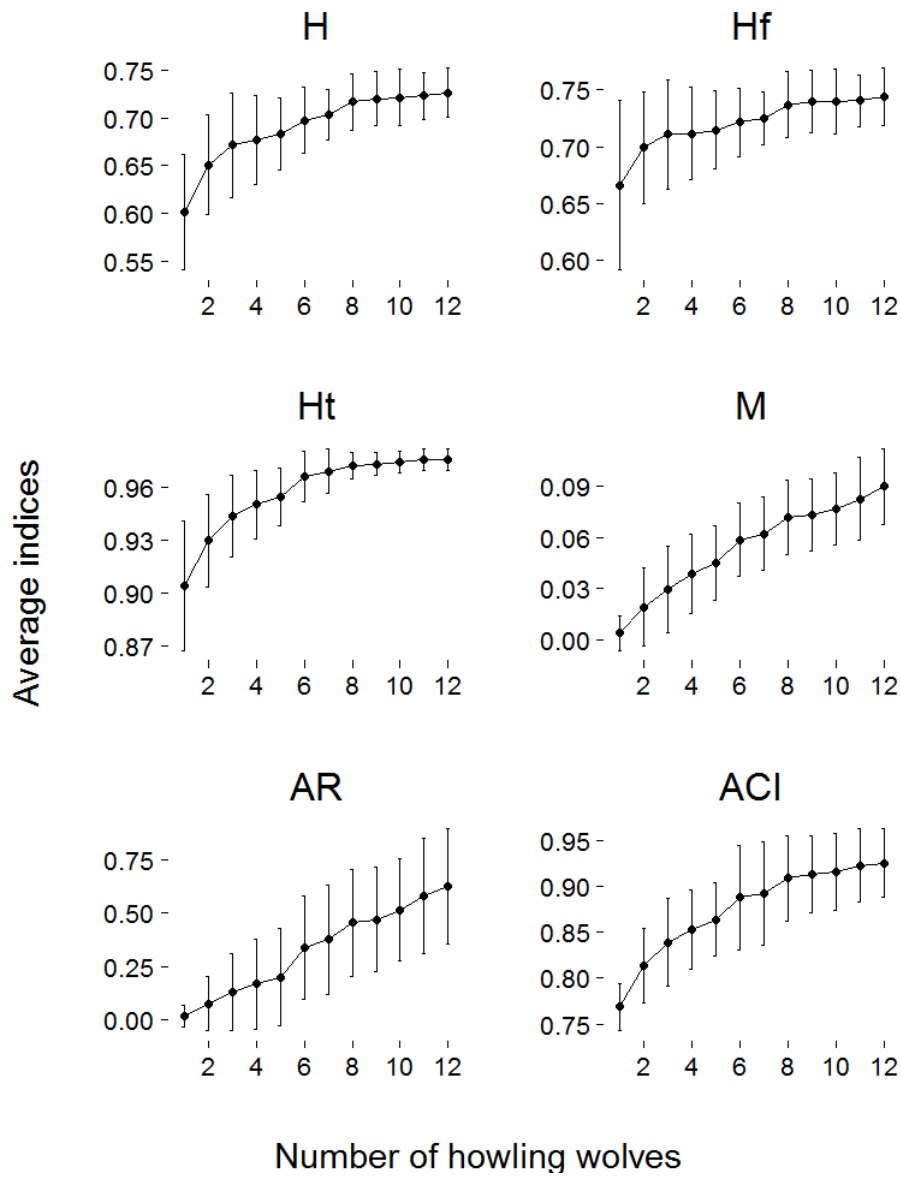
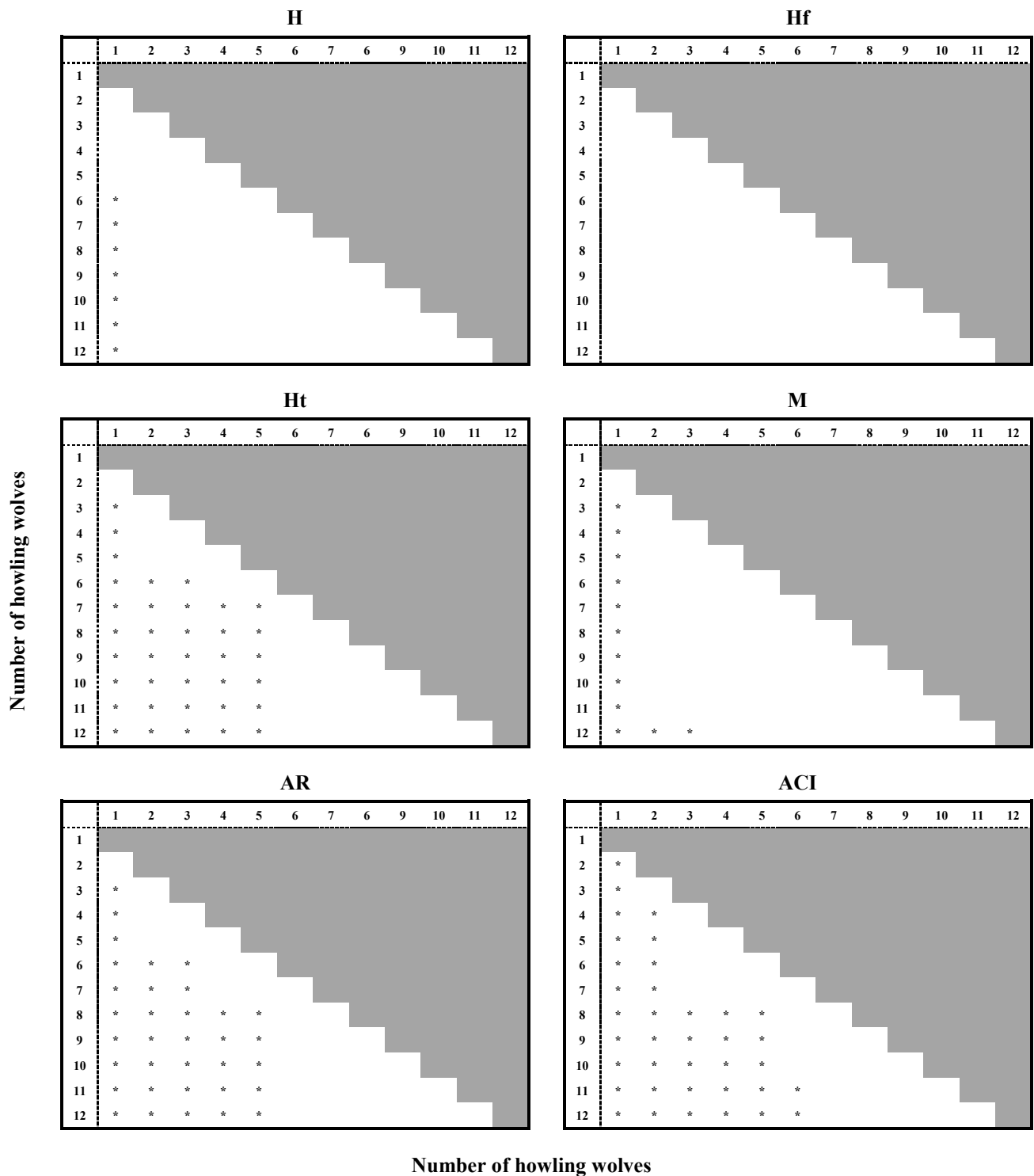


Figure 1: Relationship between the average indices (± SD) and the number of howling wolves in artificial solos and choruses. All indices were significantly and positively correlated with the number of howling wolves (Spearman's rank correlation coefficient, $\rho = 1$, $P < 0.01$).

Chapitre 3



3.2. Size prediction based on real choruses

The values of the six acoustic indices calculated from the 16 real choruses were subjected to Poisson regression fitted based on the reference values obtained from artificial solos and choruses (**Figure 2**). The *ACI* index was the most accurate and the chorus size predictions were closest to the actual values. The five other indices overestimated the chorus size but *M* and *AR* obtained interesting predictions, especially for choruses made by a relatively small number of howling individuals (three wolves in this case).

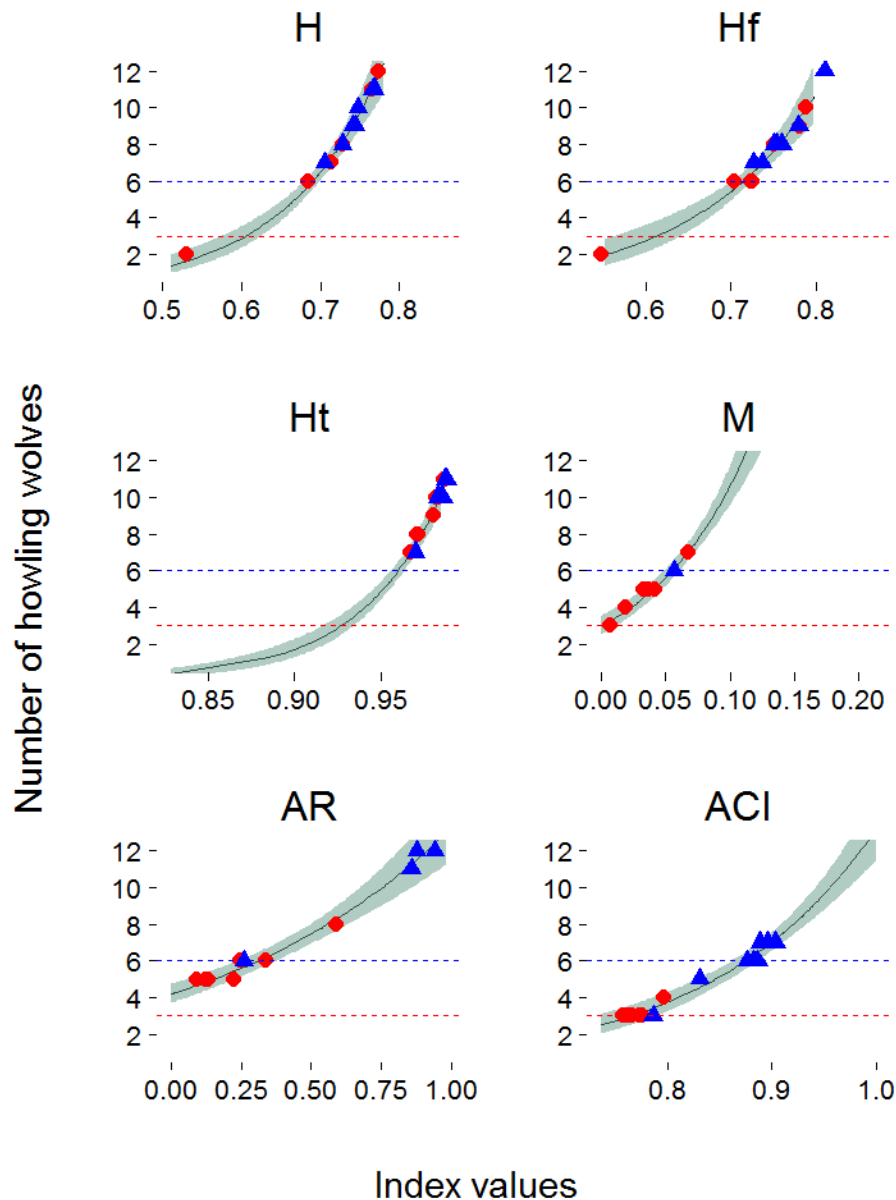


Figure 2: Prediction of the chorus size in real choruses using Poisson regression. Black lines correspond to the Poisson regression fitted with index values obtained from the artificial solos and choruses, with the confidence interval in grey. Red and blue dashed lines correspond to the number of wolves expected for the tested choruses, i.e. three and six wolves, respectively. Red circles and blue triangles correspond to the predicted number of howling wolves in the test choruses.

3.3. Effects of the biases on the acoustic indices

3.3.1. Effect of the audio file duration

H , H_t , and M were significantly influenced by the addition of silence, and thus by the audio file duration (permutational analysis of variance table, $P < 0.05$; **Figure 3**), whereas H_f , AR , and ACI did not differ significantly between treatments (permutational analysis of variance table, $P > 0.05$). In particular, the H , H_t , and M values decreased as the duration of the audio file increased.

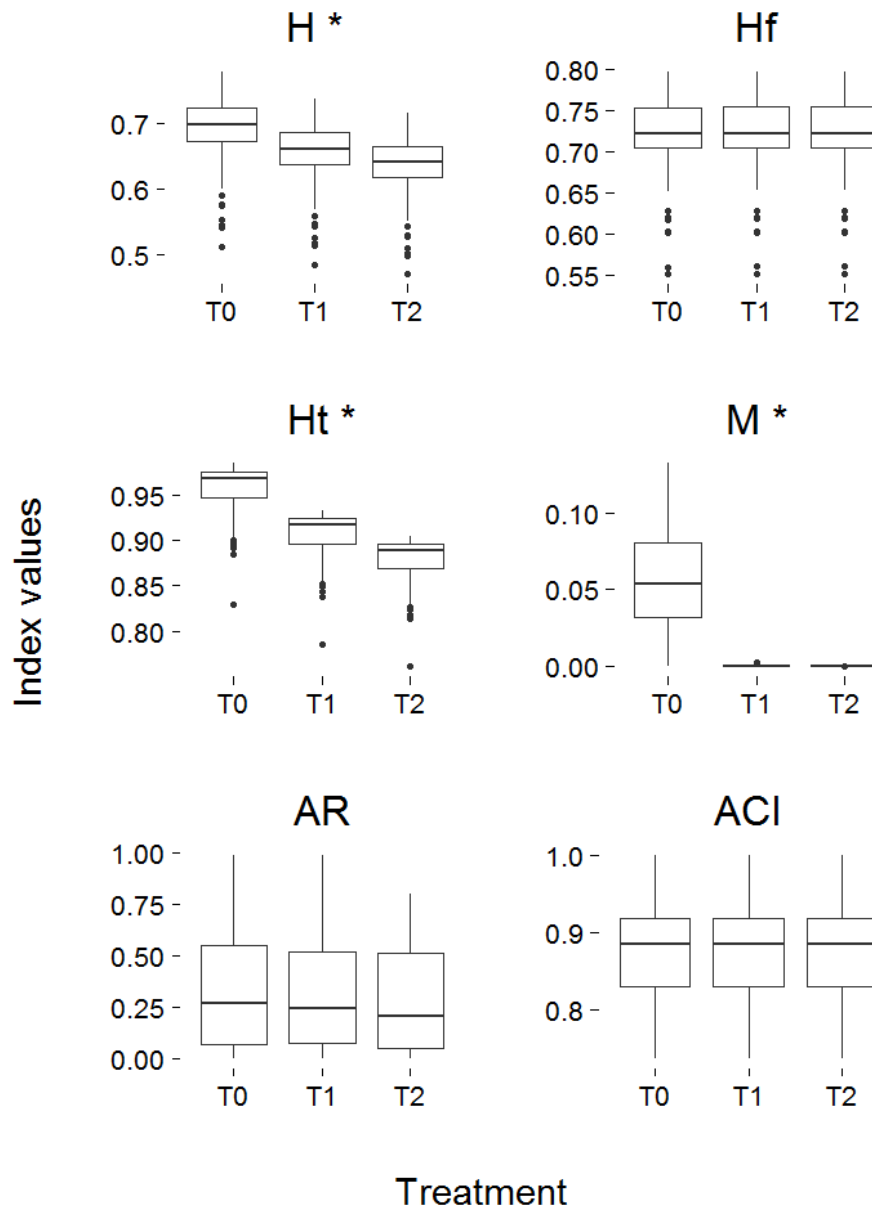


Figure 3: Effect of the audio file duration on the distributions of the index values. T0: control situation with artificial solos and choruses with a duration of 30 s. T1: Addition of 30 s of silence to T0 audio files. T2: Addition of 60 s of silence to T0 audio files. H , H_t , and M (*) were significantly influenced by the addition of silence, and thus by the audio file duration (permutational analysis of variance table, $P < 0.05$).

Under each treatment, all of the indices remained significantly and positively correlated with the number of howling wolves (Spearman's rank correlation coefficient, $P < 0.01$; **Figure 4**).

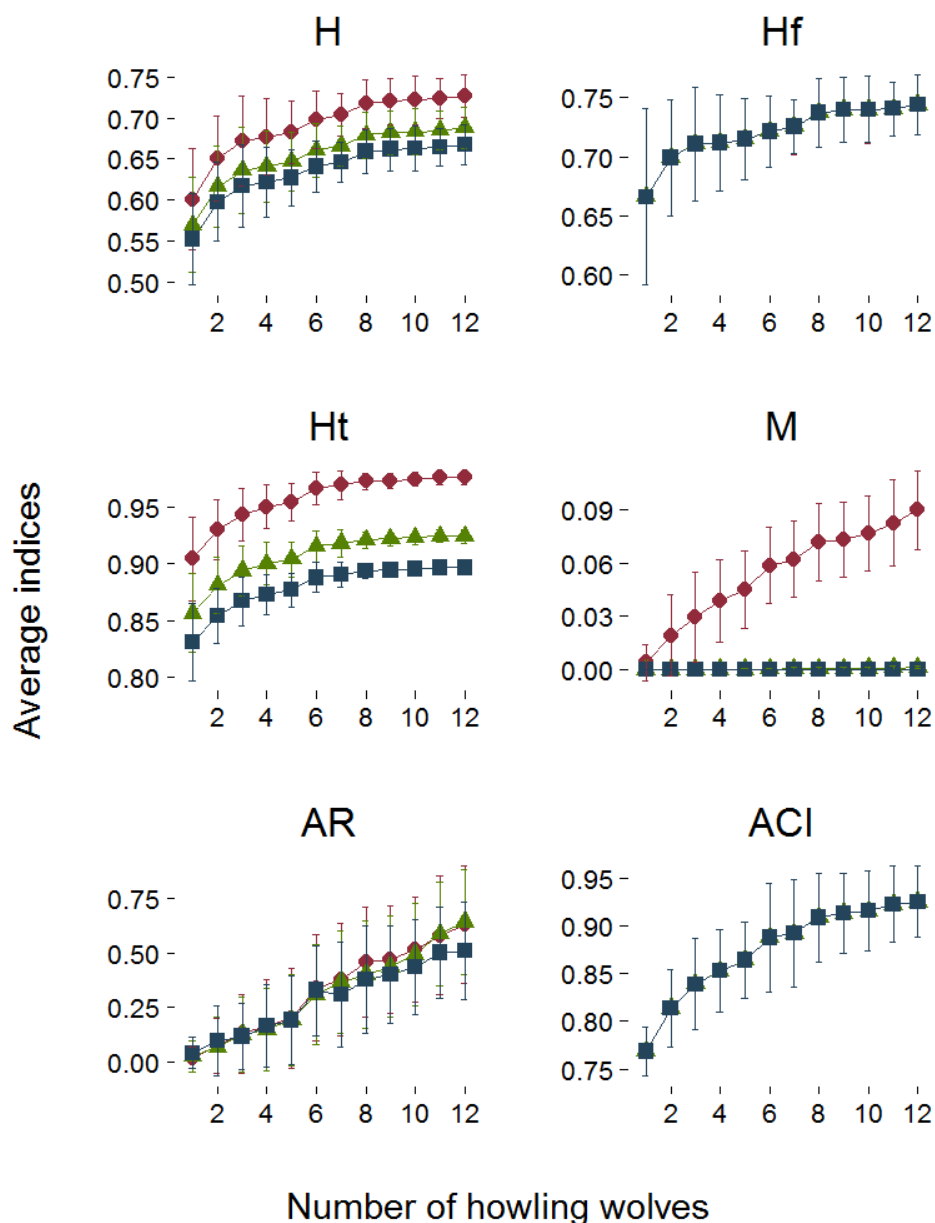


Figure 4: Relationship between the average indices ($\pm$ SD) and the number of howling wolves in artificial solos and choruses according to different audio file durations. Red circles: control situation (T0) with artificial solos and choruses with a duration of 30 s. Green triangles: treatment T1 with 90 s audio file duration (T0 with 30 s of silence added). Blue squares: treatment T1 with 120 s audio file duration (T0 with 60 s of silence added). All indices for all treatments were significantly positively correlated with the number of howling wolves (Spearman's rank correlation coefficient, $P < 0.01$).

3.3.2. Effect of the SNR

All of the indices were affected by the addition of background noise (Friedman's rank sum test, $P < 0.05$), except for *AR* (permutational analysis of variance table, $P > 0.05$; **Figure 5**). The *H* and *Hf* values decreased as the SNR decreased. By contrast, the *ACI* values increased as the SNR decreased.

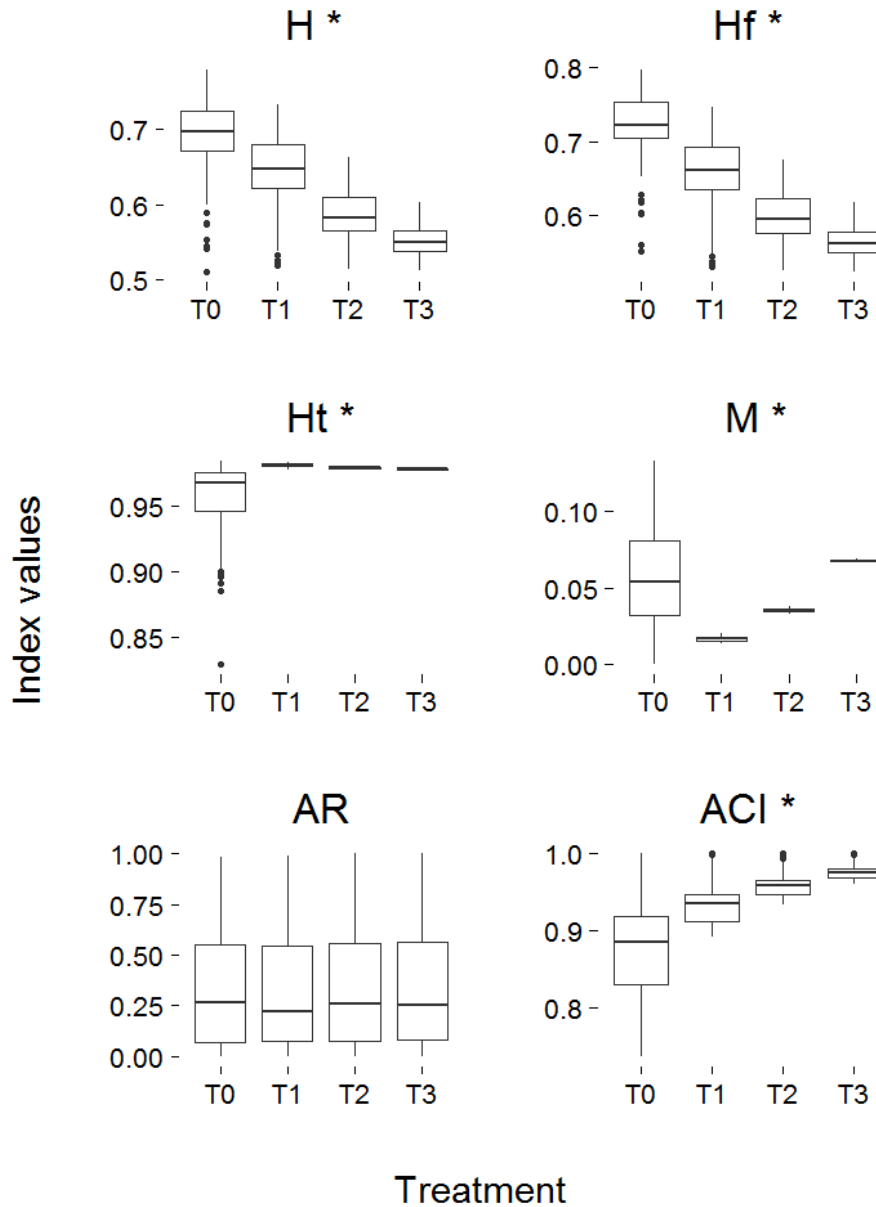


Figure 5: Effect of the signal-to-noise ratio (SNR) on the distributions of the index values. T0: Control with artificial solos and choruses without any background noise. T1: Artificial solos and choruses mixed with background noise at the amplitude level recorded in the field (high SNR). T2: Artificial solos and choruses mixed with background noise at the amplitude level multiplied by 2.5 (medium SNR). T3: Artificial solos and choruses mixed with background noise at the amplitude level multiplied by 5 (low SNR). Indices (*) were affected by adding background noise (Friedman's rank sum test, $P < 0.05$), and thus by decreases in the SNR, except for *AR* (permutational analysis of variance table, $P > 0.05$).

Under each treatment, all of the indices remained significantly and positively correlated with the number of howling wolves (Spearman's rank correlation coefficient, $P < 0.01$; **Figure 6**).

