



HAL
open science

Impact du paysage sur la distribution spatiale et génétique des colonies de petits rhinolophes

Pierline Tournant

► **To cite this version:**

Pierline Tournant. Impact du paysage sur la distribution spatiale et génétique des colonies de petits rhinolophes. Géographie. Université de Franche-Comté, 2013. Français. NNT : . tel-00949390

HAL Id: tel-00949390

<https://theses.hal.science/tel-00949390v1>

Submitted on 2 Apr 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ACADEMIE DE BESANCON
UNIVERSITE DE FRANCHE-COMTE

THESE DE DOCTORAT
Présentée en vue de l'obtention du grade de
Docteur de l'Université de Franche-Comté

Spécialité : Sciences de la Vie et de l'Environnement
Ecole doctorale : Environnements Santé

**Impact du paysage sur la distribution spatiale et génétique
des colonies de petits rhinolophes**

par

Pierline TOURNANT

Soutenue le 20 décembre 2013

Membres du jury :

Didier JOSSELIN *Rapporteur* CNRS, Avignon

Sandra LUQUE *Rapporteur* IRSTEA, Grenoble

Raphaël ARLETTAZ *Examineur* Université de Bern, Bern (Suisse)

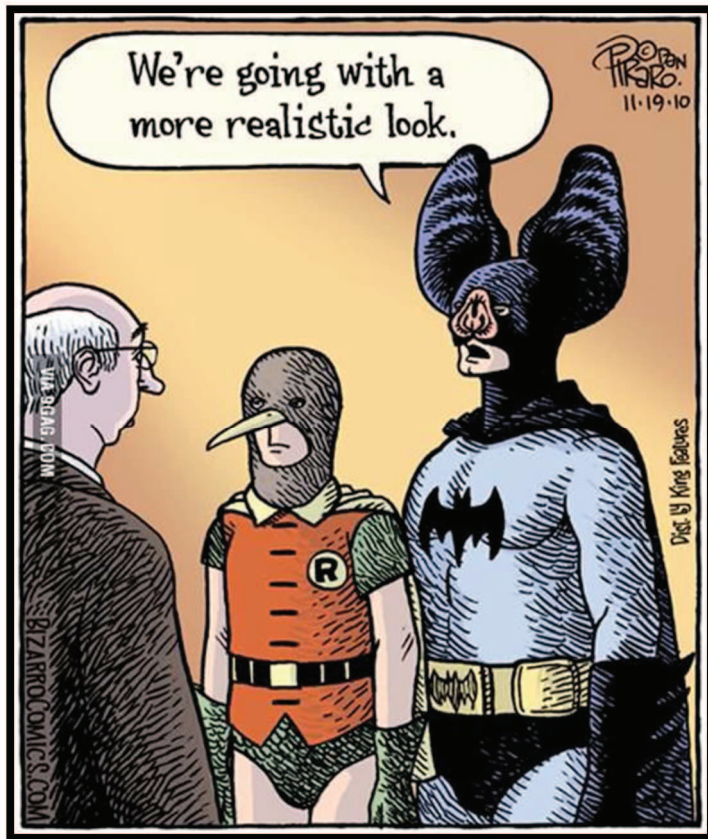
Christian KERBIRIOU *Examineur* MNHN, Paris

Encadrants :

Eve AFONSO *Co-encadrante* Université de Franche-Comté, Besançon

Jean-Christophe FOLTETE *Directeur de thèse* Université de Franche-Comté, Besançon

Patrick GIRAUDOUX *Co-directeur de thèse* Université de Franche-Comté, Besançon



Avant-propos

Cette thèse a été financée par le CNRS et par le Conseil Régional de Franche-Comté par l'intermédiaire d'une allocation de recherche pour les trois premières années. La quatrième année a été financée en partie par l'ADEME et par le Ministère de l'Écologie, du Développement Durable et de l'Énergie par l'intermédiaire d'un poste d'ingénieur d'étude.