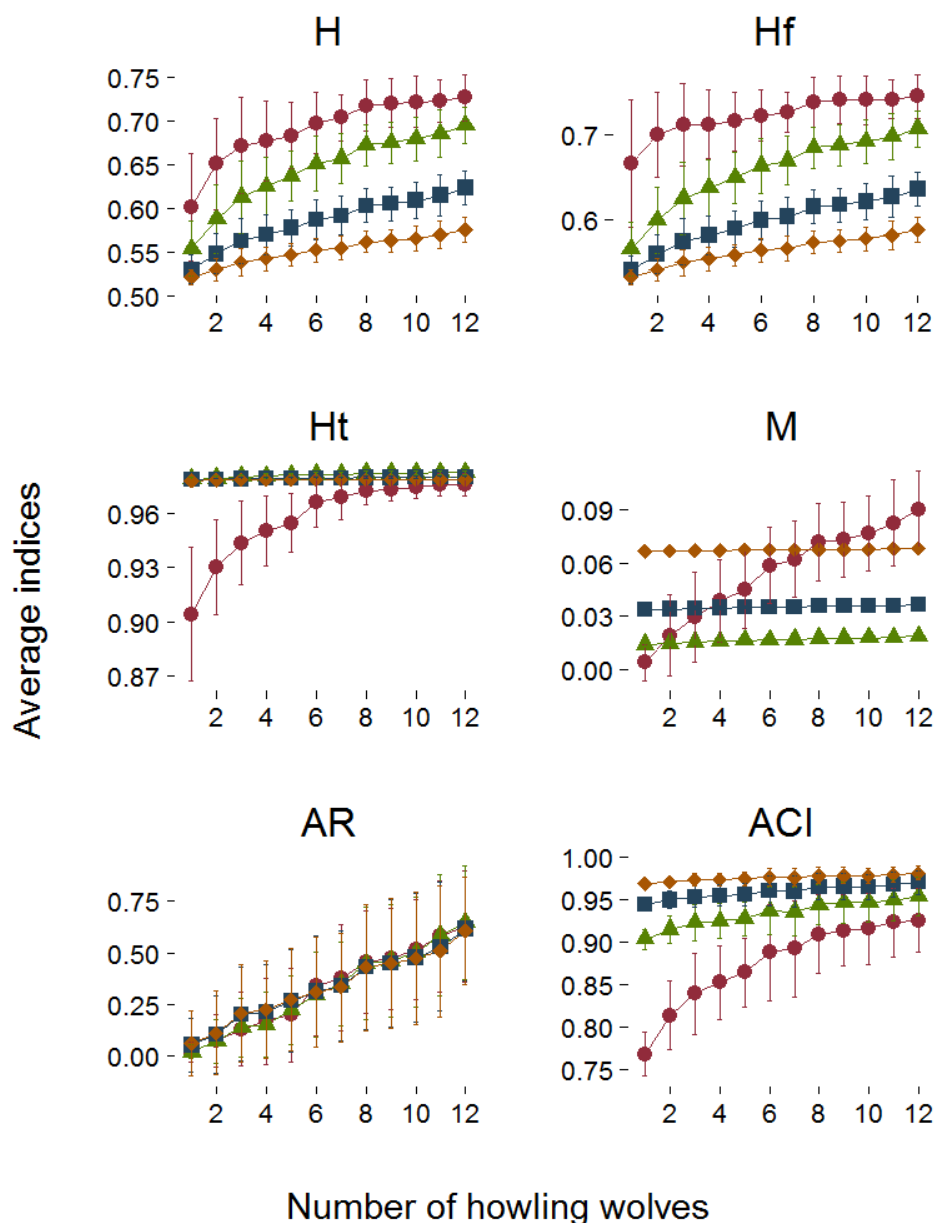


Figure 6: Relationship between the average indices ($\pm$ SD) and the number of howling wolves in artificial solos and choruses according to different signal-to-noise ratios (SNRs). Red circles: Control (T0) with artificial solos and choruses without any background noise. Green triangles: Treatment T1 (T0 mixed with background noise with a high SNR). Blue squares: treatment T2 (T0 mixed with background noise with a medium SNR). Orange diamonds: treatment T3 (T0 mixed with background noise with a low SNR). All indices for all treatments remained significantly positively correlated with the number of howling wolves (Spearman's rank correlation coefficient, $P < 0.01$).

3.3.3. Effect of the temporal overlap of howls in choruses

Only *Hf* and *AR* were not influenced by the different temporal overlap of howls in choruses in the test of this bias (permutational analysis of variance table, $P > 0.05$; **Figure 7**). The values of *H*, *Ht*, *M*, and *ACI* decreased when the howls of six wolves overlapped to a greater extent.

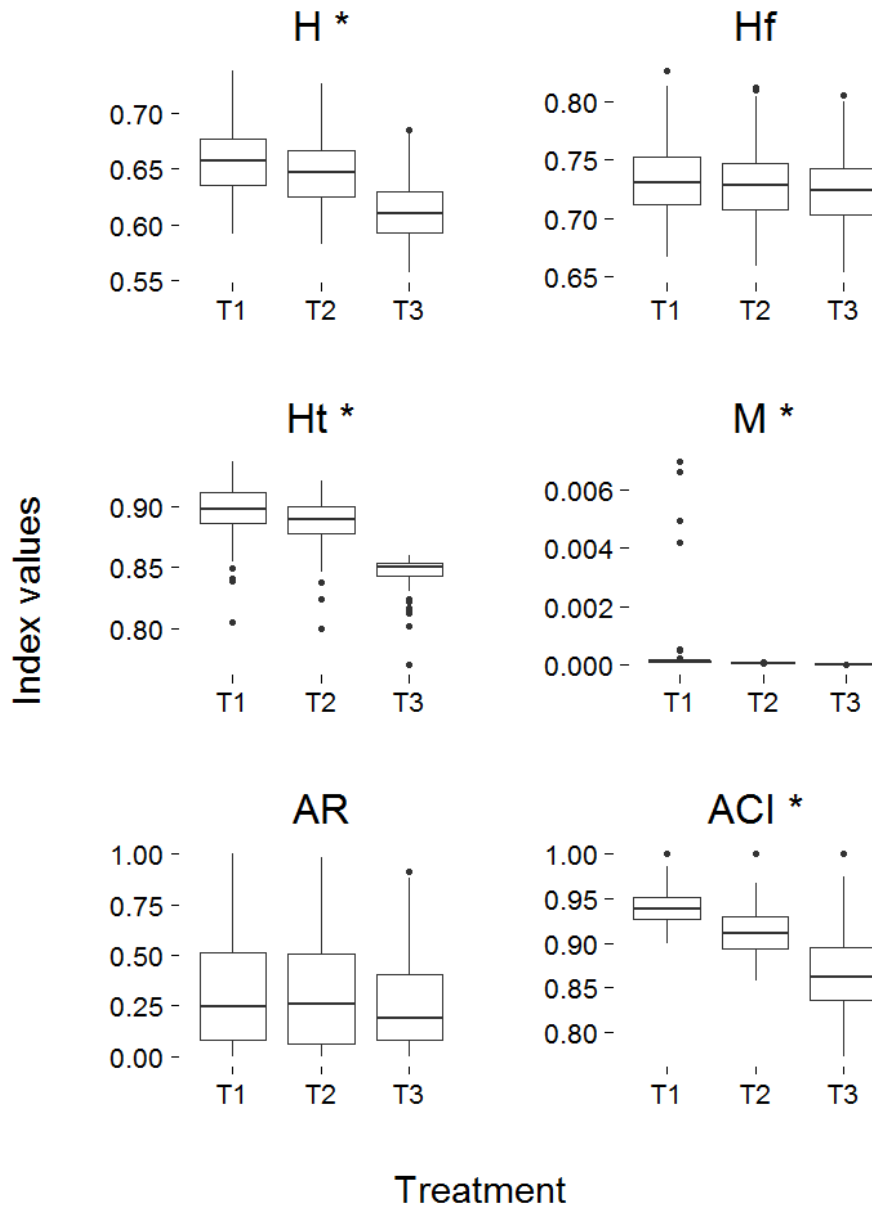


Figure 7: Effect of the temporal overlap of howls on the distributions of the index values. T1: Alternation of the six solos. T2: Half overlapping between the six solos. T3: Superposition of the six solos. Except for *Hf* and *AR*, all of the other indices (*) were influenced by the different test treatments, and thus they were affected by the temporal overlap of wolf howls (permutational analysis of variance table, $P < 0.05$).

4. Discussion

In this study, we tested the use of acoustic diversity indices for estimating wolf pack size. First, we examined the correlation between six indices and the number of howling wolves in artificial solos and choruses containing a known number of individuals. We then tried to predict the chorus size based on 16 real choruses. Finally, we explored the effects of three potential biases that might influence the acoustic index values and chorus size estimates.

All of the selected acoustic indices are potentially useful for obtaining chorus size estimates. Indeed, the average index values calculated based on artificial solos and choruses were positively correlated with the number of howling wolves. We found that the standard deviations were large due to high intra- and inter-individual variability. The identification of a threshold above a chorus size of 7–8 wolves when using *H*, *Hf*, and *Ht* indicated a limit on the estimation of the number of howling wolves, especially in large packs. This could be problematic even though the size of European packs rarely exceeds 10 wolves (see Duchamp et al. 2017). However, *M*, *AR*, and *ACI* may be the most promising acoustic indices because they had the advantage of not reaching this threshold.

In terms of the predictions of the number of howling wolves in choruses based on the reference values of the acoustic indices calculated from artificial solos and choruses, *ACI* was the only index that yielded good predictions (the chorus size was predicted correctly or it was very close to the actual size). For all of the other indices, the values obtained from real choruses often corresponded to a higher number of wolves than the actual chorus size. These overestimates can be explained by the presence of background noise, different vocalization types (e.g. barks, squeaks, and growls; Joslin, 1967; Harrington & Mech, 1978; Harrington & Asa, 2003), and howl modulations (amplitude and frequency). Indeed, according to the Beau Geste hypothesis (Krebs, 1977), wolves can modulate their howls to convince a neighboring pack that they are more numerous (Harrington, 1989). Therefore, modulations could be responsible for the increases in the index values, thereby leading to overestimates of the chorus size estimates based on the reference values for the acoustic indices. All of these factors combined with the other biases were sources of acoustic heterogeneity that could explain the higher index values obtained and the possibility of incorrect wolf chorus size estimates.

In our study, the reference values for each of the acoustic indices were obtained from artificial solos and choruses with a duration of 30 s, whereas a wolf chorus may last for approximately 1 min in the field (Harrington, 1989; Holt, 1998). Our investigations of how the values of the acoustic indices were influenced by the duration of the audio file showed that *Hf*, *AR*, and *ACI*

were not sensitive to this bias. Moreover, all of the average indices remained correlated with the number of howling wolves even with a longer audio file duration. Thus, if a field recording with a duration of less than 30 s containing chorus is analyzed, it would be possible to estimate the wolf chorus size by using the reference values for *Hf*, *AR*, and *ACI*. If the recording exceeds 30 s, it would be preferable to select only the 30 s interval where the acoustic diversity appears to be the most important (based on a visual inspection of the spectrogram) in order to increase the likelihood of detecting the maximum number of wolves. In future research, it would be useful to define a standardized file duration for calculating these indices, as suggested by Gasc et al. (2015).

Field recordings are inevitably affected by bias due to the presence of background noise. Thus, in order to estimate the number of wolves, it is important to determine the extent to which the reference values for the acoustic indices are affected by a decrease in the SNR. As shown by Gasc et al. (2015) for bird choruses, we found that all of the indices were influenced by the added background noise (i.e. decreased SNR), except for *AR*. Regardless of the treatment, all of the average indices remained positively correlated with the number of howling wolves. Very narrow value ranges were determined for *M* and *Ht*, thereby demonstrating the difficulty of distinguishing choruses made by variable numbers of wolves in the presence of background noise. Thus, the reference values for *AR* could be used to estimate the number of howling wolves in real choruses containing background noise. However, in order to obtain choruses with good acoustic quality (i.e. with a high SNR), recommendations are required in terms of the recording period (e.g. selecting the optimal meteorological conditions; Wiley & Richards, 1978), acoustic recording equipment employed (microphone sensitivity, microphone type, etc.), and the optimal and maximal distance between the howling wolves and the recording equipment. Acoustic filters could also be employed to reduce the background noise. However, using filters would be difficult when the noise and wolf howls share common frequencies (e.g. Fairbrass et al. 2017).

Finally, the temporal overlap of howls in choruses affected the acoustic index values. Regardless of the treatment, only *Hf* and *AR* were not influenced by the temporal overlap of howls, which suggests that their reference values could be used to estimate the number of wolves in real choruses, irrespective of whether the howls overlap. However, this bias was only tested for choruses of six wolves, so it would be interesting to test the responses of these indices to choruses comprising more or less wolves.

Ideally, as suggested by Gasc et al. (2017) for assemblages of bird species, a chorus database should be produced based on the field recordings containing a known number of wolves and

used to obtain new reference values for the acoustic indices. These values would integrate different SNRs, variable background noise compositions, and various wolf vocalization types, and thus the estimates of the number of howling wolves in real choruses could be more accurate. Finally, not all pack members participate in choruses (Harrington, 1987) and they could be temporarily and/or spatially separated from each other (Holt, 1998), so it is important to emphasize that the chorus size estimated using acoustic diversity indices is not an exact estimate of the wolf pack size. In order to maximize the likelihood of recording choruses containing all pack members, summer is the best period for obtaining field recordings because of the high and frequent howling activity (Harrington & Mech, 1979; Gazzola et al. 2002) in restricted areas called “rendezvous sites” during pup rearing (Harrington & Mech, 1978).

5. Conclusion

To the best of our knowledge, this is the first study to explore the possibility of using acoustic diversity indices for estimating wolf pack size. The most promising indices are the acoustic richness index AR , acoustic complexity index ACI , and spectral entropy index Hf , although they were sensitive to at least one of the three bias investigated in this study. As reported by Gasc et al. (2015), no index based on field recordings can provide a perfect estimate of the species richness, and this also applies to estimating the wolf pack size. Further investigations of acoustic indices could contribute to the development of an index or a set of indices for estimating the number of wolves in a pack and for reducing the effects of bias.

Grey wolf monitoring remains a major challenge and conservation and management efforts require pack size and population size estimates that are as accurate as possible. Our findings concerning the use of acoustic diversity indices for wolf monitoring are encouraging and promising even if further refinements are required. Future bioacoustic research is needed to develop effective tools for Grey wolf monitoring that could be applied easily in the field, thereby enhancing current survey methods.

6. Acknowledgments

We are grateful to Dr A. Gasc and Dr J. Sueur for their advice and constructive discussions about the ACI function in the Seewave package. We would like to thank the main financial partners of this study: the European Union within the framework of the Operational Program FEDER-FSE “Lorraine et Massif des Vosges 2014-2020”, the Commissariat à l’Aménagement

du Massif des Vosges for the FNADT (Fonds National d'Aménagement et de Développement du Territoire), the DREAL Grand Est (Direction Régionale pour l'Environnement, l'Aménagement et le Logement), the Région Grand Est, the ANRT (Agence Nationale de la Recherche et de la Technologie, CIFRE award), the Zoo d'Amnéville, and the Parc Animalier de Sainte Croix. We would also like to thank the Fondation Le Pal Nature for its complementary financial support. This study would not have been conducted without authorizations and agreements from animal parks (Parc Animalier de Sainte Croix and Zoo de Pescheray) to record wolf choruses.

7. References

- Araya-Salas, M., Smith-Vidaurre, G. & Webster, M. (2017) Assessing the effect of sound file compression and background noise on measures of acoustic signal structure. *Bioacoustics*.
- Audacity Team. (2014) Audacity: free audio editor and recorder. Version 2.0.6.
- Ausband, D.E., Skrivseth, J. & Mitchell, M.S. (2011) An automated device for provoking and capturing wildlife calls. *Wildlife Society Bulletin*, **35**, 498–503.
- Bassi, E., Willis, S.G., Passilongo, D., Mattioli, L. & Apollonio, M. (2015) Predicting the spatial distribution of wolf (*Canis lupus*) breeding areas in a mountainous region of Central Italy. *Plos One*, **10**, e0124698.
- Boitani, L. (2003) Wolf conservation and recovery. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. Wolves: behavior, ecology, and conservation. Chicago: University of Chicago Press; p. 317-340.
- Brennan, A., Cross, P.C., Ausband, D.E., Barbknecht, A. & Creel, S. (2013) Testing automated howling devices in a wintertime wolf survey. *Wildlife Society Bulletin*, **37**, 389–393.
- Depraetere, M., Pavoine, S., Jiguet, F., Gasc, A., Duvail, S. & Sueur, J. (2012) Monitoring animal diversity using acoustic indices: Implementation in a temperate woodland. *Ecological Indicators*, **13**, 46–54.
- Duchamp, C., Boyer, J., Briaudet, P.E., Leonard, Y., Moris, P., Bataille, A., Dahier, T., Delacour, G., Millisher, G., Miquel, C., Poillot, C. & Marboutin, E. (2012) A dual frame survey to assess time- and space-related changes of the colonizing wolf population in France. *Hystrix*, **23**, 14–28.
- Duchamp, C., Chapron, G., Gimenez, O., Robert, A., Sarrazin, F., Beudels-Jamar, R. & Le Maho, Y., 2017. Expertise scientifique collective sur la viabilité et le devenir de la population de loups en France à long terme sous la coordination ONCFS-MNHN de :

- Guinot-Ghestem, M., Haffner, P., Marboutin, É., Rousset, G., Savouret-Soubelet, A., Siblet, J.P. & Trudelle, L.
- Dugnol, B., Fernández, C. & Galiano, G. (2007) Wolf population counting by spectrogram image processing. *Applied Mathematics and Computation*, **186**, 820–830.
- Dugnol, B., Fernández, C., Galiano, G. & Velasco, J. (2007) Implementation of a diffusive differential reassignment method for signal enhancement: An application to wolf population counting. *Applied Mathematics and Computation*, **193**, 374–384.
- Dugnol, B., Fernández, C., Galiano, G. & Velasco, J. (2008) On a chirplet transform-based method applied to separating and counting wolf howls. *Signal Processing*, **88**, 1817–1826.
- Fabbri, E., Miquel, C., Lucchini, V., Santini, A., Caniglia, R., Duchamp, C., Weber, J.M., Lequette, B., Marucco, F., Boitani, L., Fumagalli, L., Taberlet, P. & Randi, E. (2007) From the Apennines to the Alps: Colonization genetics of the naturally expanding Italian wolf (*Canis lupus*) population. *Molecular Ecology*, **16**, 1661–1671.
- Fairbrass, A.J., Rennett, P., Williams, C., Titheridge, H. & Jones, K.E. (2017) Biases of acoustic indices measuring biodiversity in urban areas. *Ecological Indicators*, **83**, 169–177.
- Filibeck, U., Nicoli, M., Rossi, P. & Boscagli, G. (1982) Detection by frequency analyzer of individual wolves howling in a chorus: A preliminary report. *Bolletino di zoologia*, **49**, 151–154.
- Fuller, T.K. & Sampson, B.A. (1988) Evaluation of a simulated howling survey for wolves. *The Journal of Wildlife Management*, **52**, 60–63.
- Gasc, A., Francomano, D., Dunning, J.B. & Pijanowski, B.C. (2017) Future directions for soundscape ecology: The importance of ornithological contributions. *The Auk*, **134**, 215–228.
- Gasc, A., Pavoine, S., Lellouch, L., Grandcolas, P. & Sueur, J. (2015) Acoustic indices for biodiversity assessments: Analyses of bias based on simulated bird assemblages and recommendations for field surveys. *Biological Conservation*, **191**, 306–312.
- Gazzola, A., Avanzinelli, E., Mauri, L., Scandura, M. & Apollonio, M. (2002) Temporal changes of howling in south European wolf packs. *Italian Journal of Zoology*, **69**, 157–161.
- Harrington, F.H. (1975) *Response Parameters of Elicited Wolf Howling*.
- Harrington, F.H. (1986) Timber wolf howling playback studies: discrimination of pup from adult howls. *Animal behaviour*, **34**, 1575–1577.
- Harrington, F.H. (1987) Aggressive howling in wolves. *Animal Behaviour*, **35**, 7–12.
- Harrington, F.H. (1989) Chorus howling by wolves: acoustic structure, pack size and the Beau

- Geste Effect. *Bioacoustics*, **2**, 117–136.
- Harrington, F.H. & Asa, C.S. (2003) Wolf communication. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press; p. 66-103.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1978) Howling at two Minnesota wolf pack summer homesites. *Canadian Journal of Zoology*, **56**, 2024–2028.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1979) Wolf howling and its role in territory maintenance. *Behaviour*, **68**, 207–249.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1982) An analysis of howling response parameters useful for wolf pack censusing. *The Journal of Wildlife Management*, **46**, 686–693.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1983) Wolf pack spacing: Howling as a territory-independent spacing mechanism in a territorial population. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **12**, 161–168.
- Holt, T.D. (1998) *A Structural Description and Reclassification of the Wolf, Canis Lupus, Chorus Howl*.
- Joslin, P.W.B. (1967) Movements and homesites of timber wolves in Algonquin Park. *American Zoologist*, **7**, 279–288.
- Krebs, J.R. (1977) The significance of song repertoires: The Beau Geste hypothesis. *Animal Behaviour*, **25**, 475–478.
- Latham, M.C., Latham, A.D.M., Webb, N.F., Mccutchen, N.A. & Boutin, S. (2014) Can occupancy-abundance models be used to monitor wolf abundance? *PloS one*, **9**, e102982.
- Llaneza, L., García, E.J. & López-Bao, J.V. (2014) Intensity of territorial marking predicts wolf reproduction: Implications for wolf monitoring. *PLoS ONE*, **9**, e93015.
- Llaneza, L., Ordiz, A., Palacios, V. & Uzal, A. (2005) Monitoring wolf populations using howling points combined with sign survey transects. *Wildlife Biology in Practice*, **1**, 108–117.
- Longis, S., Leonard, Y., Sèbe, F. & Duchamp, C. (2004) Test de la méthode du hurlement provoqué. *Compte rendu suivi estival du loup 2004*, 1–4.
- Louvrier, J., Duchamp, C., Lauret, V., Marboutin, E., Cubaynes, S., Choquet, R., Miquel, C. & Gimenez, O. (2017) Mapping and explaining wolf recolonization in France using dynamic occupancy models and opportunistic data. *Ecography*, **40**, 1–13.
- Mech, L.D. (2017) Where can wolves live and how can we live with them? *Biological Conservation*, **210**, 310–317.
- Nowak, S., Jędrzejewski, W., Schmidt, K., Theuerkauf, J., Mysłajek, R.W. & Jędrzejewska, B.

- (2007) Howling activity of free-ranging wolves (*Canis lupus*) in the Białowieża Primeval Forest and the Western Beskidy Mountains (Poland). *Journal of Ethology*, **25**, 231–237.
- Nowak, S., Mysłajek, R.W. & Jędrzejewska, B. (2008) Density and demography of wolf, *Canis lupus* population in the western-most part of the Polish Carpathian Mountains, 1996–2003. *Folia Zoologica*, **57**, 392–402.
- Obrist, M.K., Pavan, G., Sueur, J., Riede, K., Llusia, D. & Márquez, R. (2010) Bioacoustics approaches in biodiversity inventories. *Manual on Field Recording Techniques and Protocols for All Taxa Biodiversity Inventories*, pp. 68–99.
- Palacios, V., Font, E., García, E.J., Svensson, L., Llaneza, L., Frank, J. & López-Bao, J.V. (2017) Reliability of human estimates of the presence of pups and the number of wolves vocalizing in chorus howls: implications for decision-making processes. *European Journal of Wildlife Research*, **63**.
- Palacios, V., Font, E. & Marquez, R. (2007) Iberian wolf howls: acoustic structure, individual variation, and a comparison with north american populations. *Journal of Mammalogy*, **88**, 606–613.
- Palacios, V., López-Bao, J.V., Llaneza, L. & Fernández, C. (2016) Decoding group vocalizations : The acoustic energy distribution of chorus howls is useful to determine wolf reproduction. *PLoS ONE*, **11**, e0153858.
- Papin, M., Pichenot, J., Guérol, F. & Germain, E. (2018) Acoustic localization at large scales : a promising method for grey wolf monitoring. *Frontiers in Zoology*, **15**.
- Passilongo, D., Bucciatti, A., Dessì-Fulgheri, F., Gazzola, A., Zaccaroni, M. & Apollonio, M. (2010) The acoustic structure of wolf howls in some eastern tuscan (Central Italy) free ranging packs. *Bioacoustics*, **19**, 159–175.
- Passilongo, D., Dessì-Fulgheri, F., Gazzola, A., Zaccaroni, M. & Apollonio, M. (2012) Wolf counting and individual acoustic discrimination by spectrographic analysis (abstract). *Bioacoustics*, **21**, 78–79.
- Passilongo, D., Mattioli, L., Bassi, E., Szabó, L. & Apollonio, M. (2015) Visualizing sound: counting wolves by using a spectral view of the chorus howling. *Frontiers in Zoology*, **12**, 12–22.
- Pieretti, N., Farina, A. & Morri, D. (2011) A new methodology to infer the singing activity of an avian community: The Acoustic Complexity Index (ACI). *Ecological Indicators*, **11**, 868–873.
- R Development Core Team. (2014) R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

- Rigg, R., Findo, S., Wechselberger, M., Gorman, M.L., Sillero-Zubiri, C. & Macdonald, D.W. (2011) Mitigating carnivore–livestock conflict in Europe: lessons from Slovakia. *Oryx*, **45**, 272–280.
- Root-Gutteridge, H., Bencsik, M., Chebli, M., Gentle, L.K., Terrell-nield, C., Bourit, A. & Yarnell, R.W. (2014) Improving individual identification in captive Eastern grey wolves (*Canis lupus lycaon*) using the time course of howl amplitudes. *Bioacoustics*, **23**, 1–15.
- Sèbe, F., Duchamp, C., Heitz, N., Latini, R. & Aubin, T. (2006) Howling playback as a tool for monitoring wolf packs : tests of signal propagation and acoustic frequency discrimination
- Sèbe, F., Heintz, N., Latini, R. & Aubin, T. (2004) Le wolf howling: un outil pour le recensement et la conservation des loups. Possibilités et limites de la méthode. *Colloque Grands Prédateurs et Pastoralisme*, pp. 53–59.
- Sony Creative Software. (2013) Sony SpectraLayers Pro™. Version 2.0.
- Sueur, J., Aubin, T. & Simonis, C. (2008) Seewave, a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*, **18**, 213–226.
- Sueur, J., Farina, A., Gasc, A., Pieretti, N. & Pavoine, S. (2014) Acoustic indices for biodiversity assessment and landscape investigation. *Acta Acustica united with Acustica*, **100**, 772–781.
- Sueur, J., Pavoine, S., Hamerlynck, O. & Duvail, S. (2008) Rapid Acoustic Survey for Biodiversity Appraisal. *Plos One*, **3**, e4065.
- Suter, S.M., Giordano, M., Nietlispach, S., Apollonio, M. & Passilongo, D. (2016) Non-invasive acoustic detection of wolves. *Bioacoustics*, **26**, 237–248.
- Theberge, J.B. & Falls, J.B. (1967) Howling as a means of communication in Timber Wolves. *American Zoologist*, **7**, 331–338.
- Tooze, Z.J., Harrington, F.H. & Fentress, J.C. (1990) Individually distinct vocalizations in timber wolves, *Canis lupus*. *Animal Behaviour*, **40**, 723–730.
- Towsey, M., Wimmer, J., Williamson, I. & Roe, P. (2014) The use of acoustic indices to determine avian species richness in audio-recordings of the environment. *Ecological Informatics*, **21**, 110–119.
- Valière, N., Fumagalli, L., Gielly, L., Miquel, C., Lequette, B., Poulle, M.-L., Weber, J.-M., Arlettaz, R. & Taberlet, P. (2003) Long-distance wolf recolonization of France and Switzerland inferred from non-invasive genetic sampling over a period of 10 years. *Animal Conservation*, **6**, 83–92.
- Wiley, R.H. & Richards, D.G. (1978) Physical constraints on acoustic communication in the atmosphere: Implications for the evolution of animal vocalizations. *Behavioral Ecology*

and *Sociobiology*, **3**, 69–94.