Ce travail contribue à un projet de recherche mené au sein du pôle « Homme et Environnement » de la Maison des Sciences de l'Homme et de l'Environnement (MSHE) Claude-Nicolas Ledoux, coordonné par Jean-Christophe Foltête, intitulé GRAPHAB¹. Ce projet est financé à la fois par le Ministère de l'Écologie, du Développement Durable et de l'Énergie, ainsi que par le CNRS, la Région de Franche-Comté, et par le ministère de l'Éducation et de la Recherche (programme ITTECOP²). Il vise à mettre en place un protocole d'évaluation de l'impact des grands aménagements, notamment les grandes infrastructures de transport comme la LGV Rhin-Rhône, sur la dynamique de population de certaines espèces animales dont le petit rhinolophe. Ce projet de recherche s'appuie sur un partenariat entre écologues (UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement) et géographes (UMR CNRS 6049 ThéMA) réunis au sein de la MSHE. Le second volet de ce projet est actuellement en cours de réalisation (GRAPHAB 2). Une partie de ce projet a permis de financer l'échantillonnage de terrain et les analyses moléculaires en laboratoire de cette thèse.

En parallèle, deux projets de recherche obtenus auprès de la Région Franche-Comté³ et de la Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité⁴ ont également contribué à ce travail de thèse notamment par le financement des consommables de laboratoire, de la sous-traitance d'une partie des analyses de biologie moléculaire ainsi que du matériel de terrain.

¹ Graphes paysagers et évaluation de l'impact de la ligne à grande vitesse Rhin-Rhône sur la connectivité spatiale des habitats : conséquences sur les distributions d'espèces

² Programme de recherche ITTECOP - Infrastructures de Transports Terrestres, Ecosystèmes et Paysages

³ Paysage et biodiversité en Franche-Comté : les chauves-souris peuvent-elles se maintenir durablement ? Exemple du petit rhinolophe

⁴ Programme « Modélisation et scénarios de la biodiversité »

Table des matières

Contexte général et modèle d'étude.....	1
1. La connectivité paysagère, un processus central en écologie du paysage.....	1
1.1. Effets de la fragmentation des habitats sur la structure spatiale des populations.....	1
1.2. La prise en compte de l'hétérogénéité spatiale.....	4
1.3. Mesurer le degré de connectivité fonctionnelle.....	7
2. La modélisation de la connectivité par les graphes paysagers.....	12
2.1. Sélection et construction du graphe.....	13
2.2. Applications des graphes paysagers en conservation.....	17
3. Une discipline émergente : la génétique du paysage.....	23
3.1. Le matériel génétique comme élément clé.....	23
3.2. De l'intégration de la connectivité fonctionnelle à la génétique du paysage.....	26
3.3. Un large panel de méthodes mêlant génétique des populations et écologie du paysage.....	27
4. L'intérêt des chauves-souris comme modèle d'étude.....	33
4.1. Un atout écologique et économique ...	33
4.2. ... mais très sensible !.....	35
4.3. Un cas d'étude : le petit rhinolophe.....	37
Objectifs de la thèse.....	41
Influence de la connectivité paysagère sur la distribution spatiale du petit rhinolophe.....	43
1. Présentation de l'étude.....	45
1.1. Objectifs.....	45
1.2. Préparation des données.....	45
2. Evaluating the effect of habitat connectivity on the distribution of lesser horseshoe bat maternity roosts using landscape graphs.....	52
2.1. Abstract.....	52
2.2. Introduction.....	53
2.3. Materials and methods.....	55
2.4. Results.....	65
2.5. Discussion.....	72
2.6. Conclusion.....	76
3. Impact de la mise en place de la LGV Rhin-Rhône sur la présence des colonies de maternité du petit rhinolophe en Franche-Comté.....	81
3.1. Introduction.....	81