Wiley, R. & Richards, D. (1982) Adaptations for acoustic communication in birds: sound transmission and signal detection. *Acoustic communication in birds* (eds D.E. Kroodsma, E.H. Miller, & H. Ouellet), pp. 131–181. Academic press.

Zaccaroni, M., Passilongo, D., Bucciatti, A., Dessì-Fulgheri, F., Facchini, C., Gazzola, A., Maggini, I. & Apollonio, M. (2012) Group specific vocal signature in free-ranging wolf packs. *Ethology Ecology & Evolution*, **24**, 322–331.

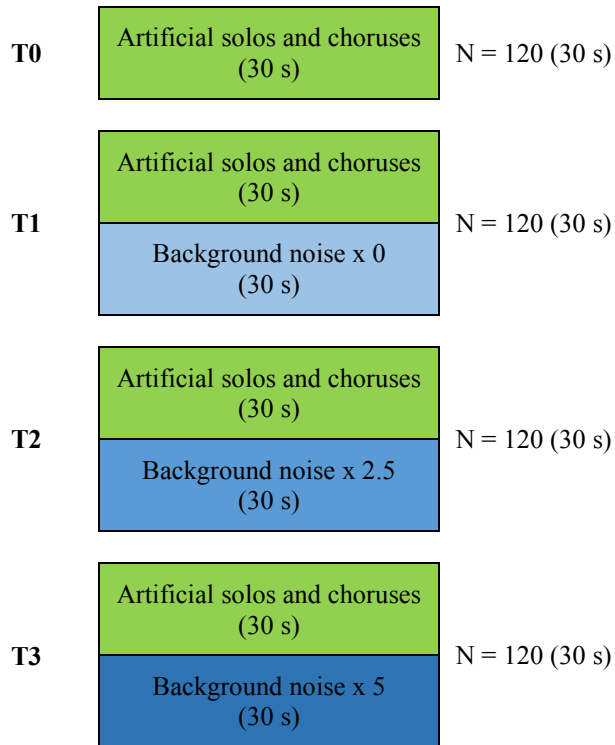
Zhang, L., Towsey, M., Zhang, J. & Roe, P. (2016) Computer-assisted sampling of acoustic data for more efficient determination of bird species richness. *Proceedings - 15th IEEE International Conference on Data Mining Workshop, ICDMW 2015*, pp. 798–805.

8. Supplementary materials

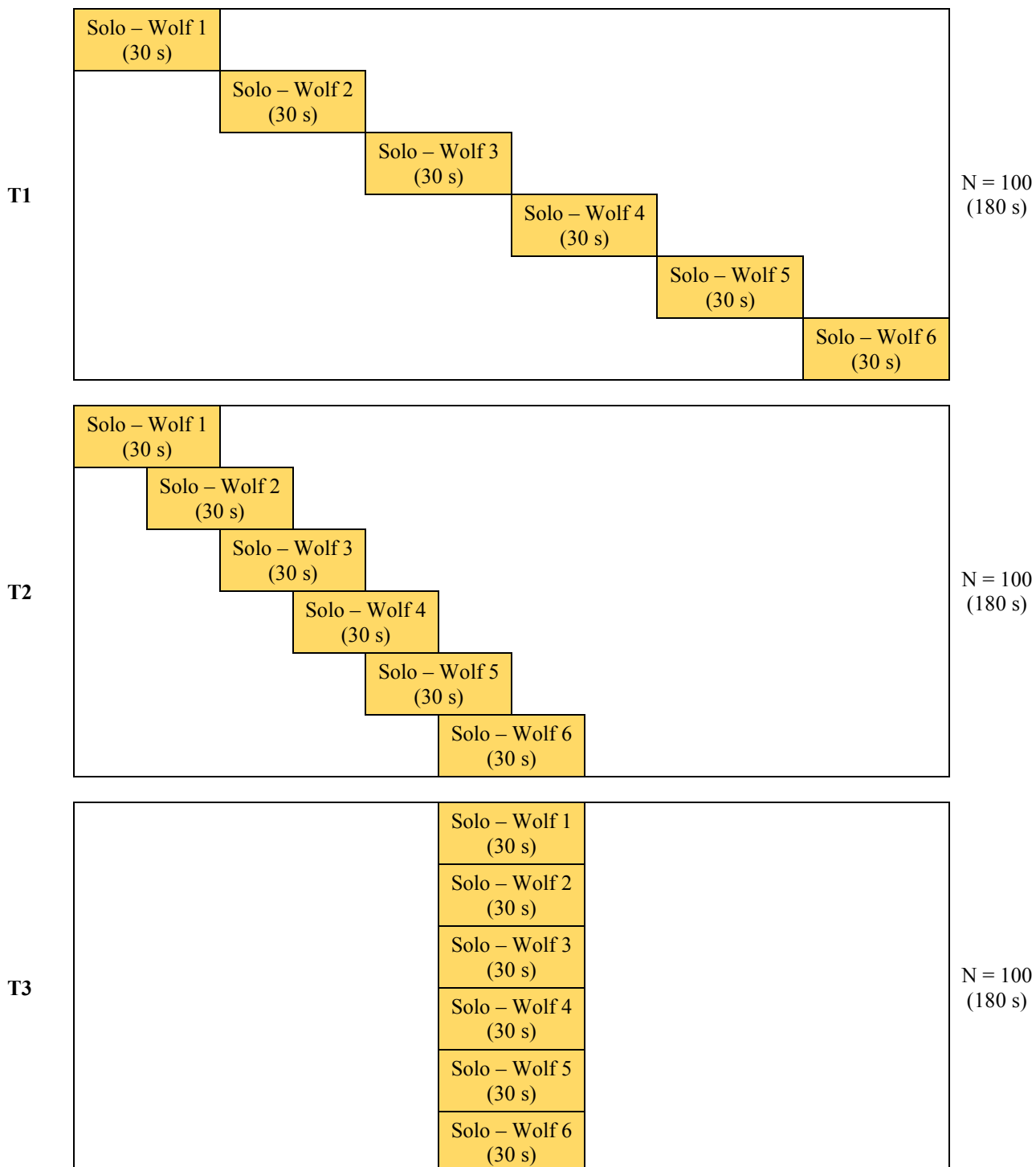
Supplementary material A: Creation of the sounds used to test the bias due to the audio file duration. T0: Control with artificial solos and choruses with a duration of 30 s. T1: T0 with 30 s of silence added. T2: T0 with 60 s of silence added.

T0	Artificial solos and choruses (30 s)	N = 120 (30 s)
T1	Artificial solos and choruses (30 s) Silence (30 s)	N = 120 (60 s)
T2	Artificial solos and choruses (30 s) Silence (60 s)	N = 120 (90 s)

Supplementary material B: Creation of the sounds used to test the bias due to the signal-to-noise ratio (SNR). T0: Control with artificial solos and choruses without background noise. T1: Artificial solos and choruses mixed with background noise at the amplitude level recorded in the field (high SNR). T2: Artificial solos and choruses mixed with background noise at the amplitude level multiplied by 2.5 (medium SNR). T3: Artificial solos and choruses mixed with background noise at the amplitude level multiplied by 5 (low SNR).



Supplementary material C: Creation of the sounds used to test the bias due to the temporal overlap of howls in choruses. T1: Alternation of the six solos. T2: Half overlapping between the six solos. T3: Superposition of the six solos.





DISCUSSION GÉNÉRALE

Discussion générale

Particulièrement développés pour le suivi de l'avifaune (e.g. Mennill et al. 2006 ; Dawson & Efford, 2009 ; Bardeli et al. 2010 ; Mennill, 2011), les suivis acoustiques sont maintenant de plus en plus employés pour le suivi des mammifères terrestres (e.g. *Pongo pygmaeus wurmbii* - Lameira & Wich, 2008 ; *Canis lupus* – Passilongo et al. 2015 ; *Chrysocyon brachyurus* - Rocha et al. 2015) ou aquatiques (e.g. les cétacés - Gandilhon et al. 2010 ; Samaran et al. 2010 ; Zimmer, 2011). Chez le Loup gris, les hurlements ont déjà fait l'objet d'études en bioacoustique, révélant ainsi le potentiel de certaines méthodes et outils pour son suivi (e.g. Harrington & Mech, 1978, 1982 ; Fuller & Sampson, 1988 ; Llaneza et al. 2005 ; Suter et al. 2016). Ainsi, dans le cadre de cette thèse, de nouvelles investigations ont été conduites afin de développer des méthodes adaptées au suivi acoustique du Loup gris et complémentaires à celles déjà existantes (e.g. pistage hivernal, relevé d'indices biologiques, HP, génétique, etc. - Harrington & Mech, 1978, 1979 ; Valière et al. 2003 ; Llaneza et al. 2005 ; Nowak et al. 2007, 2008 ; Blanco & Cortés, 2012 ; Duchamp et al. 2012 ; Latham et al. 2014 ; Bassi et al. 2015).

1. Apport de la bioacoustique pour le suivi du Loup gris : retour sur les principaux résultats

Cette thèse apporte de nouveaux éléments permettant de confirmer le potentiel de la bioacoustique pour le suivi d'un mammifère terrestre aux mœurs discrètes. En effet, grâce à l'étude des hurlements ainsi qu'à l'utilisation d'outils d'enregistrement et d'analyses acoustiques innovants, plusieurs méthodes ont été développées dans le but de compléter celles déjà utilisées pour le suivi du Loup gris. Pour chacune des méthodes présentées au cours des trois chapitres de cette thèse, des pistes et perspectives d'améliorations sont proposées dans l'objectif de gagner en précision et en fiabilité.

1.1. Optimisation de l'échantillonnage spatial à l'aide d'un réseau d'enregistreurs autonomes : apport des modélisations et du SIG pour la détection du Loup

La possibilité de détecter une espèce ou la présence d'individus (i.e. occurrence) a déjà été étudiée en bioacoustique, notamment grâce à l'utilisation de réseaux d'enregistreurs ou de microphones (Heupel et al. 2006 ; Marques et al. 2013 ; Farina et al. 2013 ; Spillman et al. 2015). Chez le Loup, l'équipe de Suter et al. (2016) a testé l'usage des enregistreurs autonomes

pour détecter la présence d'individus sans pour autant en approfondir la méthode d'échantillonnage. Cependant, le choix des sites d'enregistrement ainsi que la configuration des réseaux pour détecter une espèce grâce aux sons qu'elle émet, ont fait l'objet de peu d'investigations et suscitent des interrogations (Obrist et al. 2010 ; Huetz & Aubin, 2012 ; Marques et al. 2013 ; Job et al. 2016 ; Suter et al. 2016 ; Shonfield & Bayne, 2017 ; Yip et al. 2017 ; Royle, 2018). Or, les difficultés d'échantillonnage sont d'autant plus importantes lorsqu'il s'agit d'une espèce vivant sur de vastes territoires comme le Loup gris (Boitani, 2000 ; Fuller et al. 2003 ; Mech & Boitani, 2003 ; Nowak et al. 2008 ; Duchamp et al. 2012, 2017). Dans un premier temps, des enregistreurs autonomes ont ainsi été utilisés pour détecter la présence du Loup grâce à ses hurlements. Ce volet a eu pour objectif de développer une méthode permettant d'optimiser l'échantillonnage spatial dans le but de maximiser la surface couverte par les enregistreurs. Un réseau d'enregistreurs autonomes a donc été déployé à large échelle et selon un échantillonnage fixe (20 appareils espacés d'un kilomètre), dans deux milieux naturels contrastés (moyenne montagne et plaine) situés sur le front de colonisation du Loup gris dans le Nord-Est de la France (L'équipe animatrice du réseau, 2012, 2017 ; Laurent, 2014a, b). La propagation de hurlements de loups a été simulée depuis 60 sites d'émission au cours de trois nuits consécutives dans chacune des deux zones d'étude (30 km²). L'analyse des enregistrements a révélé que 70% des émissions avaient été enregistrés par au moins un enregistreur autonome en milieu de moyenne montagne et plus de 80% en milieu de plaine. Par ailleurs, des distances de propagation similaires à celles trouvées dans la littérature pour des environnements dominés par le milieu forestier (e.g. Harrington & Mech, 1982 ; Fuller & Sampson, 1998 ; Nowak et al. 2007 ; Ausband et al. 2011 ; Suter et al. 2016) ont été observées sur le terrain (supérieures à 2.7 km en milieu de moyenne montagne et à 3.5 km en milieu de plaine).

Alors que certaines émissions ont été enregistrées par plusieurs enregistreurs, d'autres n'ont cependant jamais été enregistrées. Ces premières constatations ont clairement montré que la localisation des sites d'émission et d'enregistrement, pouvaient influencer la détection d'un signal et donc d'une espèce. En effet, le milieu dans lequel le son est émis va avoir une incidence, à la fois sur sa propagation mais également sur sa détection. Un certain nombre de paramètres peuvent induire une dégradation des sons étudiés et ainsi empêcher leur détection (i.e. distance source-enregistreur, hauteur d'émission, caractéristiques acoustiques du signal émis, bruit ambiant, conditions météorologiques, végétation, topographie - Richards & Wiley, 1980 ; McGregor et al. 1997 ; Mennill et al. 2006, 2012 ; Muanke & Niezrecki, 2007 ; Obrist et al. 2010 ; Huetz & Aubin, 2012 ; Digby et al. 2013 ; Aubin et al. 2014 ; Frommolt & Tauchert,

2014 ; Spillman et al. 2015 ; Stepanian et al. 2016). Ainsi, l'espace actif des hurlements de loups ainsi que l'espace de détection des enregistreurs vont être affectés par les conditions dans lesquelles la production, la propagation et la réception des hurlements ont lieu (i.e. Bradbury & Vehrencamp, 2011).

Afin de prendre en considération ces nombreux paramètres, des analyses cartographiques et statistiques ont été réalisées. La propagation théorique des émissions sonores réalisées sur le terrain a été modélisée à l'aide d'un Système d'Information Géographique (ESRI, 2016) et d'outils associés (i.e. SPreAD-GIS - Harrison et al. 1980 ; Reed et al. 2010 ; Keyel et al. 2017). À partir des détections faites dans les enregistrements et des modélisations cartographiques, la probabilité de détection du son a été prédite et cartographiée sur l'ensemble des zones d'étude permettant ainsi de visualiser les zones les plus propices à sa propagation ainsi qu'à sa détection. La surface concernée par une probabilité de détection forte à très forte (supérieure à 0.5) représentait près de 5.72 km² en milieu de moyenne montagne contre 21.43 km² en milieu de plaine. Concernant les espaces de détection efficaces des enregistreurs, la proportion surfacique efficace était de 19.19 ± 5.23 % (moyenne $\pm$ SD) pour les enregistreurs déployés en milieu de moyenne montagne et de 71.24 ± 18.34 % (moyenne $\pm$ SD) pour ceux situés en milieu de plaine. Les cartographies issues de ce travail ont mis en évidence l'effet du paysage (topographie notamment) sur la propagation et la détection du son, confirmant le réel intérêt d'optimiser la localisation des sites d'enregistrement. Ainsi, à l'issue de cette phase, une approche par étapes a permis de générer de nouvelles localisations afin de maximiser la surface couverte par le réseau d'enregistreurs autonomes pour le suivi du Loup. Toutefois, bien que la méthode décrite offre l'opportunité d'optimiser l'échantillonnage spatial grâce à l'estimation des espaces de détection des enregistreurs, elle ne permet cependant pas d'obtenir une représentation cartographique de ces derniers. Cette perspective intéressante reste à développer.

Compte tenu de ses grandes capacités de dispersion et de sa forte plasticité (Mech & Boitani, 2003 ; Ciucci et al. 2009), détecter la présence du Loup ou l'installation de meutes sur de nouveaux territoires se révèle parfois difficile. En effet, les méthodes actuellement employées pour détecter la présence et suivre l'expansion naturelle du Loup reposent sur un fort effort de prospection conséquent sur le terrain (Blanco & Cortés, 2012). La détection du Loup passe notamment par la récolte d'indices biologiques (Heinemeyer et al. 2004 ; Llana et al. 2005, 2014 ; Blanco & Cortés, 2012 ; Duchamp et al. 2012 ; Jiménez et al. 2016), le pistage hivernal (Duchamp et al. 2003, 2012 ; Fuller et al. 2003 ; Nowak et al. 2008 ; Latham et al. 2014 ; Bassi et al. 2015), l'utilisation de pièges photographiques (Kays & Slauson, 2004 ; Šver et al. 2016), ou encore les hurlements provoqués (HP ; Harrington & Mech, 1982 ; Harrington, 1986 ;

Llaneza et al. 2005 ; Nowak et al. 2007, 2008 ; Blanco & Cortés, 2012 ; Duchamp et al. 2012). Ainsi, la méthodologie développée dans ce premier chapitre pourrait compléter ces méthodes et même être utilisée pour renforcer l'efficacité des HP. En effet, le choix des sites d'émission et d'écoute pourraient être optimisés. De cette façon, l'espace actif des hurlements émis par les hommes d'une part et d'autre part, la couverture du dispositif d'écoute des hurlements de loups pourraient être connus et maximisés.

1.2. La localisation acoustique à large échelle : des résultats prometteurs

Différentes études ont exploré et mis en évidence la possibilité de suivre des espèces grâce à la localisation acoustique des individus (Mennill et al. 2006 ; Frommolt & Tauchert, 2014 ; Stepanian et al. 2016 ; Hedley et al. 2017), notamment à l'aide de réseaux d'enregistreurs/microphones (Blumstein et al. 2011 ; Mennill et al. 2012 ; Wilson et al. 2014 ; Kan et al. 2015). Le suivi acoustique passif basé sur la localisation des individus est appliqué depuis longtemps en milieu marin par les biologistes (Watkins & Schevill, 1972 ; Clark, 1980 ; Zimmer, 2011). En effet, du fait d'une meilleure propagation du son dans l'eau, la détection et la localisation des individus à des distances importantes (>1 km) apparaissent davantage réalisables en milieu marin que dans les milieux terrestres (Van Parijs et al. 2009). Ainsi, peu d'études ont été menées sur la possibilité de localiser des espèces terrestres à de larges échelles spatiales.

Récemment, quelques études portant sur la localisation acoustique ont été conduites sur des espèces terrestres émettant des sons de longue portée (e.g. Kan et al. 2015 ; Kalan et al. 2016 ; Spillmann et al. 2015). Ces études ont jusqu'à présent permis d'obtenir des données variées, relatives à l'utilisation du territoire ou sur la façon dont les individus occupaient leur domaine vital (e.g. *Pan troglodytes* - Kalan et al. 2016). Elles offrent également la possibilité de dénombrer les individus en se basant sur leur distribution dans la zone d'étude (e.g. *Botaurus stellaris* - Frommolt & Tauchert, 2014). Ce type d'approche semblait donc intéressant à explorer dans le cas du Loup gris.

Dans ce contexte, le second chapitre de cette thèse a eu pour objectif d'évaluer la possibilité de localiser les loups grâce à leurs hurlements à l'aide de réseaux d'enregistreurs autonomes disposés sur de vastes superficies (même dispositif d'émission et d'enregistrement que pour le **Chapitre I**). Un algorithme de localisation acoustique a été appliqué aux émissions enregistrées par plusieurs microphones (i.e. Sound Finder – Wilson et al. 2014). Le nombre d'émissions ayant servi à la localisation acoustique s'est avéré plus important en milieu de plaine (45) qu'en

milieu de moyenne montagne (14). Après l'application d'un seuil permettant d'exclure les valeurs aberrantes (erreur temporelle associée aux estimations de localisation), la précision de la localisation était de 167 ± 308 m (moyenne $\pm$ SD) pour les deux zones d'étude confondues. Compte tenu de la faible densité de microphones (0.67 enregistreur par km²) et de la superficie des deux zones d'étude (30 km²), cette valeur apparaît cohérente avec les résultats obtenus par d'autres études conduites à plus petite échelle (Bower & Clark, 2005 ; Muanke & Niezrecki, 2007 ; Mennill et al. 2012 ; Wilson et al. 2014). La précision a du nécessairement être influencée par le nombre d'émissions sonores exploitables. Dans notre cas, la distance séparant le centre du réseau de microphones utilisés et le site d'émission a aussi eu une influence. Plus cette distance augmentait et plus la précision diminuait, comme l'ont déjà montré de précédents travaux (Bower & Clark, 2005 ; Mennill et al. 2012 ; Spillmann et al. 2015). Ainsi, tout comme la végétation et la topographie, la distance participe à la dégradation du son lors de sa propagation et influence négativement sa détection par les enregistreurs (Wiley & Richards, 1978 ; Richards & Wiley, 1980 ; McGregor et al. 1997 ; Mennill et al. 2006, 2012 ; Muanke & Niezrecki, 2007 ; Obrist et al. 2010 ; Huetz & Aubin, 2012 ; Digby et al. 2013 ; Frommolt & Tauchert, 2014 ; Spillman et al. 2015 ; Stepanian et al. 2016).

Comme pour bien d'autres espèces, la localisation acoustique s'avère prometteuse pour le suivi du Loup gris à large échelle et vient compléter les méthodes existantes. Dans les pays où l'espèce est présente, la localisation des individus ou des meutes repose actuellement sur la collecte d'échantillons biologiques (Heinemeyer et al. 2004 ; Llaneza et al. 2005, 2014 ; Blanco & Cortés, 2012 ; Duchamp et al. 2012 ; Jiménez et al. 2016) qui requiert la mobilisation d'un réseau d'observateurs (Blanco & Cortés, 2012). La télémétrie, plus intrusive, ne permet quant à elle le suivi que de quelques individus (Duchamp et al. 2012) contrairement à la localisation acoustique (McGregor et al. 1997 ; Bower & Clark, 2005 ; Terry et al. 2005 ; Heupel et al. 2006 ; Mennill et al. 2006, 2012 ; Marques et al. 2013 ; Frommolt & Tauchert, 2014 ; Griffin et al. 2015 ; Spillman et al. 2015 ; Stepanian et al. 2016). Enfin, la méthode des HP est couramment employée pour localiser grossièrement les sites de rendez-vous (Harrington & Mech, 1982 ; Harrington, 1986 ; Llaneza et al. 2005 ; Nowak et al. 2007, 2008 ; Blanco & Cortés, 2012 ; Duchamp et al. 2012 ; Bassi et al. 2015). Associée à la bioacoustique (approche développée dans le cadre de cette thèse), ces localisations pourraient être affinées.

1.3. Les indices de diversité acoustique comme nouvel outil pour l'estimation de l'effectif des meutes

Les récentes avancées technologiques ont participé à l'émergence d'une nouvelle approche pour évaluer rapidement la biodiversité appelée '*Rapid Acoustic Survey*' (RAS - Sueur et al. 2008a). Parmi les outils utilisés par la RAS, les indices de diversité acoustique ont été développés pour le suivi des communautés et l'évaluation de la biodiversité (Sueur et al. 2008a ; Obrist et al. 2010). Initialement conçus pour quantifier la diversité au sein d'assemblages multispécifiques (e.g. Sueur et al. 2008a ; Depraetere et al. 2012 ; Harris et al. 2016 ; Mammides et al. 2017), leur usage pourrait être élargi à la quantification du nombre d'individus au sein d'assemblages monospécifiques (chorus d'individus d'une même espèce). C'est dans cette perspective que le troisième chapitre de cette thèse a été abordé afin de développer l'usage d'indices de diversité acoustique pour estimer l'effectif des meutes de loups grâce à leurs hurlements.

Dans un premier temps, les six indices de diversité acoustique H , H_f , H_t , M , AR et ACI (Sueur et al. 2008a ; Pieretti et al. 2011 ; Depraetere et al. 2012) ont été calculés sur des chorus artificiels afin d'étudier la corrélation entre les valeurs d'indices et le nombre de loups hurlant. Sur la base de hurlements extraits de chorus enregistrés en parcs animaliers, des solos et des chorus artificiels ont été créés afin de contrôler différents paramètres comme le nombre de loups, le bruit ambiant ou encore le type de vocalisations (hurlements uniquement). Tout d'abord, une corrélation positive a été mise en évidence entre chacun des 6 indices testés et le nombre de loups hurlant, avec toutefois de larges écarts-types associés aux valeurs moyennes par effectif. Par ailleurs, les indices H , H_f et H_t atteignaient un plateau à partir de 7-8 loups. Les estimations du nombre d'individus pourraient dès lors être sur- ou sous-estimées et/ou limitées à un certain nombre de loups. Dans un second temps, les valeurs d'indices calculées sur la base des solos et chorus artificiels ont été intégrées à un modèle statistique dans le but de prédire le nombre de loups dans de vrais chorus (i.e. chorus enregistrés en captivité sans aucune modification) dont l'effectif était connu. L'indice ACI a fourni des prédictions proches de l'effectif réel tandis que, pour les autres indices, les prédictions surestimaient l'effectif réel dans la plupart des cas. Certaines sources d'hétérogénéité acoustique, absentes dans les chorus artificiels, peuvent expliquer ces erreurs de prédiction (i.e. autres types de vocalisations de loups, bruit ambiant, rapport signal/bruit variable, etc.). Afin d'évaluer l'influence de ces potentiels biais sur les valeurs des indices, trois d'entre eux, pouvant être rencontrés lors d'enregistrements réalisés sur le terrain (e.g. Gasc et al. 2015), ont fait l'objet d'une étude

approfondie (la durée du fichier audio, le rapport signal/bruit, le chevauchement temporel des hurlements de loups). À l'issue des tests réalisés, tous les indices ont été influencés par un moins un des biais et ce, de manière différente d'un biais à un autre. Finalement, trois indices, à savoir *ACI*, *AR* et *Hf*, ressortent de cette étude, offrant ainsi les meilleures perspectives pour estimer l'effectif des meutes. L'utilisation de ces indices pour le suivi du Loup gris s'avèrera très probablement plus facile et rapide que les autres méthodes acoustiques basées sur une analyse plus poussée des chorus (i.e. individualisation, discrimination des fréquences fondamentales et des harmoniques, technique de traitement d'image basé sur les spectrogrammes, etc. - Filibeck et al. 1982 ; Harrington, 1989 ; Longis et al. 2004 ; Sèbe et al. 2004 ; Dugnot et al. 2007a, 2007b, 2008 ; Passilongo et al. 2010, 2015 ; Zaccaroni et al. 2012).

Afin de réduire l'influence de ces biais sur les valeurs des indices, et donc sur les estimations d'effectif obtenues, quelques approfondissements et recommandations techniques peuvent être proposés. Dans un premier temps, comme suggéré par Gasc et al. (2017) pour des chorus d'oiseaux, une base de données de chorus de loups enregistrés en captivité et/ou en milieu naturel, dont le nombre d'individus y participant est connu, devrait être créée afin de mieux prendre en compte l'hétérogénéité acoustique rencontrée lors de chorus naturels. Pour cela, il faudrait disposer d'un échantillon suffisamment étoffé. Cette base de données pourrait également inclure différentes conditions d'enregistrement (contexte paysager, conditions météorologiques, distance loups-matériel d'enregistrement, bruit ambiant, etc.) pouvant affecter la qualité et le contenu des chorus enregistrés (Richards & Wiley, 1980 ; McGregor et al. 1997 ; Mennill et al. 2006, 2012 ; Muanke & Niezrecki, 2007 ; Obrist et al. 2010 ; Huetz & Aubin, 2012 ; Zollinger et al. 2012 ; Digby et al. 2013 ; Frommolt & Tauchert, 2014 ; Spillman et al. 2015 ; Stepanian et al. 2016). Pour le calcul des indices, une durée de fichier standard, de 30 secondes par exemple, devrait aussi être définie (Gasc et al. 2015 pour des chorus d'oiseaux). Enfin, le bruit propre du matériel d'enregistrement peut varier d'un modèle à un autre (Araya-Salas et al. 2017), pouvant ainsi participer à une variabilité des valeurs de référence des indices. La base de données de chorus devrait donc être constituée d'enregistrements faits avec le même matériel (e.g. microphone directionnel, enregistreurs autonomes ; **Figure 6**) afin d'éviter les potentiels biais induits par ce choix.



Figure 6 : Enregistrement d'un chorus de loups gris à l'aide d'un microphone directionnel super-cardioïde et d'un enregistreur numérique (A - © CROC 2014) ou d'un enregistreur autonome fixé à un arbre dans l'enclos (B - © CROC 2016) en captivité (C - Parc Animalier de Sainte Croix - © M. PAPIN / CROC 2016).

Les méthodes actuelles permettant d'obtenir des estimations d'effectifs des populations de loups reposent sur le pistage hivernal (Duchamp et al. 2003 ; Fuller et al. 2003 ; Nowak et al. 2008 ; Duchamp et al. 2012 ; Latham et al. 2014 ; Bassi et al. 2015), limité à la présence de neige sur le terrain (Blanco & Cortés, 2012) ou encore sur les analyses génétiques des indices biologiques récoltés (Valière et al. 2003 ; Apollonio et al. 2004 ; Schwartz & Monfort, 2004 ; Randi, 2011 ; Stenglein et al. 2011 ; Duchamp et al. 2012 ; Bassi et al. 2015) qui peuvent

s'avérer onéreuses (Blanco & Cortés, 2012). Les indices de diversité pourraient être une méthode complémentaire pour l'estimation de l'effectif des meutes. Leur usage pourrait notamment se révéler plus précis et moins sujet à discussion que les estimations obtenues à l'oreille lors de sessions de HP (Harrington, 1975, 1989 ; Harrington & Mech, 1979, 1982 ; Llaneza et al. 2014 ; Palacios et al. 2017). Dans tous les cas, il est nécessaire de soulever que les effectifs estimés à partir de méthodes acoustiques sont des estimations minimales (comptage des loups hurlant uniquement). En effet, certains loups peuvent ne pas être présents lors des chœurs ou ne pas participer à ces derniers (Harrington & Mech, 1979, 1982).

2. Vers une application concrète des méthodes développées

2.1. Du son synthétique aux hurlements de loups

Dans le cadre de la présente thèse, la propagation de hurlements de loups a été simulée sur la base de l'émission d'un son synthétique plat (voir **Chapitre 1** et **Chapitre 2**). Or, les hurlements de loups sont aussi caractérisés par des modulations de fréquence et d'amplitude (Harrington, 1989 ; Tooze et al. 1990 ; Palacios et al. 2007 ; Passilongo et al. 2010) qui seraient plus avantageuses pour la communication à longue distance (Frommolt, 1999).

Ainsi, un second son synthétique modulé en fréquence et en amplitude a été créé (package Seewave sur R - Sueur et al. 2008b) dans l'objectif de se rapprocher un peu plus de la structure acoustique d'un hurlement modulé de Loup (voir **Figure 7**).

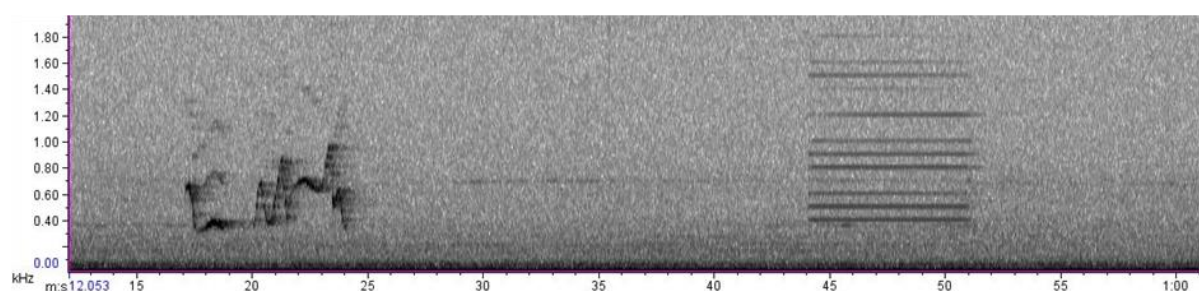


Figure 7 : Spectrogramme représentant les deux sons synthétiques émis puis enregistrés par un SM3 en milieu de plaine ; à gauche : son modulé ; à droite : son plat (logiciel Raven Pro – Charif et al. 2010).

Diffusé lors de la session de terrain conduite en 2016 en plaine (Côtes de Meuse), ce son modulé n'a cependant pas pu être exploité pour les analyses des deux premiers chapitres faute de temps. Il pourrait, à la suite de cette thèse, faire l'objet d'analyses supplémentaires. En effet, la lecture des enregistrements (écoute et visualisation) a d'ores et déjà montré que ce son modulé était

davantage détecté que le son sans modulation, ses parties très modulées en amplitude étant plus souvent audibles et visibles sur les spectrogrammes. Ceci conforte l'idée selon laquelle l'individu émetteur doit favoriser l'émission répétée de sons modulés à la fois en fréquence et en amplitude afin que les informations nécessaires à la communication soient transmises au receveur (Richards & Wiley, 1980 ; Wiley & Richards, 1982).

La reproduction des analyses avec ce nouveau son modulé pourrait être envisagée et les résultats comparés à ceux déjà obtenus (espace de détection efficace, localisation). Concernant la localisation, les mesures de temps d'arrivée du son pourraient probablement être encore plus précises avec un son modulé, compte tenu de la possibilité d'utiliser une corrélation croisée, inopérante sur le son plat utilisé.

Pour finir, l'ultime aboutissement de ce travail sera sa mise en application en milieu naturel avec des hurlements de loups. Ainsi, en vue de tester les méthodes développées dans les deux premiers chapitres de cette thèse, des visites de sites de présence du Loup gris dans le Parc National du Mercantour ont été réalisées en septembre 2016. À cette occasion, deux vallées ont été visitées : la Vallée de la Roya (Vallée des Merveilles) et la Vallée de la Tinée (voir **Figure 8**). Dans ces secteurs, les sites de rendez-vous sont connus et des événements de reproduction ont été détectés au cours des dernières années. L'objectif de cette rencontre était d'évaluer la possibilité technique et logistique (nombre d'agents travaillant dans chaque vallée, accès aux sites, présence de troupeaux, présence d'arbres, etc.) de la mise en place de cette nouvelle expérimentation en s'appuyant notamment sur le soutien d'agents du parc sur le terrain.

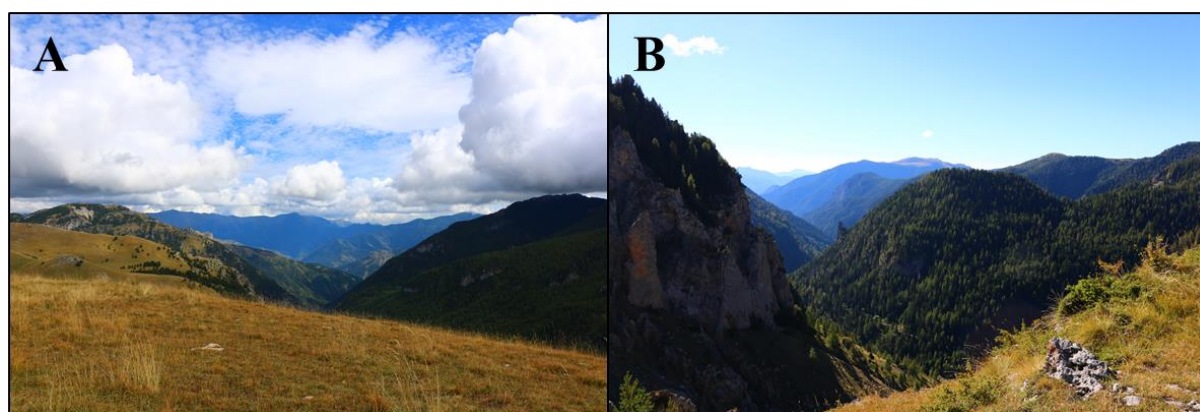


Figure 8 : Photographies de la Vallée de la Roya (A) et de la Vallée de la Tinée (B) situées dans le Parc National du Mercantour (© M. PAPIN / CROC 2016).

2.2. Optimisation temporelle de l'échantillonnage acoustique

En complément de l'optimisation de l'échantillonnage spatial, il est également nécessaire d'optimiser l'échantillonnage temporel. En effet, les méthodes développées au cours de cette thèse requièrent nécessairement l'enregistrement de hurlements de loups. Or, certaines périodes de l'année et de la journée sont plus propices à la production de vocalisations comme les mois de juillet et août (Harrington & Mech, 1978, 1979, 1982, 1983 ; Gazzola et al. 2002 ; Nowak et al. 2007) ainsi que le crépuscule et l'aube (Harrington & Mech, 1978 ; Gazzola et al. 2002). Ces plages temporelles annuelles et journalières pourraient être choisies afin de maximiser les chances d'enregistrer des hurlements.

De plus, durant l'été et dans le cas de meutes reproductrices, les loups ont tendance à limiter leurs déplacements, restant ainsi sur les sites de rendez-vous, notamment pour l'éducation des jeunes (Harrington & Mech, 1978 ; Brennan et al. 2013 ; Llaneza et al. 2014 ; Jiménez et al. 2016). Cette configuration peut rendre plus aisée l'estimation de l'effectif des meutes par exemple. Enfin, d'un point de vue logistique, la période estivale apparaît comme un moment de l'année propice à la mise en place de suivis acoustiques en raison des conditions météorologiques favorables, et de l'accessibilité aux zones d'étude pour la pose des enregistreurs. Compte tenu de tous ces éléments, les méthodes de suivi acoustique du Loup devraient être logiquement mises en place au cours de l'été.

2.3. Approche intégrative de l'acoustique passive : l'automatisation

Grâce au développement de nouveaux outils d'enregistrement, en particulier des enregistreurs autonomes, et aux capacités de stockage toujours plus importantes, la quantité de données acoustiques récoltées a incroyablement augmenté (Acevedo & Villanueva-Rivera, 2006 ; Obrist et al. 2010 ; Huetz & Aubin, 2012 ; Digby et al. 2013). L'acquisition de ces nombreuses données acoustiques a mis en exergue un nouveau challenge, celui de traiter tous ces enregistrements. Dans l'hypothèse et l'espoir que les méthodes développées dans cette thèse soient par la suite utilisées, les chercheurs ou techniciens seront inévitablement confrontés à cette difficulté. En effet, dans le cadre du suivi du Loup gris, seuls les enregistrements contenant des chorus seraient à considérer et donc à analyser. Pour pallier à ce problème, un détecteur automatique pourrait être créé pour détecter les hurlements de loups dans les enregistrements, permettant ainsi de traiter un plus grand nombre de données acoustiques tout en gagnant du temps.

Les outils de traitement automatiques des sons permettent de faire gagner du temps aux chercheurs tout en faisant diminuer l'effet observateur (Acevedo & Villanueva-rivera, 2006 ;

Dawson & Efford, 2009 ; Obrist et al. 2010 ; Digby et al. 2013 ; Towsey et al. 2014a ; Rocha et al. 2015 ; Palacios et al. 2016). Par définition, la détection nécessite une discrimination entre la présence ou l'absence d'un signal d'intérêt (Wiley & Richards, 1982). Différentes méthodes et logiciels sont maintenant disponibles pour paramétrer un détecteur automatique dans le but d'extraire les sons recherchés dans les longues séquences d'enregistrement (e.g. Swiston & Mennill, 2009 ; Rocha et al. 2015 ; Shonfiels & Bayne, 2017). En plus d'échantillonner automatiquement les enregistrements acoustiques pour ne cibler que les périodes contenant les vocalisations d'intérêt, le détecteur pourrait également exclure certaines d'entre elles contenant trop de bruit, tels que la pluie ou le vent (i.e. Wimmer et al. 2013). En effet, avec de telles conditions météorologiques, les enregistrements se retrouvent « pollués » par ces bruits parasites et ne sont donc généralement pas exploitables (e.g. Zhang et al. 2016). Ainsi, il serait à nouveau possible de gagner du temps en excluant les données inexploitables tout en maximisant les chances de détecter l'espèce étudiée (e.g. Wimmer et al. 2013). De la même manière, un faible rapport signal/bruit peut entraîner des erreurs dans la détection. Pour limiter ce type de biais, des filtres de basses fréquences pourraient être utilisés en complément afin de réduire l'impact du bruit ambiant et/ou de certains bruits indésirables (avion, voiture, éolienne, etc. – e.g. Sueur et al. 2008a ; Towsey et al. 2014c). L'utilisation de ces filtres reste tout de même limitée et compliquée lorsque ces bruits couvrent les mêmes bandes de fréquences que les sons étudiés (e.g. Fairbrass et al. 2017), à savoir les hurlements dans le cas du Loup. Finalement, le développement d'un tel détecteur pourrait permettre d'obtenir des mesures automatiques des temps d'arrivée du son plus rigoureuses et plus rapides, contribuant ainsi à une localisation plus précise des loups. Cependant, compte tenu des modulations d'amplitude et de fréquences ainsi que des variations temporelles entre les hurlements de loups (Theberge & Falls, 1967 ; Tooze et al. 1990 ; Palacios et al. 2007 ; Root-Gutteridge et al. 2014a), le détecteur créé devra être entraîné afin qu'il puisse prendre en compte les différentes structures acoustiques de ces vocalisations (e.g. modèles de Markov cachés - '*Hidden Markov Model*' – Obrist et al. 2010 ; Wimmer et al. 2010 ; Pace et al. 2012 ; Towsey et al. 2012). Et, comme dans beaucoup d'autres cas, une vérification des détections devra tout de même être réalisée par un opérateur afin de limiter les erreurs (faux positifs par exemple – e.g. Rocha et al. 2015).

2.4. L'opérateur : un élément clé

L'utilisation et le paramétrage des enregistreurs autonomes ne nécessitent pas de compétences particulières, cependant les analyses qui en découlent requièrent, la plupart du temps, un

opérateur qualifié (Dawson & Efford, 2009). Ainsi, même si ces nouvelles technologies permettent de diminuer le temps passé sur le terrain, les analyses acoustiques restent tout de même longues et nécessitent l'expertise d'un opérateur tant sur les aspects faunistique qu'acoustique et statistique. Comme suggéré par Digby et al. (2013), les enregistreurs autonomes viennent compléter les prospections de terrain réalisées par l'Homme, tout en augmentant la couverture spatiale et temporelle des suivis mis en place. Les visites de terrain, l'expérience ainsi que le ressenti lors de prospections sont des éléments importants à prendre en considération en amont de la mise en place d'un réseau d'enregistreurs autonomes pour le suivi d'une espèce discrète telle que le Loup gris. Cette expertise permettra d'optimiser le déroulement des suivis acoustiques. Les compétences et qualifications des opérateurs en charge de la récolte des données acoustiques ainsi que de leurs analyses sont un élément clé et déterminant pour la mise en œuvre de suivis acoustiques passifs (Towsey et al. 2014a).

2.5. Maintenance et calibration du matériel d'enregistrement pour une meilleure standardisation des suivis

Ces vingt dernières années, le développement d'enregistreurs autonomes a révolutionné les études en bioacoustique, en milieu terrestre (Mennill et al. 2012 ; Digby et al. 2013) comme aquatique (Sousa-Lima et al. 2013). Bien que leur utilisation soit croissante et très avantageuse, une maintenance préventive de ces outils doit être faite afin de suivre l'évolution de la sensibilité des microphones et ainsi garantir des résultats comparables d'une session de terrain à une autre. En effet, les conditions et situations dans lesquelles les enregistreurs sont mis en place peuvent avoir un effet dégradant sur les microphones (e.g. intempéries). Pour pallier à ce risque de biais, il est recommandé de calibrer les microphones des enregistreurs autonomes avant chaque session de terrain (Obrist et al. 2010). De plus, il a été mis en évidence que la sensibilité de ces derniers était affectée par le nombre de saisons de terrain durant lesquels ils ont été utilisés (Turgeon et al. 2017). Il est donc nécessaire de vérifier si la dégradation de certains des composants de l'enregistreur induit des biais de détection qui affecteraient potentiellement les projets de recherche et les résultats des suivis réalisés sur le long terme (Turgeon et al. 2017). Cette étape de maintenance et de calibration devrait être généralisée à toutes les études utilisant des enregistreurs autonomes et être incluse dans la phase préparatoire du matériel pour la standardisation des suivis acoustiques.



CONCLUSION

Conclusion

L'évaluation de l'état de conservation du Loup gris implique la mise en place d'investigations à différentes échelles (i.e. population, meute, individu) afin d'obtenir des estimations de différents paramètres démographiques (évolution des effectifs et du nombre de meutes, de la taille des domaines vitaux ou encore des flux de gènes – Duchamp et al. 2012). Depuis plusieurs années, la possibilité d'estimer le nombre de loups et/ou de meutes ou encore le nombre d'événements de reproduction est au cœur d'un débat intense et controversé (Llaneza et al. 2014), d'autant plus que ces données et estimations d'effectifs régissent les politiques de gestion actuelles du Loup (e.g. Plan National d'Actions sur le Loup et les activités d'élevage en France - Ministère de la transition écologique et solidaire & Ministère de l'agriculture et de l'alimentation, 2018).

Dans ce contexte, la présente thèse a été conduite dans l'objectif de tester des outils et de développer des méthodes pour le suivi acoustique passif du Loup gris afin d'apporter de nouveaux éléments de connaissance quant à l'évolution de sa distribution et de ses populations. Les premières recherches ont apporté des éléments de réponse contribuant à l'optimisation de l'échantillonnage spatial à l'aide d'un réseau d'enregistreurs autonomes dans le but de détecter la présence d'individus ou l'installation de nouvelles meutes (**Chapitre 1**). L'acoustique passive a également montré son potentiel pour localiser les individus en milieu de moyenne montagne comme de plaine (**Chapitre 2**). Les indices de diversité acoustique ont quant à eux livré de belles perspectives d'application pour l'estimation de l'effectif des meutes (**Chapitre 3**).

Ces méthodes, une fois opérationnelles (suivant les recommandations et perspectives annoncées dans la discussion), apporteront de nouveaux éléments objectifs et complémentaires à ceux existants et contribueront ainsi à une meilleure évaluation du statut de l'espèce en France notamment. D'un point de vue logistique, un des facteurs limitants des outils de suivi acoustique passif reste leur coût. Toutefois, de nouveaux dispositifs d'enregistrement et de détection issus de la science open source, comme « AudioMoth » développé par Hill et al. (2018), pourraient permettre de couvrir de vastes zones d'étude à faible coût, ce qui est particulièrement intéressant pour le suivi acoustique du Loup gris.

Consciente que toute méthode ou outil puisse être détourné de son usage originel, il me semble important d'insister sur l'objectif de cette thèse : le développement de méthodes acoustiques pour le suivi du Loup à des fins de connaissance et de conservation. Plusieurs études citées au cours de ce manuscrit ont d'ailleurs mis en évidence l'intérêt de la bioacoustique pour le suivi

et la conservation des espèces en général. Comme d'autres grands carnivores, le Loup gris figure parmi les espèces les plus controversées (image du *Grand Méchant Loup* - Jürgen & Hackett, 2017) et pour lesquelles la mise en place de mesures de conservation s'avère parfois délicates (Chapron et al. 2014 ; Lute et al. 2018). Dans ce contexte, le suivi des populations lupines représente un enjeu majeur à la fois pour approfondir nos connaissances et apporter des éléments factuels pour alimenter les prises de décision.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Seules les références bibliographiques citées en introduction générale, discussion générale et conclusion sont listées ici.

- Acevedo, M.A. & Villanueva-Rivera, L.J. (2006) Using Automated Digital Recording Systems as effective tools for the monitoring of birds and amphibians. *Wildlife Society Bulletin*, **34**, 211–214.
- Apollonio, M., Mattioli, L., Scandura, M., Mauri, L., Gazzola, A. & Avanzinelli, E. (2004) Wolves in the Casentinesi Forests: Insights for wolf conservation in Italy from a protected area with a rich wild prey community. *Biological Conservation*, **120**, 253–264.
- Araya-Salas, M. & Smith-Vidaurre, G. (2017) warbleR: an r package to streamline analysis of animal acoustic signals. *Methods in Ecology and Evolution*, **8**, 184–191.
- Araya-Salas, M., Smith-Vidaurre, G. & Webster, M. (2017) Assessing the effect of sound file compression and background noise on measures of acoustic signal structure. *Bioacoustics*.
- Aubin, T., Mathevon, N. & da Silva, M.-L. (2014) Species identity coding by the song of a rainforest warbler: an adaptation to long-rang transmission? *Acta Acustica united with Acustica*, **100**, 748–758.
- Ausband, D.E., Mitchell, M.S., Doherty, K., Zager, P., Mack, C.M. & Holyan, J. (2010) Surveying Predicted Rendezvous Sites to Monitor Gray Wolf Populations. *Journal of Wildlife Management*, **74**, 1043–1049.
- Ausband, D.E., Skrivseth, J. & Mitchell, M.S. (2011) An automated device for provoking and capturing wildlife calls. *Wildlife Society Bulletin*, **35**, 498–503.
- Barataud, M. (2012) Écologie acoustique des chiroptères d'Europe : Identification des espèces, étude de leurs habitats et comportements de chasse. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris; Biotope, Mèze.
- Bardeli, R., Wolff, D., Kurth, F., Koch, M., Tauchert, K.H. & Frommolt, K.-H. (2010) Detecting bird sounds in a complex acoustic environment and application to bioacoustic monitoring. *Pattern Recognition Letters*, **31**, 1524–1534.
- Bassi, E., Willis, S.G., Passilongo, D., Mattioli, L. & Apollonio, M. (2015) Predicting the spatial distribution of wolf (*Canis lupus*) breeding areas in a mountainous region of Central Italy. *Plos One*, **10**, e0124698.