3.2.	Matériel et Méthodes.....	83
3.3.	Résultats	85
3.4.	Discussion	86
4.	Discussion de la première partie.....	89
4.1.	Relations entre paysage et distribution des gîtes de maternité	89
4.2.	Implications en conservation.....	94
4.3.	Apport des graphes paysagers dans la modélisation de la connectivité paysagère	97
Caractérisation de la structure génétique de colonies de petits rhinolopes et relations avec la connectivité paysagère		103
1.	Introduction	103
2.	Objectifs de la deuxième partie	104
3.	Genetic structure of a regional population of the lesser horseshoe bat at maternity roosts: female philopatry does not prevent low genetic differentiation	104
3.1.	Abstract	104
3.2.	Introduction	105
3.3.	Material and methods	106
3.4.	Results	112
3.5.	Discussion	118
4.	Etude de la relation entre la connectivité paysagère et la différenciation génétique des colonies de maternité	130
4.1.	Introduction	130
4.2.	Matériel et Méthodes.....	131
4.3.	Résultats	135
4.4.	Discussion	140
5.	Discussion de la deuxième partie	142
5.1.	Apport de l’approche moléculaire dans l’étude des chauves-souris.....	142
5.2.	Comportement de dispersion et de reproduction du petit rhinolope.....	144
Synthèse et perspectives.....		147
Bibliographie.....		151
<i>Liste des figures.....</i>		<i>175</i>
<i>Liste des tables</i>		<i>177</i>
<i>Liste des encadrés</i>		<i>179</i>
Annexes		181

Introduction

Contexte général
et modèle d'étude

1. La connectivité paysagère, un processus central en écologie du paysage

1.1. Effets de la fragmentation des habitats sur la structure spatiale des populations

De par la nature diverse de ses activités, la société humaine menace les populations animales via divers processus tels que la pollution environnementale et l'artificialisation des sols (Brooks *et al.* 2002; Opdam *et al.* 1993). Ces activités anthropiques génèrent une importante hétérogénéité spatiale du paysage et se traduisent principalement par la perte et la fragmentation des habitats (Fahrig 2003). Un habitat est défini par une surface physique ayant des caractéristiques biotiques et abiotiques spécifiques utilisées par un organisme ou une communauté d'organismes afin d'assurer sa survie (Morrison et Hall 2002). Cette fragmentation se caractérise par la réduction et le découpage d'un habitat continu en plusieurs unités ou taches (Encadré 1), plus ou moins isolées les unes des autres, et séparées par un milieu environnant peu favorable nommé "matrice" (Encadré 1 ; Figure 1). De ce fait, ces modifications de l'environnement ont des conséquences mesurables à différents niveaux d'organisation à travers différents mécanismes. A l'échelle de l'écosystème, la richesse spécifique diminue avec la réduction de la surface en habitat favorable. Au niveau de l'espèce, la perte et la fragmentation de l'habitat affecte l'abondance et la structure spatiale des populations locales (Fahrig 1997).

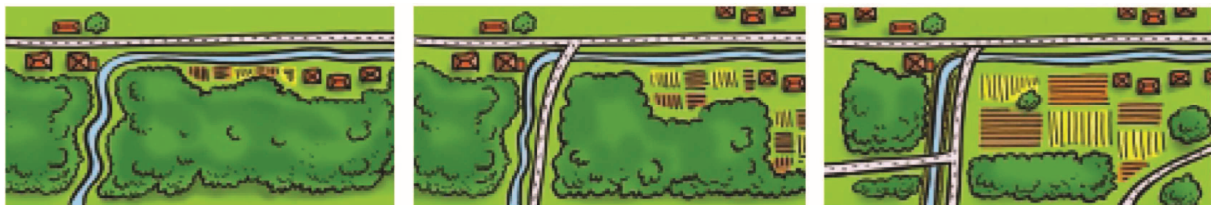


Figure 1 : Fragmentation progressive de l'habitat forestier

La construction de nouveaux bâtis, l'expansion agricole et le développement des infrastructures de transport fragmentent et réduisent peu à peu les taches d'habitat forestier. Les taches forestières n'ont pas de continuité physique, elles sont isolées les unes des autres : il y a perte de connectivité (source : <http://www.isere-environnement.fr/Commun/docs/1/Doc2406.pdf>).

Les effets de la fragmentation sur la structuration des populations dépendent de la capacité des organismes à se maintenir au sein d'un habitat fragmenté et à se déplacer à travers la matrice (With et Crist 1995). Les déplacements des organismes se définissent sur plusieurs échelles spatiales et remplissent différentes fonctions indispensables au maintien des espèces (Clobert *et al.* 2001). Les individus ont tout d'abord besoin de se déplacer quotidiennement pour trouver des ressources (eau, nourriture, abris) essentielles à leur survie. Ces mouvements s'effectuent au sein de leur domaine vital, défini comme l'espace indispensable à chaque individu pour

effectuer son cycle de vie. Certaines espèces effectuent des migrations saisonnières sur de longues distances (relatives à l'espèce considérée) afin de trouver des partenaires sexuels. La migration est ainsi définie comme les mouvements saisonniers entre des habitats exploités à différents moments du cycle annuel.