- Blanco, J.C. & Cortés, Y. (2012) Surveying wolves without snow: A critical review of the methods used in Spain. *Hystrix*, **23**, 35–48.
- Blumstein, D.T., Mennill, D.J., Clemins, P., Girod, L., Yao, K., Patricelli, G., Deppe, J.L., Krakauer, A.H., Clark, C., Cortopassi, K.A., Hanser, S.F., McCowan, B., Ali, A.M. & Kirschel, A.N.G. (2011) Acoustic monitoring in terrestrial environments using microphone arrays: Applications, technological considerations and prospectus. *Journal of Applied Ecology*, **48**, 758–767.
- Boitani, L. (2003) Wolf conservation and recovery. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press, p. 317-340.
- Boitani, L. (2000). Action plan for the conservation of the wolves (*Canis lupus*) in Europe, Nature and environment, No. 113. Council of Europe, Strasbourg.
- Borker, A.L., Halbert, P., McKown, M.W., Tershy, B.R. & Croll, D.A. (2015) A comparison of automated and traditional monitoring techniques for marbled murrelets using passive acoustic sensors. *Wildlife Society Bulletin*, **39**, 813–818.
- Bower, J.L. & Clark, C.W. (2005) A field test of the accuracy of a passive Acoustic Location System. *Bioacoustics*, **15**, 1–14.
- Bradbury, J.W. & Vehrencamp, S.L. (2011) Principles of animal communication, 2nd edn. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Breitenmoser, U. (1998) Large predators in the Alps: The fall and rise of man's competitors. *Biological Conservation*, **83**, 279–289.
- Brennan, A., Cross, P.C., Ausband, D.E., Barbknecht, A. & Creel, S. (2013) Testing automated howling devices in a wintertime wolf survey. *Wildlife Society Bulletin*, **37**, 389–393.
- Brenowitz, E.A. (1982) The active space of red-winged blackbird song. *Journal of Comparative Physiology A*, **147**, 511–522.
- Bunting, O. & Chesmore, D. (2013) Time frequency source separation and direction of arrival estimation in a 3D soundscape environment. *Applied Acoustics*, **74**, 264–268.
- Burch, J.W., Adams, L.G., Follmann, E.H. & Rexstad, E.A. (2005) Evaluation of wolf density estimation from radiotelemetry data. *Wildlife Society Bulletin*, **33**, 1225–1236.
- Candiotti, A., Zuberbühler, K., Lemasson, A. & Zuberbu, K. (2012) Convergence and divergence in Diana monkey vocalizations. *Biology Letters*, **8**, 382–385.
- Ceballos, G., Garcia, A., Pringle, R.M., Ceballos, G., Ehrlich, P.R., Barnosky, A.D., García, A., Pringle, R.M. & Palmer, T.M. (2015) Accelerated modern human – induced species losses : Entering the sixth mass extinction Accelerated modern human – induced species

- losses : Entering the sixth mass extinction. *Science Advances*, **1**, e1400253.
- Chambers, S.M., Fain, S.R., Fazio, B. & Amaral, M. (2012) An account of the taxonomy of North American wolves from morphological and genetic analyses. *North American Fauna*, **77**, 1–67.
- Chapron, G., Kaczensky, P., Linnell, J.D.C., von Arx, M., Huber, D., Andrén, H., López-bao, J.V. & Adamec, M. (2014) Recovery of large carnivores in Europe ' s modern human-dominated landscapes. *Science*, **346**, 1517–1519.
- Charif, RA, Waack, A. & Strickman, L. (2010) Raven Pro 1.4 User's Manual. , 1–379.
- Charrier, I. & Harcourt, R.G. (2006) Individual vocal identity in mother and pup australian sea lions (*Neophoca cinerea*). *Journal of Mammalogy*, **87**, 929–938.
- Cheney, D.L. & Seyfarth, R.M. (1980) Vocal recognition in free-ranging vervet monkeys. *Animal Behaviour*, **28**, 362–367.
- Ciucci, P., Reggioni, W., Maiorano, L. & Boitani, L. (2009) Long-distance dispersal of a rescued Wolf from the Northern Apennines to the Western Alps. *Journal of Wildlife Management*, **73**, 1300–1306.
- Clark, C. (1980) A real-time direction finding device for determining the bearing to the underwater sounds of Southern Right Whales, *Eubalaena australis*. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **68**, 508–511.
- Comazzi, C., Mattiello, S., Friard, O., Filacorda, S. & Gamba, M. (2016) Acoustic monitoring of golden jackals in Europe: setting the frame for future analyses. *Bioacoustics*, **25**, 267–278.
- Conseil de l'Europe. (1992) Directive 92/43/CEE du conseil du 21 mai 1992 concernant la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages. Journal officiel des Communautés européennes, L206 : 7-50.
- Coscia, E.M., Phillips, D.P. & Fentress, J.C. (1991) Spectral analysis of neonatal wolf *Canis lupus* vocalizations. *Bioacoustics*, **3**, 275–293.
- Darden, S.K., Dabelsteen, T. & Pedersen, S.B. (2003a) A potential tool for swift fox (*Vulpes velox*) conservation: individuality of long-range barking sequences. *Journal of Mammalogy*, **84**, 1417–1427.
- Darden, S.K., Pedersen, S.B. & Dabelsteen, T. (2003b) Methods of frequency analysis of a complex mammalian vocalisations. *Bioacoustics*, **13**, 247–263.
- Darras, K., Pütz, P., Fahrurrozi, Rembold, K. & Tschardtke, T. (2016) Measuring sound detection spaces for acoustic animal sampling and monitoring. *Biological Conservation*, **201**, 29–37.

- Dawson, D.K. & Efford, M.G. (2009) Bird population density estimated from acoustic signals. *Journal of Applied Ecology*, **46**, 1201–1209.
- Depraetere, M., Pavoine, S., Jiguet, F., Gasc, A., Duvail, S. & Sueur, J. (2012) Monitoring animal diversity using acoustic indices: Implementation in a temperate woodland. *Ecological Indicators*, **13**, 46–54.
- Digby, A., Towsey, M., Bell, B.D. & Teal, P.D. (2013) A practical comparison of manual and autonomous methods for acoustic monitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, **4**, 675–683.
- Dirzo, R., Young, H.S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N.J.B. & Collen, B. (2014) Defaunation in the Anthropocene. *Science*, **401**, 401–406.
- Duchamp, C., Boyer, J., Briaudet, P.E., Leonard, Y., Moris, P., Bataille, A., Dahier, T., Delacour, G., Millisher, G., Miquel, C., Poillot, C. & Marboutin, E. (2012) A dual frame survey to assess time- and space-related changes of the colonizing wolf population in France. *Hystrix*, **23**, 14–28.
- Duchamp, C., Chapron, G., Gimenez, O., Robert, A., Sarrazin, F., Beudels-Jamar, R. & Le Maho, Y. (2017) Expertise collective scientifique sur la viabilité et le devenir de la population de loups en France à long terme sous la coordination ONCFS-MNHN de : Guinot-Ghestem, M., Haffner, P., Marboutin, E., Rousset, G., Savoure-Soubelet, A., Sibley, J.P. & Trudelle, L.
- Duchamp, C., Favier, F., Genevey, V. & Lacour, N. (2003) Le retour du loup dans les Alpes françaises : rapport final juillet 1999 – mars 2004. Projet LifeNat99/F/006299.
- Dugnol, B., Fernández, C. & Galiano, G. (2007) Wolf population counting by spectrogram image processing. *Applied Mathematics and Computation*, **186**, 820–830.
- Dugnol, B., Fernández, C., Galiano, G. & Velasco, J. (2007) Implementation of a diffusive differential reassignment method for signal enhancement: An application to wolf population counting. *Applied Mathematics and Computation*, **193**, 374–384.
- Dugnol, B., Fernández, C., Galiano, G. & Velasco, J. (2008) On a chirplet transform-based method applied to separating and counting wolf howls. *Signal Processing*, **88**, 1817–1826.
- Edge, J.L., Beyer Jr., D.E., Belant, J.L., Jordan, M.J. & Roell, B.J. (2011) Adapting a predictive spatial model for wolf *Canis* spp. predation on livestock in the Upper Peninsula, Michigan, USA. *Wildlife Biology*, **17**, 1–10.
- Efford, M.G., Dawson, D.K. & Borchers, D.L. (2009) Population density estimated from locations of individuals on a passive detector array. *Ecology*, **90**, 2676–2682.

- ESRI. (2016) ArcGIS 10.4. ESRI, Redlands, USA.
- Fairbrass, A.J., Rennett, P., Williams, C., Titheridge, H. & Jones, K.E. (2017) Biases of acoustic indices measuring biodiversity in urban areas. *Ecological Indicators*, **83**, 169–177.
- Farina, A. & Pieretti, N. (2014) Sonic environment and vegetation structure: A methodological approach for a soundscape analysis of a Mediterranean maqui. *Ecological Informatics*, **21**, 120–132.
- Farina, A., Pieretti, N. & Morganti, N. (2013) Acoustic patterns of an invasive species: The Red-billed Leiothrix (*Leiothrix lutea* Scopoli 1786) in a Mediterranean shrubland. *Bioacoustics*, **22**, 175–194.
- Filibeck, U., Nicoli, M., Rossi, P. & Boscagli, G. (1982) Detection by frequency analyzer of individual wolves howling in a chorus: A preliminary report. *Bolletino di zoologia*, **49**, 151–154.
- Fourli, M. (1999) *Compensation for Damage Caused by Bears and Wolves in the European Union: Experiences from LIFE-Nature Projects*.
- Fritts, S.H., Stephenson, R.O., Hayes, R.D. & Boitani L. (2003) Wolves and humans. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press, p. 289–316
- Frommolt, K.-H. (1999) Acoustic structure of chorus howling in wolves and consequences for sound propagation. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **105**.
- Frommolt, K.H. (2017) Information obtained from long-term acoustic recordings: applying bioacoustic techniques for monitoring wetland birds during breeding season. *Journal of Ornithology*, **158**, 659–668.
- Frommolt, K.-H., Goltsman, M.E. & MacDonald, D.W. (2003) Barking foxes, *Alopex lagopus*: field experiments in individual recognition in a territorial mammal. *Animal Behaviour*, **65**, 509–518.
- Frommolt, K.-H. & Tauchert, K.-H. (2014) Applying bioacoustic methods for long-term monitoring of a nocturnal wetland bird. *Ecological Informatics*, **21**, 4–12.
- Fuller, T.K., Mech, L.D. & Cochrane, J.F. (2003) Wolf population dynamics. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press, p. 161–191
- Fuller, T.K. & Sampson, B.A. (1988) Evaluation of a simulated howling survey for wolves. *The Journal of Wildlife Management*, **52**, 60–63.
- Gage, S.H. & Axel, A.C. (2014) Visualization of temporal change in soundscape power of a Michigan lake habitat over a 4-year period. *Ecological Informatics*, **21**, 100–109.

- Gandilhon, N., Adam, O. & Louis, M. (2010) Using passive acoustics for marine mammal observations: multidisciplinary observatories, materials and software. *International Review of Physics*, **4**, 20–28.
- Gasc, A., Francomano, D., Dunning, J.B. & Pijanowski, B.C. (2017) Future directions for soundscape ecology: The importance of ornithological contributions. *The Auk*, **134**, 215–228.
- Gasc, A., Pavoine, S., Lellouch, L., Grandcolas, P. & Sueur, J. (2015) Acoustic indices for biodiversity assessments: Analyses of bias based on simulated bird assemblages and recommendations for field surveys. *Biological Conservation*, **191**, 306–312.
- Gasc, A., Sueur, J., Pavoine, S., Pellens, R. & Grandcolas, P. (2013) Biodiversity sampling using a global acoustic approach: contrasting sites with microendemics in New Caledonia. *PLoS ONE*, **8**, e65311.
- Gazzola, A., Avanzinelli, E., Mauri, L., Scandura, M. & Apollonio, M. (2002) Temporal changes of howling in south European wolf packs. *Italian Journal of Zoology*, **69**, 157–161.
- Gerhardt, H.C. (1992) Multiple messages in acoustic signals. *Seminars in The Neurosciences*, **4**, 391–400.
- Griffin, A., Alexandridis, A., Pavlidi, D., Mastorakis, Y. & Mouchtaris, A. (2015) Localizing multiple audio sources in a wireless acoustic sensor network. *Signal Processing*, **107**, 54–67.
- Harrington, F.H. (1975) *Response Parameters of Elicited Wolf Howling*.
- Harrington, F.H. (1986) Timber wolf howling playback studies: discrimination of pup from adult howls. *Animal behaviour*, **34**, 1575–1577.
- Harrington, F.H. (1989) Chorus howling by wolves: acoustic structure, pack size and the Beau Geste Effect. *Bioacoustics*, **2**, 117–136.
- Harrington, F.H. & Asa, C.S. (2003) Wolf communication. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press, p. 66-103.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1978) Howling at two Minnesota wolf pack summer homesites. *Canadian Journal of Zoology*, **56**, 2024–2028.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1979) Wolf howling and its role in territory maintenance. *Behaviour*, **68**, 207–249.
- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1982) An analysis of howling response parameters useful for wolf pack censusing. *The Journal of Wildlife Management*, **46**, 686–693.

- Harrington, F.H. & Mech, L.D. (1983) Wolf pack spacing: Howling as a territory-independent spacing mechanism in a territorial population. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **12**, 161–168.
- Harris, S.A., Shears, N.T. & Radford, C.A. (2016) Ecoacoustic indices as proxies for biodiversity on temperate reefs. *Methods in Ecology and Evolution*, **7**, 713–724.
- Harrison, R.T., Clark, R.N. & Stankey, G.H. (1980) *Predicting Impact of Noise on Recreationists*. USDA Forest Service, Equipment Development Center.
- Hartwig, S. (2005) Individual acoustic identification as a non-invasive conservation tool: an approach to the conservation of the African wild dog *Lycaon pictus* (Temminck, 1820). *Bioacoustics*, **15**, 35–50.
- Hedley, R.W., Huang, Y. & Yao, K. (2017) Direction-of-arrival estimation of animal vocalizations for monitoring animal behavior and improving estimates of abundance. *Avian Conservation and Ecology*, **12**, art6.
- Heinemeyer, K.S., Ulizio, T.J. & Harrison, R.L. (2004) Natural sign: tracks and scats *In*: Long, R.A., MacKay, P., Zielinski, W.J. & Ray, J.C., editors. *Noninvasive survey methods for carnivores*. Island Press, Washington, p.45-74.
- Hennelly, L., Habib, B., Root-Gutteridge, H., Palacios, V. & Passilongo, D. (2017) Howl variation across Himalayan , North African , Indian , and Holarctic wolf clades : tracing divergence in the world ' s oldest wolf ... Howl variation across Himalayan , North African , Indian , and Holarctic wolf clades : tracing divergence in the wor. *Current Zoology*, **63**, 341–348.
- Heupel, M.R., Semmens, J.M. & Hobday, A.J. (2006) Automated animal tracking: scales, design and deployment of listening station arrays. *Marine and Freshwater Research*, **57**, 1–13.
- Hill, A.P., Prince, P., Piña Covarrubias, E., Doncaster, C.P., Snaddon, J.L. & Rogers, A. (2018) AudioMoth: Evaluation of a smart open acoustic device for monitoring biodiversity and the environment. *Methods in Ecology and Evolution*, **9**, 1199–1211.
- Holt, T.D. (1998) *A Structural Description and Reclassification of the Wolf, Canis Lupus, Chorus Howl*.
- Huetz, C. & Aubin, T. (2012) Bioacoustics approaches to locate and identify animals in terrestrial environments. *Sensors for ecology*, 83–96.
- IBAC. (2018). What is bioacoustics? IBAC homepage. <http://www.ibac.info/>, consulté le 14/09/2018.
- Iliopoulos, Y., Youlatos, D. & Stefanos, S. (2013) Wolf pack rendezvous site selection in

- Greece is mainly affected by anthropogenic landscape features. *European Journal of Wildlife Research*, **60**, 23–34.
- Jedrzejewski, W., Schmidt, K., Theuerkauf, J., Jedrzejewska, B. & Okarma, H. (2001) Daily movements and territory use by radio-collared wolves (*Canis lupus*) in Bialowieza Primeval Forest in Poland. *Canadian Journal of Zoology*, **79**, 1993–2004.
- Jiménez, J., García, E.J., Llaneza, L., Palacios, V., González, L.M., García-Domínguez, F., Muñoz-Igualada, J. & López-Bao, J.V. (2016) Multimethod, multistate Bayesian hierarchical modeling approach for use in regional monitoring of wolves. *Conservation biology : the journal of the Society for Conservation Biology*, **30**, 883–893.
- Job, J.R., Myers, K., Naghshineh, K. & Gill, S.A. (2016) Uncovering spatial variation in acoustic environments using sound mapping. *PLoS ONE*, **11**, e0159883.
- Joslin, P.W.B. (1967) Movements and homesites of timber wolves in Algonquin Park. *American Zoologist*, **7**, 279–288.
- Jouventin, P. & Aubin, T. (2002) Acoustic systems are adapted to breeding ecologies: individual recognition in nesting penguins. *Animal Behaviour*, **64**, 747–757.
- Jürgens, U.M. & Hackett, P.M.W. (2017) The Big Bad Wolf: The formation of a stereotype. *Ecopsychology*, **9**, 33–43.
- Kaczensky, P., Chapron, G. & Arx, M. Von. (2013) Status, management and distribution of large carnivores-bear, lynx, wolf & wolverine in Europe - Part 1. *European Commission*, 1–200.
- Kalan, A.K., Piel, A.K., Mundry, R., Wittig, R.M., Boesch, C. & Köhl, H.S. (2016) Passive acoustic monitoring reveals group ranging and territory use: a case study of wild chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Frontiers in Zoology*, **13**, 34.
- Kan, Y., Wang, P., Zha, F., Li, M., Gao, W. & Song, B. (2015) Passive acoustic source localization at a low sampling rate based on a five-element cross microphone array. *Sensors*, **15**, 13326–13347.
- Kays, R.W. & Slauson, K.M. (2004) Remote cameras. In: Long, R.A., MacKay, P., Zielinski, W.J. & Ray, J.C., editors. *Noninvasive survey methods for carnivores*. Island Press, Washington, p.110-140.
- Kershenbaum, A., Root-Gutteridge, H., Habib, B., Koler-Matznick, J., Mitchell, B., Palacios, V. & Waller, S. (2016) Disentangling canid howls across multiple species and subspecies: Structure in a complex communication channel. *Behavioural Processes*, **124**, 149–157.
- Keyel, A.C., Reed, S.E., McKenna, M.F. & Wittemyer, G. (2017) Modeling anthropogenic noise propagation using the Sound Mapping Tools ArcGIS toolbox. *Environmental*

- Modelling and Software*, **97**, 56–60.
- Krebs, J.R. (1977) The significance of song repertoires: The Beau Geste hypothesis. *Animal Behaviour*, **25**, 475–478.
- L'équipe animatrice du réseau. (2017) Les données du réseau. Bulletin Loup du réseau, **36**, 16–27.
- L'équipe animatrice du réseau. (2012) Du nouveau sur le front de colonisation Vosgien et Franc-comtois. Bulletin Loup du réseau, **27**, 2.
- Lameira, A.R. & Wich, S.A. (2008) Orangutan long call degradation and individuality over distance: a playback approach. *International Journal of Primatology*, **29**, 615–625.
- Landry, J.M. (2004) Le Loup. Les sentiers du naturaliste, 2nd edn. Delachaux et Niestlé.
- Latham, M.C., Latham, A.D.M., Webb, N.F., Mccutchen, N.A. & Boutin, S. (2014) Can occupancy-abundance models be used to monitor wolf abundance? *PloS one*, **9**, e102982.
- Laurent, A. (2014a) Une meute d'au moins 4 loups installée dans les Vosges. Bulletin Loup du réseau, **30**, 5.
- Laurent, A. (2014b) Nouveaux indices de présence du loup en Meuse. Bulletin Loup du réseau, **31**, 2.
- LCIE. (2007) *Canis lupus*. The IUCN Red List of Threatened Species. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 20 Spetember 2018.
- Leblond, M., Dussault, C. & St-Laurent, M.-H. (2017) Space use by gray wolves (*Canis lupus*) in response to simulated howling: a case study and a call for further investigation. *Canadian Journal of Zoology*, **95**, 221–226.
- Lellouch, L., Pavoine, S., Jiguet, F., Glotin, H. & Sueur, J. (2014) Monitoring temporal change of bird communities with dissimilarity acoustic indices. *Methods in Ecology and Evolution*, **5**, 495–505.
- Llaneza, L., García, E.J. & López-Bao, J.V. (2014) Intensity of territorial marking predicts wolf reproduction: Implications for wolf monitoring. *PLoS ONE*, **9**, e93015.
- Llaneza, L., Ordiz, A., Palacios, V. & Uzal, A. (2005) Monitoring wolf populations using howling points combined with sign survey transects. *Wildlife Biology in Practice*, **1**, 108–117.
- Llusia, D., Márquez, R. & Bowker, R. (2011) Terrestrial sound monitoring systems, a methodology for quantitative calibration. *Bioacoustics*, **20**, 277–286.
- Longis, S., Leonard, Y., Sèbe, F. & Duchamp, C. (2004) Test de la méthode du hurlement provoqué. *Compte rendu suivi estival du loup 2004*, 1–4.
- Lucas, T.C.D., Moorcroft, E.A., Freeman, R., Rowcliffe, J.M. & Jones, K.E. (2015) A

- generalised random encounter model for estimating animal density with remote sensor data. *Methods in Ecology and Evolution*, **6**, 500–509.
- Lute, M.L., Carter, N.H., López-Bao, J. V. & Linnell, J.D.C. (2018) Conservation professionals agree on challenges to coexisting with large carnivores but not on solutions. *Biological Conservation*, **218**, 223–232.
- Macedonia, J.M. (1986) Individuality in a contact call of the ringtailed lemur (*Lemur catta*). *American Journal of Primatology*, **11**, 163–179.
- Mammides, C., Goodale, E., Dayananda, S.K., Kang, L. & Chen, J. (2017) Do acoustic indices correlate with bird diversity? Insights from two biodiverse regions in Yunnan Province, south China. *Ecological Indicators*, **82**, 470–477.
- Marboutin, É. & Duchamp, C. (2005) Gestion adaptative de la population de loup en France : du monitoring à l'évaluation des possibilités de prélèvements. *ONCFS Rapport Scientifique 2005*, 14–19.
- Marin-Cudraz, T., Mahamoud-Issa, M., Joly, B.M., Aubry, P., Desmet, J.F., Novoa, C. & Sèbe, F. (2017). Using bioacoustics to estimate Rock ptarmigan (*Lagopus muta*) numbers in spring Comparison with the point count method. 33rd International Union of Game Biologists Congress, 22-25 Aout, Montpellier. Poster
- Marques, T.A., Thomas, L., Martin, S.W., Mellinger, D.K., Ward, J.A., Moretti, D.J., Harris, D. & Tyack, P.L. (2013) Estimating animal population density using passive acoustics. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **88**, 287–309.
- Mathevon, N., Aubin, T., Vielliard, J., da Silva, M.-L., Sebe, F. & Boscolo, D. (2008) Singing in the rain forest: how a tropical bird song transfers information. *PLoS ONE*, **3**, e1580.
- Mazzini, F., Townsend, S.W., Virányi, Z. & Range, F. (2013) Wolf howling is mediated by relationship quality rather than underlying emotional stress. *Current Biology*, **23**, 1677–1680.
- McCarley, H. (1978) Vocalizations of red wolves (*Canis rufus*). *Journal of Mammalogy*, **59**, 27–35.
- McGregor, P.K., Catchpole, C.K., Dabelsteen, T., Falls, J.B., Fusani, L., Gerhardt, H.C., Gilbert, F., Horn, A.G., Klump, G.M., Kroodsma, D.E., Lambrechts, M.M., McComb, K.E., Nelson, D.A., Pepperberg, I.M., Ratcliffe, L., Searcy, W.A. & Weary, D.M. (1992) Design of playback experiments: the Thornbridge hall nato arw consensus. *Playback and studies of animal communication, Springer US*, 1–9.
- McGregor, P.K., Dabelsteen, T., Clark, C.W., Bower, J.L. & Holland, J. (1997) Accuracy of a passive acoustic location system: empirical studies in terrestrial habitats. *Ethology*

- Ecology & Evolution*, **9**, 269–286.
- Mech, L.D. (1999) Alpha status, dominance, and division of labor in wolf packs. *Canadian Journal of Zoology*, **77**, 1196–1203.
- Mech, L.D. (2008) Whatever happened to the term alpha wolf? *International Wolf*, **Winter**, 1–8.
- Mech, L.D. (2017) Where can wolves live and how can we live with them? *Biological Conservation*, **210**, 310–317.
- Mech, L. D. & Boitani, L. (2003) Wolves: behavior, ecology, and conservation. Wolves: behavior, ecology, and conservation. Chicago: University of Chicago Press, p. 66-103.
- Mennill, D.J. (2011) Individual distinctiveness in avian vocalizations and the spatial monitoring of behaviour. *Ibis*, **153**, 235–238.
- Mennill, D.J., Battiston, M., Wilson, D.R., Foote, J.R. & Doucet, S.M. (2012) Field test of an affordable, portable, wireless microphone array for spatial monitoring of animal ecology and behaviour. *Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 704–712.
- Mennill, D.J., Burt, J.M., Fristrup, K.M. & Vehrencamp, S.L. (2006) Accuracy of an acoustic location system for monitoring the position of duetting songbirds in tropical forest. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **119**, 2832–2839.
- Ministère de la transition écologique et solidaire & Ministère de l’agriculture et de l’alimentation. (2018) Plan national d’actions 2018-2023 sur le Loup et les activités d’élevage, 100p.
- Mouterde, S.C., Theunissen, F.E., Elie, J.E., Vignal, C. & Mathevon, N. (2014) Acoustic communication and sound degradation: How do the individual signatures of male and female zebra finch calls transmit over distance? *PLoS ONE*, **9**, e102842.
- Muanke, P.B. & Niezrecki, C. (2007) Manatee position estimation by passive acoustic localization. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **121**, 2049–2059.
- Nowak, S., Jędrzejewski, W., Schmidt, K., Theuerkauf, J., Mysłajek, R.W. & Jędrzejewska, B. (2007) Howling activity of free-ranging wolves (*Canis lupus*) in the Białowieża Primeval Forest and the Western Beskid Mountains (Poland). *Journal of Ethology*, **25**, 231–237.
- Nowak, S., Mysłajek, R.W. & Jędrzejewska, B. (2008) Density and demography of wolf, *Canis lupus* population in the western-most part of the Polish Carpathian Mountains, 1996-2003. *Folia Zoologica*, **57**, 392–402.
- Obrist, M.K., Pavan, G., Sueur, J., Riede, K., Llusia, D. & Márquez, R. (2010) Bioacoustics approaches in biodiversity inventories. *Manual on Field Recording Techniques and Protocols for All Taxa Biodiversity Inventories*, pp. 68–99.