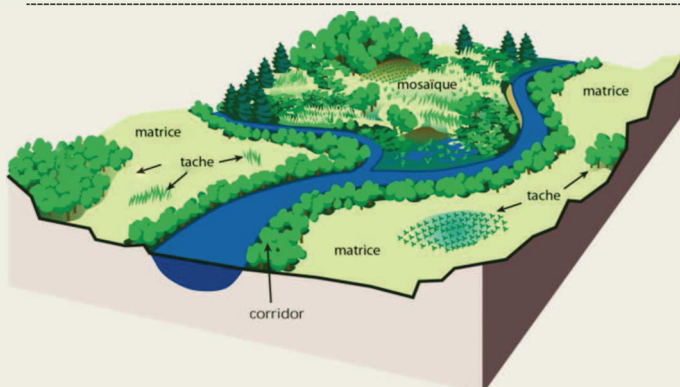
D'autre part, les organismes sont également confrontés au cours de leur vie à la dispersion. La dispersion est un des processus majeurs en écologie (Shields 1987) et peut être définie comme le mouvement effectué par un individu entre sa population de naissance et la population où il va se reproduire (Calabrese et Fagan 2004; Moilanen et Hanski 1998; Ricketts 2001). A la différence de la migration, les individus qui dispersent ne reviennent pas dans leur population d'origine. La dispersion peut être considérée comme un mécanisme agissant en trois étapes distinctes : (1) la décision pour un individu de quitter un habitat favorable, (2) le passage à travers des éléments paysagers plus ou moins favorables et (3) l'établissement dans un habitat non occupé ou dans une population locale (Stevens *et al.* 2010). La dispersion facilite l'expansion géographique des populations en permettant aux individus d'atteindre de nouvelles taches d'habitat pour y fonder de nouvelles sous-populations. Outre sa dimension spatiale, la dispersion peut être également appréhendée de façon temporelle puisqu'elle permet aux espèces de modifier leur aire de répartition en fonction de contraintes externes, comme par exemple en réponse aux changements climatiques qui se manifestent sur le long terme (Chen *et al.* 2011). La dispersion conditionne également les flux de gènes entre les populations (*i.e.* l'échange de gènes entre populations). Ces flux de gènes sont essentiels pour la viabilité des populations car ils favorisent la diversité génétique et la dispersion des gènes potentiellement adaptatifs (Fischer et Lindenmayer 2007; Frankham *et al.* 2002). La variabilité génétique est essentielle à court terme pour atténuer les effets potentiellement délétères de la dépression de consanguinité et à long terme pour permettre aux espèces de s'adapter et d'évoluer face aux conditions environnementales changeantes.

Ainsi, en augmentant la distance entre les taches d'habitat, la fragmentation affecte directement le comportement de dispersion des organismes (Hanski et Gilpin 1997). Certains éléments paysagers agissent comme une barrière aux mouvements des organismes. Ces éléments contraignent la dispersion des individus en diminuant sa probabilité de succès. Cette altération de la dispersion peut avoir des conséquences dramatiques sur les populations et à terme mener les espèces à l'extinction (Lande 1987; With et King 1999). En limitant fortement la dispersion, la fragmentation contribue à l'isolement spatial des populations (Fahrig 2003). Les petites populations localisées dans des habitats fragmentés sont susceptibles de présenter

un taux de consanguinité plus important et une plus faible variation génétique, augmentant ainsi leur vulnérabilité face à d'autres stress environnementaux (Keller et Waller 2002).

Le maintien des populations dans un paysage fragmenté est donc dépendant de la colonisation des taches d'habitat. Or cette colonisation n'est possible que lorsque les taches d'habitat sont suffisamment connectées entre elles pour permettre la dispersion des individus (Fahrig et Merriam 1985; Wiens 1997). La connectivité est un concept clé en écologie du paysage, englobant tous les processus qui affectent les déplacements des organismes entre les taches d'habitat au sein d'un paysage (Baguette et Van Dyck 2007). Dans l'introduction de leur livre intitulé *Connectivity conservation*, Crooks et Sanjayan (2006) soulignent la difficulté et parfois la confusion qui règne dans la définition de la connectivité paysagère et dans la façon de la quantifier. Gray Merriam a été le premier à introduire le concept de connectivité paysagère et à le définir en 1984. Taylor *et al.* (1993) ont ensuite repris et modifié cette définition en considérant la connectivité comme étant " le degré à partir duquel le paysage va faciliter ou empêcher le mouvement des organismes entre les taches d'habitat ". Bien que cette définition ait été encore adaptée par la suite, elle reste la plus employée dans la littérature scientifique. Ainsi la notion de connectivité résulte de la mise en évidence d'une structuration spatiale des populations dans un paysage hétérogène (Moilanen et Hanski 2001; Tischendorf et Fahrig 2000a; With 2004).

Encadré 1 : Paysage schématique en écologie du paysage



(source : http://www.nrcs.usda.gov/technical/stream_restoration/chap1.html)

Ce paysage est constitué d'une mosaïque de taches d'habitats de diverses natures, insérées dans une matrice.

Tache d'habitat : ensemble d'éléments du paysage qui offrent les ressources nécessaires au maintien et à la reproduction d'une espèce.

Matrice : espace qui sépare les taches d'habitat d'une espèce donnée, considérée comme inhospitalière.

Corridor : milieu reliant fonctionnellement des taches d'habitat entre elles et permettant la dispersion des organismes

1.2. La prise en compte de l'hétérogénéité spatiale

La considération de la composante spatiale dans les processus de dynamique des populations a été initiée en écologie spatiale par la théorie de la biogéographie insulaire, formalisée par MacArthur & Wilson (1967). Cette théorie propose d'assimiler la distribution des populations dans des taches d'habitat au sein d'un paysage hétérogène à des îles océaniques. La surface des îles influence la structuration des populations animales et végétales par des processus spatiaux d'extinction et de recolonisation. Une population sera donc plus favorisée dans une île de grande taille offrant plus de ressources.

Le concept de métapopulation énoncé par Levins (1969) s'inspire de la théorie de la biogéographie insulaire et est défini comme un ensemble de populations locales instables (susceptibles d'extinction), distribuées dans des taches d'habitat favorable et liées les unes aux autres par des événements de dispersion qui assurent la métastabilité de l'ensemble (Hanski et Gilpin 1997). La matrice environnante est décrite comme inhospitalière (Hanski 1999), ce qui conduit à une vision binaire du paysage (Figure 2a). Les modèles de métapopulation considèrent une même probabilité de colonisation et d'extinction des populations locales. Le maintien d'une métapopulation est donc dépendant de la colonisation des taches d'habitat qui permet de compenser les extinctions locales. La proportion d'individus dispersant entre les populations doit être assez élevée pour exclure l'isolement complet de populations locales mais aussi suffisamment faible pour pouvoir distinguer plusieurs sous-populations sur l'ensemble des taches d'habitat (Hanski et Gilpin 1997). La structuration spatiale de nombreuses espèces a souvent été implicitement assimilée à une métapopulation (Baguette 2004). C'est le cas par exemple des amphibiens dont les sites de pontes sont spatialement distants. Smith et Green (2005) ont cependant démontré qu'aucune des suppositions du modèle n'avait été réellement testées dans les $\frac{3}{4}$ des études sur les amphibiens. En réalité, il convient mieux de définir certaines populations subdivisées comme « populations morcelées » (*patchy population*) lorsque les taux de mouvements entre unités sont importants (Harrison et Hastings 1996).