- Ozga, A. (2017) Scientific ideas included in the concepts of bioacoustics, acoustic ecology, ecoacoustics, soundscape ecology, and vibroacoustics. *Archives of Acoustics*, **42**, 415–421.
- Pace, F., White, P. & Adam, O. (2012) Hidden Markov Modeling for humpback whale (*Megaptera novaeanglie*) call classification. *Proceedings of Meetings on Acoustics*, 2439–2444.
- Packard, J.M. (2003) Wolf behavior: reproductive, social, and intelligent. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press, p. 35–65.
- Palacios, V., Font, E., García, E.J., Svensson, L., Llaneza, L., Frank, J. & López-Bao, J.V. (2017) Reliability of human estimates of the presence of pups and the number of wolves vocalizing in chorus howls: implications for decision-making processes. *European Journal of Wildlife Research*, **63**.
- Palacios, V., Font, E. & Marquez, R. (2007) Iberian wolf howls: acoustic structure, individual variation, and a comparison with north american populations. *Journal of Mammalogy*, **88**, 606–613.
- Palacios, V., López-Bao, J.V., Llaneza, L. & Fernández, C. (2016) Decoding group vocalizations : The acoustic energy distribution of chorus howls is useful to determine wolf reproduction. *PLoS ONE*, **11**, e0153858.
- Van Parijs, S.M., Clark, C.W., Sousa-Lima, R.S., Parks, S.E., Rankin, S., Risch, D. & Van Opzeeland, I.C. (2009) Management and research applications of real-time and archival passive acoustic sensors over varying temporal and spatial scales. *Marine Ecology Progress Series*, **395**, 21–36.
- Parks, S.E., Miksis-Olds, J.L. & Denes, S.L. (2014) Assessing marine ecosystem acoustic diversity across ocean basins. *Ecological Informatics*, **21**, 81–88.
- Passilongo, D., Buccianti, A., Dessì-Fulgheri, F., Gazzola, A., Zaccaroni, M. & Apollonio, M. (2010) The acoustic structure of wolf howls in some eastern tuscan (Central Italy) free ranging packs. *Bioacoustics*, **19**, 159–175.
- Passilongo, D., Dessì-Fulgheri, F., Gazzola, A., Zaccaroni, M. & Apollonio, M. (2012) Wolf counting and individual acoustic discrimination by spectrographic analysis. *Bioacoustics*, **21**, 78–79.
- Passilongo, D., Marchetto, M. & Apollonio, M. (2017) Singing in a wolf chorus: Structure and complexity of a multicomponent acoustic behaviour. *Hystrix*, **28**.
- Passilongo, D., Mattioli, L., Bassi, E., Szabó, L. & Apollonio, M. (2015) Visualizing sound:

- counting wolves by using a spectral view of the chorus howling. *Frontiers in Zoology*, **12**, 12–22.
- Peterson, R.O. & Ciucci, P. (2003) The wolf as a carnivore. In Mech, L.D. & Boitani, L., editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press, p. 104-130.
- Pfalzer, G. & Kusch, J. (2003) Structure and variability of bat social calls: implications for specificity and individual recognition. *Journal of Zoology*, **261**, 21–33.
- Pieretti, N., Farina, A. & Morri, D. (2011) A new methodology to infer the singing activity of an avian community: The Acoustic Complexity Index (ACI). *Ecological Indicators*, **11**, 868–873.
- Pijanowski, B.C., Farina, A., Gage, S.H., Dumyahn, S.L. & Krause, B.L. (2011a) What is soundscape ecology? An introduction and overview of an emerging new science. *Landscape Ecology*, **26**, 1213–1232.
- Pijanowski, B.C., Villanueva-Rivera, L.J., Dumyahn, S.L., Farina, A., Krause, B.L., Napoletano, B.M., Gage, S.H. & Pieretti, N. (2011b) Soundscape ecology: the science of sound in the landscape. *BioScience*, **61**, 203–216.
- Pollard, K.A., Blumstein, D.T. & Griffin, S.C. (2010) Pre-screening acoustic and other natural signatures for use in noninvasive individual identification. *Journal of Applied Ecology*, **47**, 1103–1109.
- Poulle, M.-L., Carles, L. & Lequette, B. (1997) Significance of ungulates in the diet of recently settled wolves in the Mercantour Mountains (Southeastern France). *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*, **52**, 357–368.
- Preatoni, D.G., Nodari, M., Chirichella, R., Tosi, G., Wauters, L.A. & Martinoli, A. (2005) Identifying bats from time-expanded recordings of search calls: comparing classification methods. *Journal of Wildlife Management*, **69**, 1601–1614.
- Randi, E. (2011) Genetics and conservation of wolves *Canis lupus* in Europe. *Mammal Review*, **41**, 99–111.
- Raynor, E.J., Whalen, C.E., Bomberger Brown, M. & Powell, L.A. (2017) Location matters: evaluating Greater Prairie-Chicken (*Tympanuchus cupido*) boom chorus propagation. *Avian Conservation and Ecology*, **12**, art17.
- Reed, S.E., Boggs, J.L. & Mann, J.P. (2010) SPreAD-GIS: an ArcGIS toolbox for modeling the propagation of engine noise in a wildland setting. *The Wilderness Society*, 1–27.
- Rek, P. & Osiejuk, T.S. (2011) No male identity information loss during call propagation through dense vegetation: the case of the corncrake. *Behavioural Processes*, **86**, 323–328.

- Richards, D.G. & Wiley, R.H. (1980) Reverberations and amplitude fluctuations in the propagation of sound in a forest: implications for animal communication. *The American Naturalist*, **115**, 381–399.
- Rigg, R., Findo, S., Wechselberger, M., Gorman, M.L., Sillero-Zubiri, C. & Macdonald, D.W. (2011) Mitigating carnivore–livestock conflict in Europe: lessons from Slovakia. *Oryx*, **45**, 272–280.
- Ripple, W.J., Estes, J.A., Beschta, R.L., Wilmers, C.C., Ritchie, E.G., Hebblewhite, M., Berger, J., Elmhagen, B., Letnic, M., Nelson, M.P., Schmitz, O.J., Smith, D.W., Wallach, A.D. & Wirsing, A.J. (2014) Status and ecological effects of the world’s largest carnivores. *Science*, **343**, 1241484.
- Roch, M.A., Brandes, T.S., Patel, B., Barkley, Y., Baumann-Pickering, S. & Soldevilla, M.S. (2011) Automated extraction of odontocete whistle contours. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **130**, 2212–2223.
- Rocha, L.H.S., Ferreira, L.S., Paula, B.C., Rodrigues, F.H.G. & Sousa-Lima, R.S. (2015) An evaluation of manual and automated methods for detecting sounds of maned wolves (*Chrysocyon brachyurus* Illiger 1815). *Bioacoustics*, **24**, 185–198.
- Root-Gutteridge, H., Bencsik, M., Chebli, M., Gentle, L.K., Terrell-nield, C., Bourit, A. & Yarnell, R.W. (2014a) Improving individual identification in captive Eastern grey wolves (*Canis lupus lycaon*) using the time course of howl amplitudes. *Bioacoustics*, **23**, 1–15.
- Root-Gutteridge, H., Bencsik, M., Chebli, M., Gentle, L.K., Terrell-nield, C., Bourit, A. & Yarnell, R.W. (2014b) Identifying individual wild Eastern grey wolves (*Canis lupus lycaon*) using fundamental frequency and amplitude of howls. *Bioacoustics*, **23**, 1–12.
- Royle, J.A. (2018) Modeling sound attenuation in heterogeneous environments for improved bioacoustic sampling of wildlife populations. *Methods in Ecology and Evolution*, **XX**, XX.
- Samaran, F., Adam, O. & Guinet, C. (2010) Discovery of a mid-latitude sympatric area for two Southern Hemisphere blue whale subspecies. *Endangered Species Research*, **12**, 157–165.
- Sèbe, F., Duchamp, C., Heitz, N., Latini, R. & Aubin, T. (2006) Howling playback as a tool for monitoring wolf packs : tests of signal propagation and acoustic frequency discrimination
- Sèbe, F., Heintz, N., Latini, R. & Aubin, T. (2004) Le wolf howling: un outil pour le recensement et la conservation des loups. Possibilités et limites de la méthode. *Colloque Grands Prédateurs et Pastoralisme*, pp. 53–59.
- Servín, J. (2000) Duration and frequency of chorus howling of the mexican wolf (*Canis lupus*

- baileyi*). *Acta Zoológica Mexicana*, **80**, 223–231.
- Shannon, C.E. & Weaver, W. (1949) The mathematical theory of communication. Urbana: University Illinois Press.
- Shonfield, J. & Bayne, E.M. (2017) Autonomous recording units in avian ecological research: current use and future applications. *Avian Conservation and Ecology*, **12**, art14.
- Sieber, O.J. (1986) Acoustic recognition between mother and cubs in raccoons (*Procyon lotor*). *Behaviour*, **96**, 130–163.
- Sillero-Zubiri, C. (2009) Family Canidae (dogs). In Wilson, D.E. & Mittermeier, R.A, editors. Handbook of the Mammals of the World. Vol. 1. Carnivores. Lynx Edicions, Barcelona, Spain, p. 352-447.
- Snowdon, C.T. & Cleveland, J. (1980) Individual recognition of contact calls by pygmy marmosets. *Animal Behaviour*, **28**, 717–727.
- Société Française d'Acoustique. (2010) Bioacoustique. *Le livre blanc de l'acoustique en France en 2010*, pp. 94–95.
- Sousa-Lima, R.S., Norris, T.F., Oswald, J.N. & Fernandes, D.P. (2013) A review and inventory of fixed autonomous recorders for passive acoustic monitoring of marine mammals. *Aquatic Mammals*, **39**, 23–53.
- Spiesberger, J.L. & Fristrup, K.M. (1990) Passive localizations of calling animals and sensing of their acoustic environment using acoustic tomography. *The American Naturalist*, **135**, 107–153.
- Spillmann, B., van Noordwijk, M.A., Willems, E.P., Mitra Setia, T., Wipfli, U. & Van Schaik, C.P. (2015) Validation of an acoustic location system to monitor Bornean orangutan (*Pongo pygmaeus wurmbii*) long calls. *American Journal of Primatology*, **77**, 767–776.
- Stenglein, J.L., Waits, L.P., Ausband, D.E., Zager, P. & Mack, C.M. (2011) Estimating gray wolf pack size and family relationships using noninvasive genetic sampling at rendezvous sites. *Journal of Mammalogy*, **92**, 784–795.
- Stepanian, P.M., Horton, K.G., Hille, D.C., Wainwright, C.E., Chilson, P.B. & Kelly, J.F. (2016) Extending bioacoustic monitoring of birds aloft through flight call localization with a three-dimensional microphone array. *Ecology and Evolution*, **6**, 7039–7046.
- Sueur, J., Aubin, T. & Simonis, C. (2008b) Seewave, a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*, **18**, 213–226.
- Sueur, J. & Farina, A. (2015) Ecoacoustics: the ecological investigation and interpretation of environmental sound. *Biosemiotics*, **8**, 493–502.
- Sueur, J., Farina, A., Gasc, A., Pieretti, N. & Pavoine, S. (2014) Acoustic indices for

- biodiversity assessment and landscape investigation. *Acta Acustica united with Acustica*, **100**, 772–781.
- Sueur, J., Gasc, A., Grandcolas, P. & Pavoine, S. (2012) Global estimation of animal diversity using automatic acoustic sensors. *Sensors for Ecology: Towards integrated knowledge of ecosystems*, 101–119.
- Sueur, J., Pavoine, S., Hamerlynck, O. & Duvail, S. (2008a) Rapid Acoustic Survey for Biodiversity Appraisal. *Plos One*, **3**, e4065.
- Suter, S.M., Giordano, M., Nietlispach, S., Apollonio, M. & Passilongo, D. (2016) Non-invasive acoustic detection of wolves. *Bioacoustics*, **26**, 237–248.
- Šver, L., Bielen, A., Križan, J. & Gužvica, G. (2016) Camera traps on wildlife crossing structures as a tool in gray Wolf (*Canis lupus*) management - Five-Years monitoring of Wolf abundance trends in Croatia. *PLoS ONE*, **11**, e0156748.
- Swiston, K.A. & Mennill, D.J. (2009) Comparison of manual and automated methods for identifying target sounds in audio recordings of Pileated, Pale-billed, and putative Ivory-billed woodpeckers. *Journal of Field Ornithology*, **80**, 42–50.
- Taylor, A.M. & Reby, D. (2010) The contribution of source-filter theory to mammal vocal communication research. *Journal of Zoology*, **280**, 221–236.
- Terry, A.M.R., Peake, T.M. & McGregor, P.K. (2005) The role of vocal individuality in conservation. *Frontiers in Zoology*, **2**, 10.
- Theberge, J.B. & Falls, J.B. (1967) Howling as a means of communication in Timber Wolves. *American Zoologist*, **7**, 331–338.
- Thomas, L., Jaramillo-Legorreta, A., Cardenas-Hinojosa, G., Nieto-Garcia, E., Rojas-Bracho, L., Hoef, J.M. Ver, Moore, J., Taylor, B., Barlow, J. & Tregenza, N. (2017) Last call : Passive acoustic monitoring shows continued rapid decline of critically endangered vaquita. *The Journal of the Acoustical Society of America*, **142**, 512–517.
- Tooze, Z.J., Harrington, F.H. & Fentress, J.C. (1990) Individually distinct vocalizations in timber wolves, *Canis lupus*. *Animal Behaviour*, **40**, 723–730.
- Torretta, E., Caviglia, L., Serafini, M. & Meriggi, A. (2017). Behind wolf predation on wild ungulates environmental factors influencing the distribution of kill sites in Northern Italy. 33rd International Union of Game Biologists Congress, 22-25 Aout, Montpellier. Poster
- Towsey, M., Parsons, S. & Sueur, J. (2014a) Ecology and acoustics at a large scale. *Ecological Informatics*, **21**, 1–3.
- Towsey, M., Planitz, B., Nantes, A., Wimmer, J. & Roe, P. (2012) A toolbox for animal call recognition. *Bioacoustics*, **21**, 107–125.

- Towsey, M., Wimmer, J., Williamson, I. & Roe, P. (2014c) The use of acoustic indices to determine avian species richness in audio-recordings of the environment. *Ecological Informatics*, **21**, 110–119.
- Towsey, M., Zhang, L., Cottman-Fields, M., Wimmer, J., Zhang, J. & Roe, P. (2014b) Visualization of long-duration acoustic recordings of the environment. *Procedia Computer Science*, **29**, 703–712.
- Turgeon, P.J., Van Wilgenburg, S.L. & Drake, K.L. (2017) Microphone variability and degradation: implications for monitoring programs employing autonomous recording units. *Avian Conservation and Ecology*, **12**, art9.
- UICN France, MNHN, SFEPM & ONCFS. (2017) La Liste rouge des espèces menacées en France – Chapitre Mammifères de France métropolitaine. Paris, France.
- Ulloa, J.S., Gasc, A., Gaucher, P., Aubin, T., Réjou-Méchain, M. & Sueur, J. (2016) Screening large audio datasets to determine the time and space distribution of Screaming Piha birds in a tropical forest. *Ecological Informatics*, **31**, 91–99.
- Valière, N., Fumagalli, L., Gielly, L., Miquel, C., Lequette, B., Poulle, M.-L., Weber, J.-M., Arlettaz, R. & Taberlet, P. (2003) Long-distance wolf recolonization of France and Switzerland inferred from non-invasive genetic sampling over a period of 10 years. *Animal Conservation*, **6**, 83–92.
- Villanueva-Rivera, L.J. & Pijanowski, B.C. (2015) Soundecology: Soundscape Ecology. 1.3.1. <https://CRAN.R-project.org/package=soundecology>.
- Watkins, W.A. & Schevill, W.E. (1972) Sound source location by arrival-times on a non-rigid three-dimensional hydrophone array. *Deep-Sea Research and Oceanographic Abstracts*, **19**, 691–706.
- Wielgus, R.B. & Peebles, K.A. (2014) Effects of wolf mortality on livestock depredations. *PLoS ONE*, **9**, e113505.
- Wiley, R.H. & Richards, D.G. (1978) Physical constraints on acoustic communication in the atmosphere: Implications for the evolution of animal vocalizations. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **3**, 69–94.
- Wiley, R. & Richards, D. (1982) Adaptations for acoustic communication in birds: sound transmission and signal detection. *Acoustic communication in birds* (eds D.E. Kroodsma, E.H. Miller, & H. Ouellet), pp. 131–181. Academic press.
- Wilson, D.R., Battiston, M., Brzustowski, J. & Mennill, D.J. (2014) Sound Finder: a new software approach for localizing animals recorded with a microphone array. *Bioacoustics*, **23**, 99–112.

- Wimmer, J., Towsey, M., Planitz, B., Roe, P. & Williamson, I. (2010) Scaling acoustic data analysis through collaboration and automation. *Proceedings - 2010 6th IEEE International Conference on e-Science, eScience 2010*, pp. 308–315.
- Wimmer, J., Towsey, M., Roe, P. & Williamson, I. (2013) Sampling environmental acoustic recordings to determine bird species richness. *Ecological Society of America*, **23**, 1419–1428.
- Yip, D.A., Leston, L., Bayne, E.M., Sóllymos, P. & Grover, A. (2017) Experimentally derived detection distances from audio recordings and human observers enable integrated analysis of point count data. *Avian Conservation and Ecology*, **12**, art11.
- Yoccoz, N.G., Nichols, J.D. & Boulmier, T. (2001) Monitoring of biological diversity in space and time. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 446–453.
- Zaccaroni, M., Passilongo, D., Buccianti, A., Dessì-Fulgheri, F., Facchini, C., Gazzola, A., Maggini, I. & Apollonio, M. (2012) Group specific vocal signature in free-ranging wolf packs. *Ethology Ecology & Evolution*, **24**, 322–331.
- Zhang, L., Towsey, M., Zhang, J. & Roe, P. (2016) Computer-assisted sampling of acoustic data for more efficient determination of bird species richness. *Proceedings - 15th IEEE International Conference on Data Mining Workshop, ICDMW 2015*, pp. 798–805.
- Zimmer, W.M.X. (2011) Passive acoustic monitoring of cetaceans. Cambridge: Cambridge University Press.
- Zollinger, S.A., Podos, J., Nemeth, E., Goller, F. & Brumm, H. (2012) On the relationship between, and measurement of, amplitude and frequency in birdsong. *Animal Behaviour*, **84**, e1–e9.



ANNEXES

**Annexe 1 : Article sur la localisation acoustique publié dans la revue
*Frontiers in Zoology***

METHODOLOGY

Open Access



Acoustic localization at large scales: a promising method for grey wolf monitoring

Morgane Papin^{1,2} , Julian Pichenot³, François Guérol² and Estelle Germain^{1*}

Abstract

Background: The grey wolf (*Canis lupus*) is naturally recolonizing its former habitats in Europe where it was extirpated during the previous two centuries. The management of this protected species is often controversial and its monitoring is a challenge for conservation purposes. However, this elusive carnivore can disperse over long distances in various natural contexts, making its monitoring difficult. Moreover, methods used for collecting signs of presence are usually time-consuming and/or costly. Currently, new acoustic recording tools are contributing to the development of passive acoustic methods as alternative approaches for detecting, monitoring, or identifying species that produce sounds in nature, such as the grey wolf. In the present study, we conducted field experiments to investigate the possibility of using a low-density microphone array to localize wolves at a large scale in two contrasting natural environments in north-eastern France. For scientific and social reasons, the experiments were based on a synthetic sound with similar acoustic properties to howls. This sound was broadcast at several sites. Then, localization estimates and the accuracy were calculated. Finally, linear mixed-effects models were used to identify the factors that influenced the localization accuracy.

Results: Among 354 nocturnal broadcasts in total, 269 were recorded by at least one autonomous recorder, thereby demonstrating the potential of this tool. Besides, 59 broadcasts were recorded by at least four microphones and used for acoustic localization. The broadcast sites were localized with an overall mean accuracy of 315 ± 617 (standard deviation) m. After setting a threshold for the temporal error value associated with the estimated coordinates, some unreliable values were excluded and the mean accuracy decreased to 167 ± 308 m. The number of broadcasts recorded was higher in the lowland environment, but the localization accuracy was similar in both environments, although it varied significantly among different nights in each study area.

Conclusions: Our results confirm the potential of using acoustic methods to localize wolves with high accuracy, in different natural environments and at large spatial scales. Passive acoustic methods are suitable for monitoring the dynamics of grey wolf recolonization and so, will contribute to enhance conservation and management plans.

Keywords: acoustic monitoring, autonomous recorders, *Canis lupus*, field research, localization estimation, microphone array, wolf howl

Background

Passive acoustic monitoring is being used increasingly to study species that produce sounds in their natural environments (e.g. vocalizations and stridulations) [1]. The current protocols based on passive acoustics methods allow the study of elusive and/or nocturnal species that live in harsh environments (e.g. dangerous access, thick vegetation or limited visibility) [2–4]. These protocols

are focused on species detection [5], density estimation [6, 7], territory use [8], and localization [9, 10]. They are not technically limited to a time period, non-invasive and so, avoid interference with animal behavior in contrast to other monitoring methods (e.g. direct capture or the intrusive presence of observers in the field) [2, 11]. Passive acoustics may also help to reduce the time and human resources required in the field [12, 13]. These main features of passive acoustics suggest that this interesting approach could be employed for monitoring elusive species that require conservation or management plans, such as the grey wolf (*Canis lupus*).

* Correspondence: estelle.germain@croc-asso.org

¹Centre de Recherche et d'Observation sur les Carnivores (CROC), 4 rue de la banie, 57590, Lucy, France

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2018 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

During the two last centuries, the grey wolf was extirpated in many areas throughout Europe and North America [14]. In Europe, the species is now legally protected by the Bern Convention (1979) and the Habitats Directive (1992). As a consequence, wolves have been recolonizing their former areas in recent decades [14, 15]. However, conflicts emerge with humans where their ranges overlap with human settlement and agriculture mainly due to the predation on livestock [16, 17]. Thus, understanding and monitoring the expansion of the grey wolf's range is important for preventing or mitigating conflicts as well as for conservation and management purposes. However, the monitoring of wolves is still challenging in the field because it is a wide-ranging habitat generalist, which lives at low densities and is often secretive and elusive [18, 19]. Moreover, the conventional methods used for detecting the presence of grey wolves and estimating their number and population dynamics can be very time-consuming and costly.

Studying howls may be a powerful approach for monitoring grey wolf populations, especially in the summer and during the mating season when howls are produced widely [20–22]. For instance, wolf howls can allow scientific and wildlife managers to identify a pack due to their acoustic structure [23, 24]. In addition, several studies performed in captivity have shown that wolf has individual vocal signature [25–28]. Other studies have highlighted the potential use of bioacoustics for detecting wolves [29] as well as for counting them [28, 30–33] or detecting reproduction events [13]. The results of these studies support the possibility of using acoustics for monitoring wolves in the wild. However, to our knowledge, very few studies have employed passive acoustics for monitoring wolves (e.g. [29]) and none for localizing them.

In the present study, we conducted field experiments to investigate the possibility of using a low-density microphone array to localize wolves at a large scale in two areas located in the colonization front of the species in north-eastern France [34–37]. For scientific and social reasons, the experiments were based on a synthetic sound with similar acoustic properties to wolf howls. As these areas were characterized by two contrasting environmental contexts (mid-mountain and lowland), the synthetic sound was broadcast at several sites defined according to a stratified sampling technique based on topography and land-use. We calculated localization estimates and the accuracy. Finally, we identified the parameters and biases that influenced the localization accuracy.

Methods

Study areas

The study was conducted in two different areas located in the colonization front of grey wolf in north-eastern France (Fig. 1). The first study area was located in a mid-mountain environment in the Massif des Vosges (VM),

where the presence of a wolf pack (at least two individuals) has been attested since 2011 [34, 35, 37]. This area is covered by mainly herbaceous vegetation (22%), shrub (51%), and coniferous forest (27%), and the altitude ranges from 518 to 1305 m above sea level (mean: 930 m).

The second study area was located in the Côtes de Meuse (CM) at altitude ranging from 247 to 381 m above sea level (mean: 329 m), where the presence of the grey wolf was observed in 2012 [36]. The area is covered mainly by deciduous forest (90%) and open land with herbaceous vegetation accounts for only 10% of the area.

The grey wolf howls throughout the year but the periods with the most frequent howling activity are the breeding season (January to April: [20]) and the months following the birth of pups (August to October: [21]). Thus, this study was conducted during August 2015 in VM and August 2016 in CM. These periods also coincided with good conditions for access to the study areas.

Sampling methods and microphone arrays

Twenty autonomous recorders were placed on a systematic grid with an area of 30 km² (6 × 5 km; Fig. 2) at a regular spacing of 1 km, conducting to a relatively low recorder density (0.67 recorders per km²) for both study areas. The automatic recording units employed were Wildlife Acoustics Song Meters (model: SM3; Wildlife Acoustics Inc., Concord, MA, USA) with two built-in omnidirectional microphones (SM3-A1, bandpass: 20–20,000 Hz, frequency response: 20–20,000 Hz ± 10 dB). All of the recorders were associated with a global positioning system (GPS) unit (Garmin International Inc., Olathe, KS, USA) to synchronize their clock time automatically with high precision. The recorders collected 40 acoustic information channels in stereo using 16-bit .wav files at a sampling rate of 16,000 Hz. The recorders were programmed to operate from 8:55 PM to 8:54 AM and to generate 59-min files separated by a break of 1 min (ensure time synchronization). The gain was set to 24 dB for each channel.

The recorders were fixed to tree trunks at a height of 2.88 ± 0.49 m (mean ± standard deviation [SD]). Their locations were measured with a Trimble GPS (model: Juno 5B EGPS, real-time accuracy: 2–4 m; Trimble Navigation Limited, Sunnyvale, CA, USA).

Broadcast sites and periods

In each study area, 60 broadcast sites were randomly distributed by stratified sampling according to the topography using the “*Topographic Position Index*” [38–40] and land-use using the “*Corine Land Cover*” code (European Union – SoeS, Corine Land Cover 2006) with QGIS software (version 2.8.1: [41]). The sites located away from roads were then moved to the closest road to allow access with a vehicle. The spatial sampling of the broadcast sites in terms of the distances to the autonomous recorders

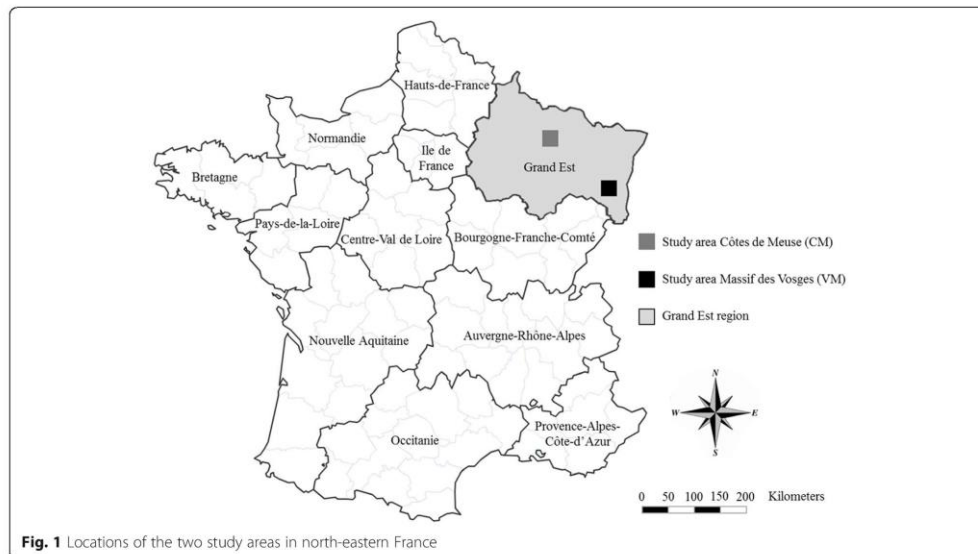


Fig. 1 Locations of the two study areas in north-eastern France

was similar in the two study areas (z -test: $z = -1.8180$, $\alpha = 0.05$).

The sound was broadcast during three consecutive nights from 9 PM to 6 AM, where each night was divided into three periods (dusk: 9 PM to 12 AM; night: 12 AM to 3 AM; dawn: 3 AM to 6 AM). For each night, a different itinerary was used so that each broadcast site was visited once during the three different periods. All of the broadcast sites locations were measured using the Trimble GPS.

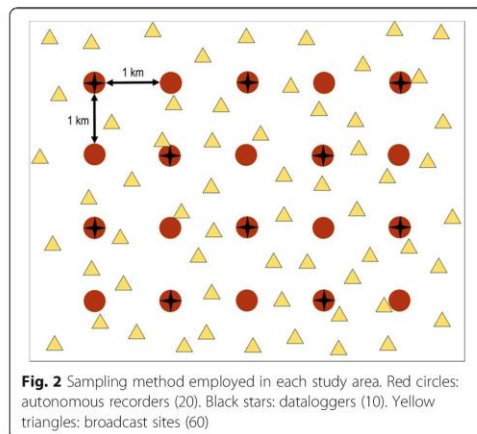


Fig. 2 Sampling method employed in each study area. Red circles: autonomous recorders (20). Black stars: dataloggers (10). Yellow triangles: broadcast sites (60)

Synthetic sound and broadcast equipment

As the study of large carnivores is a sensitive subject [17, 42], we chose to use a synthetic sound with similar acoustic properties to wolf howls rather than using real howls. This sound also permitted to exclude the effects of wolves' individual acoustic characteristics [25–28, 43]. It was created with the Seewave package [44] in R software (version 3.1.2). The sound comprised mixed pure tones of 7 s with fundamental frequencies ranging from 300 to 1000 Hz, which was accompanied by four harmonics that covered a wide range of the frequencies that can be found in wolf howls [20, 28, 45].

The sound was broadcast from four directional loudspeakers (model: MSH 30/BT, bandpass: 90–20,000 Hz, output: 50 W at 8 Ω ; Work Pro CA, Valencia, Spain) connected to a mixing amplifier (model: PA 90/2 USB, frequency response: 80–18,000 Hz ± 3 dB; output: 30 W RMS; Work Pro CA) and a 12 V battery. The loudspeakers were attached to a car roof. During each broadcast, a digital sound level meter was employed to control the intensity level at 1 m (model: FI 70SD, bandpass: 31.5–8000 Hz, frequency response: 8000 Hz ± 5.6 dB, settings: fast response, A-weighting; Distrane S.A, Sainte-Savine, France).

Meteorological context

The nights were selected according to the optimal meteorological conditions for acoustic experimentation, i.e. very low wind speed and no rainfall. The wind speed was measured for 1 min at each broadcast site with an anemometer (model: WS9500; La Crosse Technology,

Geispolsheim, France) and it was always less than 2 m.s^{-1} . In addition, 10 weather dataloggers (model: DT-174B; Center for Educational Measurement Inc., Makati, Philippines) were installed below 10 recorders to record the air temperature every 2 min (Fig. 2). The temperature data acquired by all of the dataloggers were averaged per night period and per night. They were used subsequently to calculate the speed of sound during the nocturnal broadcast period, which was required for localization estimation.

Analysis of recordings and localization estimates

The two channels in all of the recordings were analyzed with Raven Pro software to detect the synthetic sound (version 1.5: [46]; Spectrogram view preset: Hann, 1024 samples, 90% overlap). We used the Sound Finder package in R software for localization estimation (see [47]). This free tool has a higher accuracy than other software [47]. To estimate the localization of a sound, the algorithm in this package requires the time of arrival (TOA) of sound to at least four microphones, the temperature (mean temperature in the study area during the night period), and the coordinates of the microphones. Among the two microphones on each recorder that recorded the sound (ideally four different recorders), we chose that with the best signal-to-noise ratio. When the sound was recorded by only three different recorders, the second microphone on the recorder with the best signal-to-noise ratio was used to obtain a total of four microphones. As the signal-to-noise ratio was too low to use cross-correlation or automatic detection algorithms, the TOA were measured manually based on the spectrogram view (Fig. 3). The

TOA measures were repeated three times and then averaged.

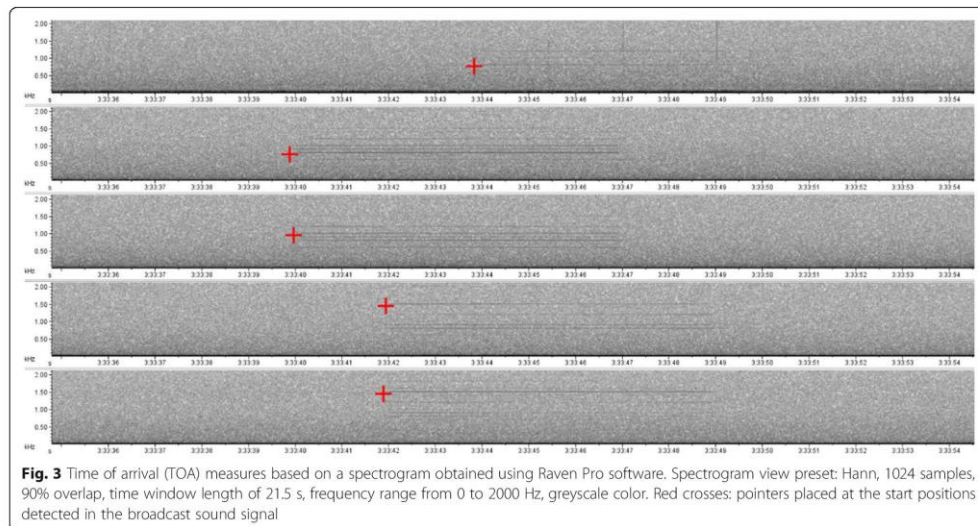
Sound Finder was used to estimate the coordinates of the broadcast sites as well as the temporal error values. The temporal error is defined as the root-mean-squared error of the combined discrepancies between the theoretical and observed delays in the TOA for each pair of microphones [47]. It was used to evaluate the reliability of the localization estimates, where perfect localization had a temporal error of 0 ms.

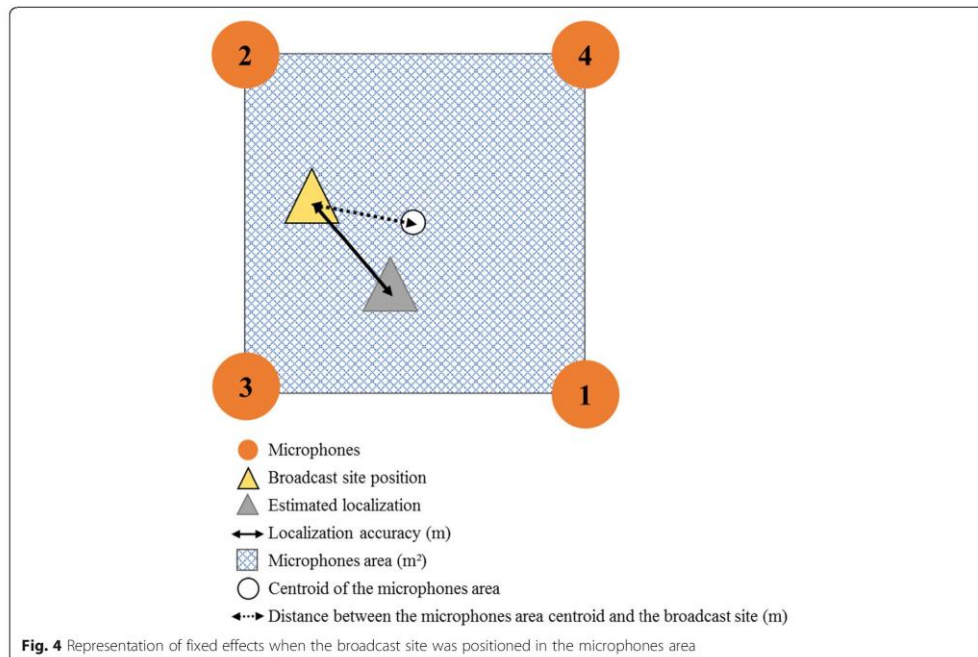
The distance between the estimated localization (coordinates given by Sound Finder) and the actual broadcast site position (coordinates given by the GPS) corresponded to the localization accuracy. It was calculated using the distance matrix tool in QGIS software.

Statistical analysis

All of the statistical analyses were conducted with R software (version 3.1.2: [48]) and results were considered to be statistically significant when $P \leq 0.05$. All of the values were reported as the mean $\pm$ SD.

Linear mixed-effects models (lmer function in the lme4 package: [49]) were used to identify parameters that influenced the localization accuracy ("loc_accuracy"). All combinations of the fixed effects and their interactions were used to construct the models. The four fixed effects (see Fig. 4) comprised the microphones area ("areamic" in m^2), the distance between the microphones area centroid and the broadcast site ("dist" in m), the broadcast period (dusk, night, or dawn: "period"), and the broadcast site position compared with the microphones area (in or out:





"inout"). Given our data structure, random effect was built as a nested random effect because the data came from two study areas (VM or CM: "array") on three nights (N1, N2, or N3: "night") and in three broadcast periods.

The best model was selected according to the lowest Akaike's information criterion (AIC) [50]. The significance of fixed effects was tested using one-way analysis of variance (anova function in the MASS package: [51]) and random effect with the restricted likelihood ratio test (exactRLRT function in the RLRsim package: [52]).

Results

Broadcasts

In VM, two sites were excluded from the study because they were too dangerous to access during field nights. Thus, the synthetic sound was broadcast 174 times in VM and 180 times in CM with a total of 354 broadcasts. The broadcast sound amplitude remained constant during the three nights with a mean sound intensity level at 1 m of 115.04 ± 3.07 dBA in VM and 116.53 ± 3.59 dBA in CM. These values are close to the natural amplitude of wolf howls ([29], MP unpublished observations).

Effectiveness of the recorders

All of the autonomous recorders were functional so the effectiveness of the experiments was 100%, with nearly

1200 h of acoustic recordings. According to visual and audio inspections of the recordings, 269 broadcasts were recorded by at least one autonomous recorder. In total, 101 broadcasts were recorded by one recorder (56 in VM and 45 in CM), 85 by two (36 in VM and 49 in CM), 55 by three (25 in VM and 30 in CM), 21 by four (three in VM and 18 in CM), and seven by five only in CM.

TOA measures

The distances separating the broadcast sites and autonomous recorders ranged from 67 to 3595 m in CM and from 144 to 2751 m in VM. For several recordings, measures of the TOA were impossible to achieve because the signal-to-noise ratio was very low or the synthetic sound was only partially recorded and/or conspicuous. Thus, some recordings could not be included in the analysis. Finally, 59 broadcasts (17%), i.e. 14 in VM (8%) and 45 in CM (25%), recorded by at least four microphones were used for acoustic localization.

Localization estimation

Localization estimates were calculated for the 59 broadcast sites (14 in VM and 45 in CM). The mean localization accuracy was about 315 ± 617 m and the mean temporal error was 685.57 ± 2049.73 ms ($N = 59$; Table 1). All of the usable broadcast sites in VM were

Table 1 Localization accuracy and temporal error values estimated with Sound Finder. (a) With all localization estimations. (b) According to the 200 ms error reliability threshold

	Localization accuracy (m)			Temporal error (ms)			N
	Mean $\pm$ SD	Min	Max	Mean $\pm$ SD	Min	Max	
(a)							
VM	442 $\pm$ 597	28	1987	903.37 $\pm$ 2321.32	1.60	7865.69	14
CM	276 $\pm$ 625	1	2983	617.81 $\pm$ 1981.50	0.21	9389.91	45
Total	315 $\pm$ 617	1	2983	685.57 $\pm$ 2049.73	0.21	9389.91	59
(b)							
VM	316 $\pm$ 540	28	1987	29.67 $\pm$ 32.08	1.60	118.00	12
CM	123 $\pm$ 185	1	937	42.03 $\pm$ 53.29	0.21	189.84	41
Total	167 $\pm$ 308	1	1987	39.23 $\pm$ 49.29	0.21	198.84	53

located out of the microphones area whereas in CM, 28 were “out” and 17 were “in”. The mean distance between the microphones area centroid and the broadcast site was about 656.55 $\pm$ 422.09 m. The mean microphones area was 746,823 $\pm$ 342,362 m² (N = 59).

There was a positive correlation between the localization accuracy and the temporal error value (Pearson's correlation coefficient, $r = 0.83$, $P < 0.001$; Fig. 5), which indicated that the localization accuracy decreased when the temporal error increased. Based on this relationship, we identified a threshold in the temporal error above which the estimates were unreliable. After setting this reliability threshold to 200 ms, six inaccurate data (two in VM and four in CM) with high localization accuracy values (ranging between 534 and 3083 m) were excluded (see Fig. 5). The mean localization accuracy was then 167 $\pm$ 308 m (N = 53; Table 1). Considering the error threshold, all of the remaining data had accuracies less than 400 m, except three values having high localization accuracy and low temporal error values. These three aberrant data were excluded from the dataset used in the analysis of parameters influencing the localization accuracy.

Parameters that influenced the localization accuracy

Eleven linear mixed-effects models were built in order to identify the parameters that influenced the localization accuracy (Table 2). Among the four fixed effects, only the broadcast site position relative to the microphones area (in or out) was not tested because both conditions were not present in VM (all sites positions were out). The mixed-model with the fixed effect “dist” had the lowest AIC (i.e. “m2”: AIC = 591.35). Thus, the distance between the microphones area centroid and the broadcast site significantly affected the localization accuracy ($\chi^2(1) = 11.27$, $P < 0.001$). In particular, the localization accuracy was lower when the broadcast site

was far from the microphones area centroid (estimate $\pm$ SE: 0.14 $\pm$ 0.04 m).

Considering the random effect in the selected model, the localization accuracy did not vary between the two study areas (restricted likelihood ratio test [RLRT] = 0.06, $P > 0.05$) and there was no effect of period (RLRT = 0.05, $P > 0.05$). However, the localization accuracy varied significantly among the different nights inside each study area (RLRT = 4.53, $P < 0.05$; Fig. 6).

Discussion

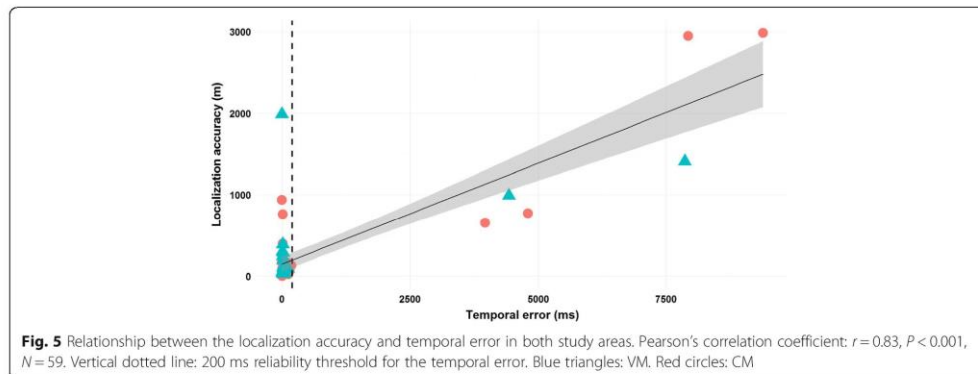
Since its natural return to France from the Italian population [53], the grey wolf first recolonized mountainous areas (French Alps) and its range is currently expanding west and northward into mid-mountain and lowland environments [19, 34–37]. Documenting and updating presence and localization of wolves is crucially important for managing this protected species and for preempting potential conflicts with human activities, especially livestock attacks. Thus, in this study, we investigated a new, non-invasive, and large-scale acoustic method for localizing wolves.

Acoustic localization estimates

In our study, 76% of the broadcasts were recorded by at least one recorder, thereby demonstrating the potential for using a low-density microphone array to detect howls over large areas (30 km²) with contrasting environmental contexts. The 59 broadcasts recorded by at least four microphones were used to estimate localizations. Although accuracies did not differ significantly between the two study areas, we observed a difference in the sample size of the broadcasts recorded and used for localization estimation, particularly in the lowland environment (45 in CM) compared with the mid-mountain environment (14 in VM).

After considering the relationship between the localization accuracy and the temporal error value, we defined a reliability threshold for the temporal error. We set this threshold to 200 ms. Then, most of the inaccurate values were excluded conducting to a mean localization accuracy of less than 200 m. This value may be considered a poor localization estimate when compared with most studies of acoustic localization [2, 47, 54, 55]. However, these previous studies were conducted in much smaller study areas. Thus, considering the distance between the autonomous recorders in our experiments, a localization accuracy of 200 m appears to be consistent.

In addition, we showed that some parameters could influence the localization accuracy and so, should be considered to optimize future protocols. First, the localization accuracy varied among different nights in each study area and at the same broadcast site (replicate). The wind speed was negligible during the



experiments, but variations in other meteorological conditions among different nights may explain the differences in accuracy (e.g. air temperature or wind direction). Indeed, the meteorological conditions are known to have strong effects on sound propagation and signal detection, and thus on the localization accuracy [56]. We also showed that the distance between the microphones area centroid and the broadcast site had a significant effect on the localization accuracy. The localization accuracy was lower when the broadcast site was far from the microphones area centroid, as shown in previous studies [2, 54, 57].

Table 2 Linear mixed-effects models used to identify parameters that influenced the localization accuracy. Models were built with fixed effects alone, summed (“+”) and with interactions (“*”). The nested random effect was similar for all of the models (see “m0”). Akaike's information criterion (AIC) was calculated to select the best statistical model, i.e. the “m2” model

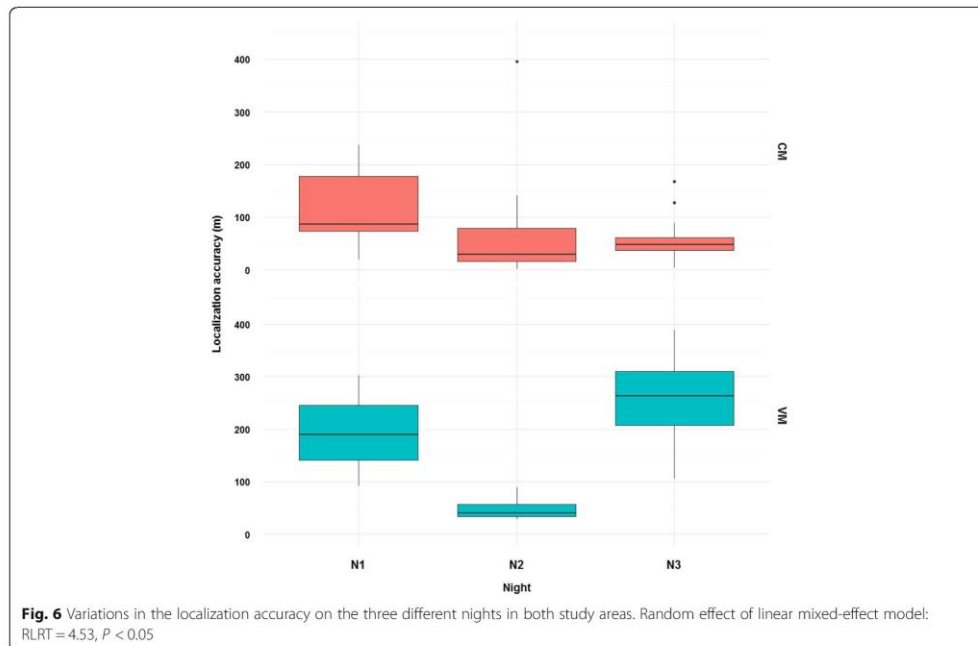
Models			
Name	Fixed effects	Random effect	AIC
m0	1	(1 array) + (1 array:night) + (1 array:night:period)	600.62
m1	period		604.35
m2	dist		591.35
m3	areamic		602.62
m4	period+dist		594.98
m4.int	period*dist		591.70
m5	period+areamic		606.31
m5.int	period*areamic		604.10
m6	dist+areamic		593.26
m6.int	dist*areamic		594.79
mc	period+dist+areamic		596.95

Recommendations and perspectives for grey wolf monitoring

According to our results, some recommendations may be made regarding the development of effective acoustic methods for grey wolf monitoring. The measures of the TOA were performed manually and this was a time-consuming task. Automatic and autonomous methods for detecting wolf howls in recordings and then for localizing them, such as methods based on temporal cross-correlation, could improve the results and save time. However, these methods are still very complicated [58, 59]. Moreover, amplitude and frequency modulations in wolf howls may make difficult to parameterize a unique automatic detector that could be trusted without human verification.

As shown in the present study and previous investigations (e.g. [2, 54, 57]), the distance between the sound source and the microphones area centroid influenced the localization accuracy. Similarly, during field recordings, large distances between the study species and recorders may also influence the localization accuracy because of a low signal-to-noise ratio (as found in our study). Thus, the selection of the recording sites should be optimized according to the ecology and behavior of wolves but also based on local expert knowledge in order to increase the likelihood of collecting acoustic data.

The structure and the composition of the landscape, such as the topography and vegetation (e.g. composition and stand density), could also influence the localization estimations, and thus they should be considered when defining protocols based on acoustic methods. This may partly explain the difference in the sample sizes for the broadcasts used in the lowland and mid-mountain environments. Previous studies also demonstrated that the optimal placement of recorders is important for ensuring maximum cover of the study area [29, 54].



These recommendations highlight the necessity to find a compromise between the distance that separates the microphones, the area covered by the microphone array, the areas where vocalizations or sounds are produced, and the desired localization accuracy [54]. Considering our results and soundscape parameters, it would be interesting to model the sound detection space of the autonomous recorders in order to place them optimally in the field and to improve the localization accuracy.

Finally, the acoustic localization protocol may concern much more wolves living in pack rather than dispersers or lone wolves (less frequent howls; [20]). This potential limit could be balanced by combining autonomous recorders with howling playback method to elicit wolves to howl [60]. This would be even more recommended in the colonization fronts (like in north-eastern France) for monitoring wolf dispersion but also for detecting new pack installation [61].

Conclusions

Currently, monitoring of the distribution and demographic dynamics of the grey wolf in France is based on the standardized collection of presence signs by a network of 3500 trained volunteers [62]. Different methods are used such as opportunistic survey (scat, hair, saliva, etc.), non-invasive genetics analysis, intensive snow-tracking

during the winter, and wolf howling in summer to detect breeding events [62]. However, the potential use of acoustic and autonomous recorders has not been considered for localizing individuals as well as specific areas such as rendezvous sites in contrasting environments. Thus, the development of a localization protocol based on passive acoustic methods could help scientists and decision-makers to collect new data to understand and monitor wolf recolonization. Importantly, these data could help prevent or mitigate conflicts with human activities as well as being used for conservation and management purposes.

Today, more than ever, large scale studies for monitoring elusive species are necessary and remain challenging [63]. Localization protocols based on our results and recommendations could be applied to species producing long-distance acoustic signals, even in large territories and contrasting environments. This kind of protocols will considerably help to monitor the conservation status of many elusive species in the long term.

Acknowledgments

We are very grateful to CROC members M. Clasquin, M. Marc, P. Germain, Dr. A. Charbonnel, and C. Botta for their help with fieldwork. We are also grateful to the National Game and Wildlife Agency (ONCFS) for authorization to access the wolves database, and to D. Wilson and J. Brzustowski for their advice regarding the Sound Finder package. We would like to thank the funding partners: the European Union within the framework of the Operational Program FEDER-FSE "Lorraine et Massif des Vosges 2014–2020",

the Commissariat à l'Aménagement du Massif des Vosges for the FNA DT (Fonds National d'Aménagement et de Développement du Territoire), the DREAL Grand Est (Direction Régionale pour l'Environnement, l'Aménagement et le Logement), the Région Grand Est, the ANRT (Agence Nationale de la Recherche et de la Technologie, CIFRE award), the Zoo d'Amnéville, and the Parc Animalier de Sainte Croix. We also thank the Fondation Le Pal Nature for its complementary financial support. This study could not have been conducted without authorizations and agreements from municipalities, environmental managers (ONCFS, ONF, natural reserves, natural parks, etc.), and owners in the study areas. We also thank the two anonymous reviewers for their careful reading and their perceptive comments and suggestions.

Funding

This work has been supported by the European Union within the framework of the Operational Program FEDER-FSE "Lorraine et Massif des Vosges 2014–2020", the Commissariat à l'Aménagement du Massif des Vosges for the FNA DT (Fonds National d'Aménagement et de Développement du Territoire), the DREAL Grand Est (Direction Régionale pour l'Environnement, l'Aménagement et le Logement), the Région Grand Est, the ANRT (Agence Nationale de la Recherche et de la Technologie, CIFRE award), the Zoo d'Amnéville, and the Parc Animalier de Sainte Croix. It also has been supported by the Fondation Le Pal Nature. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request. They are archived in CROC research center.

Authors' contributions

Conceived the ideas and designed the methodology: MP JP EG. Collected the data: MP JP EG. Analyzed the data: MP JP. Led the writing of the manuscript: MP JP FG EG. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

Ethics approval and consent to participate

Not applicable.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Author details

¹Centre de Recherche et d'Observation sur les Carnivores (CROC), 4 rue de la banlieue, 57590, Lucy, France. ²Université de Lorraine, CNRS, Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux, F-57500 Metz, France. ³Biologiste Écologue Consultant (BEC), 8A rue principale, 57590, Fontenay, France.

Received: 15 December 2017 Accepted: 25 March 2018

Published online: 12 April 2018

References

- Blumstein DT, Mennill DJ, Clemins P, Girod L, Yao K, Patricelli G, et al. Acoustic monitoring in terrestrial environments using microphone arrays: Applications, technological considerations and prospectus. *J Appl Ecol*. 2011;48:758–67.
- Mennill DJ, Battiston M, Wilson DR, Foote JR, Doucet SM. Field test of an affordable, portable, wireless microphone array for spatial monitoring of animal ecology and behaviour. *Methods Ecol Evol*. 2012;3:704–12.
- Borker AL, Halbert P, McKown MW, Tershy BR, Croll DA. A comparison of automated and traditional monitoring techniques for marbled murrelets using passive acoustic sensors. *Wildl Soc Bull*. 2015;39:813–8.
- Ulloa JS, Gasc A, Gaucher P, Aubin T, Réjou-Méchain M, Sœur J. Screening large audio datasets to determine the time and space distribution of Screaming Piha birds in a tropical forest. *Ecol Inform*. 2016;31:91–9.
- Bardeli R, Wolff D, Kurth F, Koch M, Tauchert KH, Frommolt K-H. Detecting bird sounds in a complex acoustic environment and application to bioacoustic monitoring. *Pattern Recogn Lett*. 2010;31:1524–34.
- Dawson DK, Efford MG. Bird population density estimated from acoustic signals. *J Appl Ecol*. 2009;46:1201–9.
- Marques TA, Thomas L, Martin SW, Mellinger DK, Ward JA, Moretti DJ, et al. Estimating animal population density using passive acoustics. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2013;88:287–309.
- Kalan AK, Piel AK, Mundry R, Wittig RM, Boesch C, Kühl HS. Passive acoustic monitoring reveals group ranging and territory use: a case study of wild chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Front Zool*. 2016;13:34.
- Mennill DJ, Burt JM, Fristrup KM, Vehrencamp SL. Accuracy of an acoustic location system for monitoring the position of duetting songbirds in tropical forest. *J Acoust Soc Am*. 2006;119:2832–9.
- Griffin A, Alexandridis A, Pavlidi D, Matorakis Y, Mouchtaris A. Localizing multiple audio sources in a wireless acoustic sensor network. *Signal Process*. 2015;107:54–67.
- Bradbury JW, Vehrencamp SL. *Principles of Animal Communication*. Sunderland: Sinauer Associates; 1998.
- Hartwig S. Individual acoustic identification as a non-invasive conservation tool: an approach to the conservation of the African wild dog *Lycaon pictus* (Temminck, 1820). *Bioacoustics*. 2005;15:35–50.
- Palacios V, López-Bao JV, Llaneza L, Fernández C. Decoding group vocalizations: The acoustic energy distribution of chorus howls is useful to determine wolf reproduction. *PLoS One*. 2016;11:e0153858.
- Boitani L. Wolf conservation and recovery. In: Mech LD, Boitani L, editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press; 2003. p. 317–40.
- Valière N, Fumagalli L, Gelly L, Miquel C, Lequette B, Pouille M-L, et al. Long-distance wolf recolonization of France and Switzerland inferred from non-invasive genetic sampling over a period of 10 years. *Anim Conserv*. 2003;6:83–92.
- Muhly TB, Musiani M. Livestock depredation by wolves and the ranching economy in the Northwestern U.S. *Ecol Econ*. 2009;68:2439–50.
- Rigg R, Findo S, Wechselberger M, Gorman ML, Sillero-Zubiri C, Macdonald DW. Mitigating carnivore–livestock conflict in Europe: lessons from Slovakia. *Oryx*. 2011;45:272–80.
- Latham MC, Latham ADM, Webb NF, McCutchen NA, Boutin S. Can occupancy-abundance models be used to monitor wolf abundance? *PLoS One*. 2014;9:e102982.
- Louvier J, Duchamp C, Laurent V, Marboutin E, Cubaynes S, Choquet R, et al. Mapping and explaining wolf recolonization in France using dynamic occupancy models and opportunistic data. *Ecography*. 2017;40:1–13.
- Harrington FH, Mech LD. Wolf howling and its role in territory maintenance. *Behaviour*. 1979;68:207–49.
- Gazzola A, Avanzinelli E, Mauri L, Scandura M, Apollonio M. Temporal changes of howling in south European wolf packs. *Ital J Zool*. 2002;69:157–61.
- Nowak S, Jędrzejewski W, Schmidt K, Theuerkauf J, Myslski RW, Jędrzejewska B. Howling activity of free-ranging wolves (*Canis lupus*) in the Białowieża Primeval Forest and the Western Beskidy Mountains (Poland). *J Ethol*. 2007;25:231–7.
- Passilongo D, Bucciatti A, Dessi-Fulgheri F, Gazzola A, Zaccaroni M, Apollonio M. The acoustic structure of wolf howls in some eastern tuscany (Central Italy) free ranging packs. *Bioacoustics*. 2010;19:159–75.
- Zaccaroni M, Passilongo D, Bucciatti A, Dessi-Fulgheri F, Facchini C, Gazzola A, et al. Group specific vocal signature in free-ranging wolf packs. *Ethol Ecol Evol*. 2012;24:322–31.
- Tooe ZJ, Harrington FH, Fentress JC. Individually distinct vocalizations in timber wolves, *Canis lupus*. *Anim Behav*. 1990;40:723–30.
- Palacios V, Font E, Marquez R. Iberian wolf howls: acoustic structure, individual variation, and a comparison with north american populations. *J Mammal*. 2007;88:606–13.
- Root-Gutteridge H, Bencsik M, Chebli M, Gentile LK, Terrell-nield C, Bourit A, et al. Improving individual identification in captive Eastern grey wolves (*Canis lupus lycaon*) using the time course of howl amplitudes. *Bioacoustics*. 2014;23:1–15.
- Papin M, Pichenot J, Germain E. La bioacoustique: un outil prometteur pour l'estimation des effectifs de loups gris. In: 11e Rencontres Bourgogne-Nature et du 37e Colloque francophone de Mammalogie, Les Mammifères sauvages - Recolonisation et réémergence, Revue Scientifique Bourgogne. Nature. 2015;21/22:256–65.

29. Suter SM, Giordano M, Nietlisbach S, Apollonio M, Passilongo D. Non-invasive acoustic detection of wolves. *Bioacoustics*. 2016;26:237–48.
30. Filibeck U, Nicolai M, Rossi P, Boscagli G. Detection by frequency analyzer of individual wolves howling in a chorus: A preliminary report. *Bollettino di Zool.* 1982;49:151–4.
31. Harrington FH. Chorus howling by wolves: acoustic structure, pack size and the Beau Geste Effect. *Bioacoustics*. 1989;2:117–36.
32. Sèbe F, Heintz N, Latini R, Aubin T. Le wolf howling: un outil pour le recensement et la conservation des loups. Possibilités et limites de la méthode. In: *Colloque Grands Prédateurs et Pastoralisme*; 2004. p. 53–9.
33. Passilongo D, Mattioli L, Bassi E, Szabó L, Apollonio M. Visualizing sound: counting wolves by using a spectral view of the chorus howling. *Front Zool.* 2015;12:12–22.
34. L'équipe animatrice du réseau. Du nouveau sur le front de colonisation Vosgien et Franc-comtois. *Bulletin Loup du réseau*. 2012;27:2.
35. Laurent A. Une meute d'au moins 4 loups installée dans les Vosges. *Bulletin Loup du réseau*. 2014;30:5.
36. Laurent A. Nouveaux indices de présence du loup en Meuse. *Bulletin Loup du réseau*. 2014;31:2.
37. L'équipe animatrice du réseau. Les données du réseau. *Bulletin Loup du réseau*. 2017;36:16–27.
38. Reed SE, Boggs JL, Mann JP. SPReAD-GIS: an ArcGIS toolbox for modeling the propagation of engine noise in a wildland setting. San Francisco: The Wilderness Society; 2010.
39. Reed SE, Boggs JL, Mann JP. A GIS tool for modeling anthropogenic noise propagation in natural ecosystems. *Environ Model Softw.* 2012;37:1–5.
40. De Reu J, Bourgeois J, Bats M, Zwervaegher A, Gelorini V, de Smedt P, et al. Application of the topographic position index to heterogeneous landscapes. *Geomorphology*. 2013;186:39–49.
41. QGIS Development Team. Quantum GIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project: Beaverton, United States; 2014.
42. Mech LD. Where can wolves live and how can we live with them? *Biol Conserv.* 2017;210:310–7.
43. Theberge JB, Falls JB. Howling as a means of communication in Timber Wolves. *Am Zool.* 1967;7:331–8.
44. Sœur J, Aubin T, Simonis C. SeeWave, a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*. 2008;18:213–26.
45. Harrington FH, Asa CS. Wolf communication. In: Mech LD, Boitani L, editors. *Wolves: behavior, ecology, and conservation*. Chicago: University of Chicago Press; 2003. p. 66–103.
46. Charif RA, Waack AM, Strickman LM. Raven Pro 1.4 User's Manual. Ithaca: Cornell Laboratory of Ornithology; 2010.
47. Wilson DR, Battiston M, Brzustowski J, Mennill DJ. Sound Finder: a new software approach for localizing animals recorded with a microphone array. *Bioacoustics*. 2014;23:99–112.
48. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2014.
49. Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw.* 2015;67:1–48.
50. Burnham KP, Anderson DR. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. 2nd ed. New York: Springer-Verlag; 2002.
51. Venables WN, Ripley BD. *Modern Applied Statistics with S*, 4th ed. New York: Springer; 2002.
52. Scheipl F, Greven S, Küchenhoff H. Size and power of tests for a zero random effect variance or polynomial regression in additive and linear mixed models. *Comput Stat Data Anal.* 2008;52:3283–99.
53. Fabbri E, Miquel C, Lucchini V, Santini A, Caniglia R, Duchamp C, et al. From the Apennines to the Alps: Colonization genetics of the naturally expanding Italian wolf (*Canis lupus*) population. *Mol Ecol.* 2007;16:1661–71.
54. Bower JL, Clark CW. A field test of the accuracy of a passive Acoustic Location System. *Bioacoustics*. 2005;15:1–14.
55. Muanke PB, Niezrecki C. Manatee position estimation by passive acoustic localization. *J Acoust Soc Am.* 2007;121:2049–59.
56. Wiley RH, Richards DG. Physical constraints on acoustic communication in the atmosphere: Implications for the evolution of animal vocalizations. *Behav Ecol Sociobiol.* 1978;3:69–94.
57. Spillmann B, van Noordwijk MA, Willems EP, Mitra Setia T, Wipfli U, Van Schaik CP. Validation of an acoustic location system to monitor Bornean orangutan (*Pongo pygmaeus wurmbii*) long calls. *Am J Primatol.* 2015;77:767–76.
58. Wimmer J, Towsey M, Planitz B, Roe P, Williamson I. Scaling acoustic data analysis through collaboration and automation. In: *Proceedings - 2010 6th IEEE International Conference on e-Science, eScience 2010*; 2010. p. 308–15.
59. Ausband DE, Skrivseth J, Mitchell MS. An automated device for provoking and capturing wildlife calls. *Wildl Soc Bull.* 2011;35:498–503.
60. Rocha LHS, Ferreira LS, Paula BC, Rodrigues FHG, Sousa-Lima RS. An evaluation of manual and automated methods for detecting sounds of maned wolves (*Chrysocyon brachyurus* Illiger 1815). *Bioacoustics*. 2015;24:185–98.
61. Brennan A, Cross PC, Ausband DE, Barbknecht A, Creel S. Testing automated howling devices in a wintertime wolf survey. *Wildl Soc Bull.* 2013;37:389–93.
62. Duchamp C, Boyer J, Briaudet PE, Leonard Y, Moris P, Bataille A, et al. A dual frame survey to assess time- and space-related changes of the colonizing wolf population in France. *Hystrix*. 2012;23:14–28.
63. Llana L, García EJ, López-Bao JV. Intensity of territorial marking predicts wolf reproduction: Implications for wolf monitoring. *PLoS One*. 2014;9:e93015.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



Annexe 2 : Poster sur la localisation acoustique présenté lors de différents évènements scientifiques

Microphone array and passive acoustics: a new perspective for Grey wolf monitoring?

M. Papin^{1,2*}, J. Pichenot³, F. Guérol² and E. Germain^{1**}

¹ Centre de Recherche et d'Observation sur les Carnivores (CROC), France

² Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (LIEC), Université de Lorraine, UMR 7360 CNRS, UFR SciFA, France

³ Biologiste Ecologue Consultant (BEC), France

*morgane.papin@croc-asso.org **estelle.germain@croc-asso.org



Objectives

Our researches aim to develop new passive acoustic tools and protocols for Grey wolf (*Canis lupus*) monitoring. Here, we explored how a microphone array can be used as a tool for wolves' localization.

→ Is it possible to localize wolves' howls in different landscape contexts with autonomous recorders?

→ Which parameters influence the localization estimation (accuracy and temporal error)?



Study areas

- Grand Est region in North-eastern France
- Two contrasted natural environments: medium mountains (VM) and plain (CM)
- Areas recolonized since several years by the Grey wolf



Figure 1: Location of the two study areas in North-eastern France.

Sampling method

- Two study areas of 30 km²
- 20 autonomous recorders connected to a GPS unit (systematic sampling)
- 10 dataloggers installed below one in two recorders (air temperature measure)
- 60 broadcast sites (random stratified sampling considering topography and vegetation) subdivided into 3 groups (G1, G2, G3)

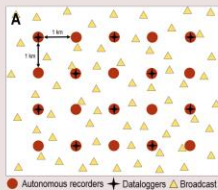


Figure 2 A. Illustration of the sampling method in each study area with 20 autonomous recorders, 10 dataloggers and 60 broadcast sites. B. Autonomous recorder (Wildlife Acoustics SM3).



① No difference of broadcast sites spatial sampling between VM and CM (z-test = -1.8180)

Broadcast sound

Creation of a mixed pure tone synthetic sound

- with similar acoustic properties of wolf howls (0.3-1 kHz; 4 harmonics; 7 s)
- broadcasted from 4-directional loudspeakers during 3 consecutive nights divided into 3 different periods (P1: 9 pm - 12 am, P2: 12 am - 3 am, P3: 3 am - 6 am)

Table 1: Visit order of broadcast sites groups during the 3 nights.

Broadcast sites groups	Night 1	Night 2	Night 3
G1	P1	P3	P2
G2	P2	P1	P3
G3	P3	P2	P1



① Temporal sampling of broadcast sites to reduce autocorrelation during protocol replicates

Acoustic analysis

- Selection of recordings showing broadcast sound
- Selection of recorded sound at least by 3 recorders
- Manual measures of Time-Of-Arrival (TOA) on spectrograms
- Localization calculation with Sound Finder / R software (v 3.1.2)

① TOA measured 3 times to minimize manual error



Figure 3: TOA measures on a spectrogram with Raven Pro software (v 1.5).

Descriptive results

Study area VM:

- 174 broadcastings*
- 14 calculated localizations
- * 2 inaccessible broadcast sites

Study area CM:

- 180 broadcastings
- 45 calculated localizations

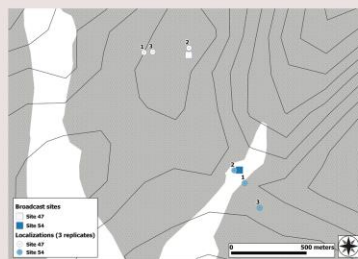


Figure 4: Illustration of two broadcast sites with the three replicates of their calculated localizations.

Accuracy in VM:

- Median: 215.36 m

Accuracy in CM:

- Median: 78.61 m

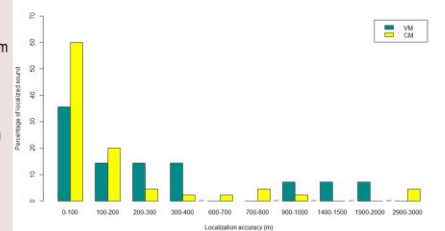


Figure 5: Number of calculated localizations according to localization accuracy classes in the two study areas (// means no data in the corresponding interval).



Statistical analysis in progress

Parameters influencing localization accuracy and temporal error (mixed-models)

Dependent variables:

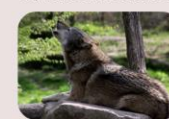
- Model 1: Localization accuracy (m)
 - ① Distance between the GPS position of the loudspeakers and estimated localization
- Model 2: Temporal error (ms)
 - ① Root-mean-squared error combined the discrepancies between theoretical and observed delays of TOA for each pair of microphones

Fixed effects:

- Microphones area (km²)
- Number of microphones
- Distance between the microphones area centroid and broadcast site (m)
- Broadcast period (P1, P2, P3)
- Broadcast site position compare to the microphones area (in or out)

Random effects (nested factors):

- Study area (VM, CM)
- Replicates of broadcast sites



Acknowledgments

We are very grateful to CROC members M. Ciasquin, M. Marc, P. Germain, Dr A. Charbonnel and to C. Botta for their help in fieldwork. We are also grateful to D. Wilson and J. Brzostowski for their advice about the Sound Finder software. We would like to thank the main financial partners of this work: the European Union within the framework of the Operational Program FEDER-FSE "Lorraine et Massif des Vosges 2014-2020", the Commissariat à l'Aménagement du Massif des Vosges pour le FNAOT (Fonds National d'Aménagement et de Développement du Territoire), the DREAL Grand Est (Direction Régionale pour l'Environnement, l'Aménagement et le Logement), the Région Grand Est, the ANRT (Agence Nationale de la Recherche et de la Technologie, CIFRE award), the Zoo d'Annecy and the Parc Animalier de Sainte Croix. We also would like to thank the Fondation Le Pal Nature for its complementary financial support. This study would not have been conducted without authorizations and agreements of municipalities, environmental managers (ONCFS, ONF, natural reserves, natural parks, etc.) and owners deprived of the study areas. Acoustic and statistical analysis were performed using QGIS 2.8.1 (www.qgis.org) and R 3.1.2 (www.r-project.org) free software.

Financial partners



Abstract

Contribution of bioacoustics for monitoring a discrete species: the Grey wolf (*Canis lupus*)

The growing number of studies carried out in recent years has shown that bioacoustics is particularly interesting for the monitoring of secretive species. The emergence of autonomous recording devices, combined with new methods of analysis, have recently contributed to the increase of studies in this field. Over the last 30 years, many bioacoustic studies have been developed for the Grey wolf (*Canis lupus*), a secretive large carnivore known for its howls spreading over distances up to several kilometers. These researches notably aimed to improve its monitoring, which is complex because of the strong wolf dispersal capacities over long distances, the large extent of their territories and the various natural contexts in which they live. In this context, this PhD thesis was organized around three research axes. The first two axes focused on the contribution of passive bioacoustics for the Grey wolf monitoring in the field. By combining acoustic, statistical and cartographic analysis, the first objective was to develop a spatial sampling method adapted to large study areas for the detection of wolf howls by using autonomous recorders. Then, the same protocol was used to investigate the possibility to localize wolves thanks to their howls. Field experimentations, conducted in mid-mountain (Massif des Vosges) and lowland (Côtes de Meuse) environments, in two study areas of 30 km² and with an array of 20 autonomous recorders, demonstrated the high potential of passive bioacoustics for the Grey wolf monitoring. Indeed, nearly 70% of broadcasts (synthetic sound with similar acoustic properties to howls) were detected by at least one autonomous recorder in mid-mountain environment and more than 80% in lowland environment, for sound source-recorders distances of up to 2.7 km and 3.5 km respectively. By using statistical model and Geographic Information System, the detection probability of wolf howls was modeled in both study areas. In the mid-mountain environment, this detection probability was high or very high (greater than 0.5) in 5.72 km² of the study area, compared with 21.43 km² in lowland environment. The broadcast sites were localized with an overall mean accuracy of 315 ± 617 (SD) m, reducing until 167 ± 308 (SD) m after setting a temporal error threshold defined from the data distribution. The third axe focused on the application of acoustic diversity indices to estimate the number of howling wolves in choruses and thus to contribute to pack size monitoring. Index values of the six indices (*H*, *H_t*, *H_f*, *AR*, *M*, and *ACI*) were positively correlated with the number of howling wolves in the artificial tested choruses. Interesting size predictions based on real choruses were obtained with one of the indices (*ACI*). The effects of several biases on the reference values for the acoustic indices were then explored, showing that three of them were relatively insensitive (*H_f*, *AR* and, *ACI*). Finally, results obtained with autonomous recorders confirm the real potential of passive acoustic methods for detecting the presence of wolves but also for localizing individuals with high precision, in contrasting natural environments, at large spatial and temporal scales. The use of acoustic diversity indices also opens new perspectives for estimating pack sizes. All of the promising methods emerging from this thesis require now further investigations before considering a concrete application for monitoring the Grey wolf in its natural environment.

Keywords: acoustic diversity indices, acoustic localization, acoustic monitoring, autonomous recorders, bioacoustics, choruses, Grey wolf, large spatial scales, passive detection, wolf howls

Apport de la bioacoustique pour le suivi d'une espèce discrète : le Loup gris (*Canis lupus*)

Le nombre croissant de travaux réalisés ces dernières années a montré que la bioacoustique est particulièrement intéressante pour le suivi d'espèces discrètes. L'émergence de dispositifs d'enregistrement autonomes, associée à de nouvelles méthodes d'analyse, ont récemment participé à l'accroissement des études dans ce domaine. Au cours des 30 dernières années, le Loup gris (*Canis lupus*), mammifère carnivore aux mœurs discrètes connu pour ses hurlements de longue portée, a fait l'objet de nombreuses études acoustiques. Ces dernières visaient notamment à améliorer son suivi, qui s'avère complexe du fait des grandes capacités de déplacement des loups, de l'étendue de leurs territoires et de la diversité des milieux dans lesquels ils vivent. Cependant, la bioacoustique passive a jusqu'alors très peu été exploitée pour le suivi du Loup. C'est dans ce contexte que la présente thèse s'est organisée autour de trois axes de recherche.

Les deux premiers axes portent sur l'apport de la bioacoustique passive pour le suivi du Loup gris en milieu naturel. En combinant des analyses acoustiques, statistiques et cartographiques, le premier objectif a été d'élaborer une méthode pour l'échantillonnage spatial de vastes zones d'étude, afin d'y détecter des hurlements de loups à l'aide de réseaux d'enregistreurs autonomes. Ce même dispositif a ensuite permis, dans un second temps, de tester la possibilité de localiser les loups grâce à leurs hurlements. Les expérimentations conduites en milieu de moyenne montagne (Massif des Vosges) et de plaine (Côtes de Meuse), sur deux zones d'étude de 30 km² et avec un réseau de 20 enregistreurs autonomes, ont permis de démontrer l'intérêt de la bioacoustique passive pour le suivi du Loup gris. En effet, près de 70% des émissions sonores (son synthétique aux propriétés similaires à celles de hurlements de loups) ont été détectés par au moins un enregistreur autonome en milieu de moyenne montagne et plus de 80% en milieu de plaine, pour des distances enregistreurs– source sonore atteignant respectivement plus de 2.7 km et plus de 3.5 km. Grâce à un modèle statistique et à un Système d'Information Géographique, la probabilité de détection des hurlements a pu être cartographiée sur les deux zones. En moyenne montagne, elle était forte à très forte (>0.5) sur 5.72 km² de la zone d'étude, contre 21.43 km² en milieu de plaine. Les sites d'émission ont été localisés avec une précision moyenne de 315 ± 617 (SD) m, réduite à 167 ± 308 (SD) m après l'application d'un seuil d'erreur temporelle défini d'après la distribution des données. Le troisième axe de travail porte quant à lui sur l'application d'indices de diversité acoustique pour estimer le nombre d'individus participant à un chorus et ainsi contribuer au suivi de l'effectif des meutes. Les valeurs obtenues pour les six indices (*H*, *H_t*, *H_f*, *AR*, *M* et *ACI*) étaient corrélées avec le nombre de loups hurlant dans les chorus artificiels testés. De bonnes prédictions de l'effectif ont été obtenues sur des chorus réels avec l'un de ces indices (*ACI*). L'influence de plusieurs biais sur la précision des prédictions de chacun des six indices a ensuite pu être étudiée, montrant que trois d'entre eux y étaient relativement peu sensibles (*H_f*, *AR* et *ACI*).

Finalement, les résultats obtenus avec les enregistreurs autonomes montrent le potentiel des méthodes acoustiques passives pour la détection de la présence de loups mais aussi pour les localiser avec une bonne précision, dans des milieux contrastés et à de larges échelles spatiale et temporelle. L'utilisation des indices de diversité acoustique ouvre également de nouvelles perspectives pour l'estimation de l'effectif des meutes. Prometteuses, l'ensemble des méthodes émergeant de ce travail nécessite à présent quelques investigations complémentaires avant d'envisager une application concrète pour le suivi du Loup gris dans son milieu naturel.

Mots clés : bioacoustique, chorus, détection passive, enregistreurs autonomes, hurlements, indices de diversité acoustique, larges échelles spatiales, localisation acoustique, Loup gris, suivi acoustique