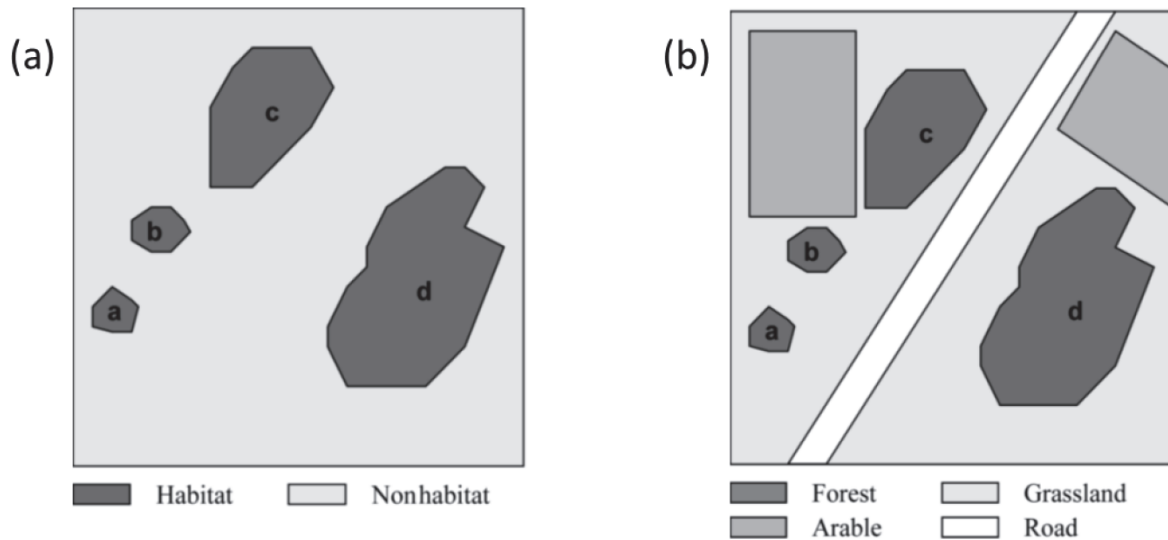


Figure 2 : Représentations d'un paysage dans la théorie des métapopulations et en écologie du paysage

(a) La représentation tache-matrice considère uniquement les taches d'habitat favorable (a à d) comme des îles au sein d'un océan d'habitat non favorable (matrice). (b) Dans la représentation de la mosaïque paysagère, chaque tache appartient à un type d'habitat particulier (Holderegger et Wagner 2008).

La composition du paysage est cependant bien plus complexe que la représentation binaire considérée dans les modèles de métapopulations. La matrice paysagère est en réalité une mosaïque complexe de taches caractérisées par des tailles, des qualités et des formes différentes (Figure 2b) (Wiens 1997). La combinaison de la biologie des métapopulations et de l'écologie du paysage a permis le développement de modèles spatialement plus réalistes, tenant compte à la fois de la taille des taches d'habitat, de la probabilité d'extinction et de recolonisation en fonction de la distance et de la surface de ces taches (Baguette et Mennechez 2004; Hanski et Gaggiotti 2004).

Le développement de l'écologie du paysage a permis de caractériser plus précisément l'hétérogénéité de la matrice. La composition et la structure de la mosaïque paysagère déterminent la perméabilité du paysage aux mouvements des organismes et donc du degré de connectivité entre les taches d'habitat (Goodwin et Fahrig 2002; Hanski *et al.* 2000). La connectivité dite structurelle est fondée sur la configuration spatiale des taches d'habitat dans une mosaïque paysagère. Les mesures les plus couramment employées pour caractériser la connectivité structurelle concernent la taille des taches d'habitat et la distance entre ces taches (Figure 3a). Cependant, ces mesures ignorent les interactions complexes entre les organismes et l'hétérogénéité spatiale (Wiens 1997). En effet, d'après Baguette et Van Dyck (2007), la connectivité peut être appréhendée à deux échelles différentes : celle du paysage et celle de

l'organisme. La dispersion des individus étant influencée par la composition et la structure du paysage, elle peut donc servir d'outil pour caractériser et comprendre le rôle de la structure paysagère en termes de connectivité. Cette seconde perception de la connectivité basée sur la dispersion des organismes a abouti à la définition de la connectivité dite fonctionnelle distincte de la connectivité structurelle (Figure 3b). Deux taches d'habitat peuvent être structurellement non connectées mais fonctionnellement connectées si l'espèce considérée peut traverser la matrice qui les sépare. Cette connectivité fonctionnelle se réfère à la façon dont la nature des éléments paysagers et leur configuration spatiale affectent le comportement de dispersion des individus (Gustafson et Gardner 1996; Tischendorf et Fahrig 2000a, b). Par conséquent, le degré de connectivité fonctionnelle dépend de l'espèce considérée.

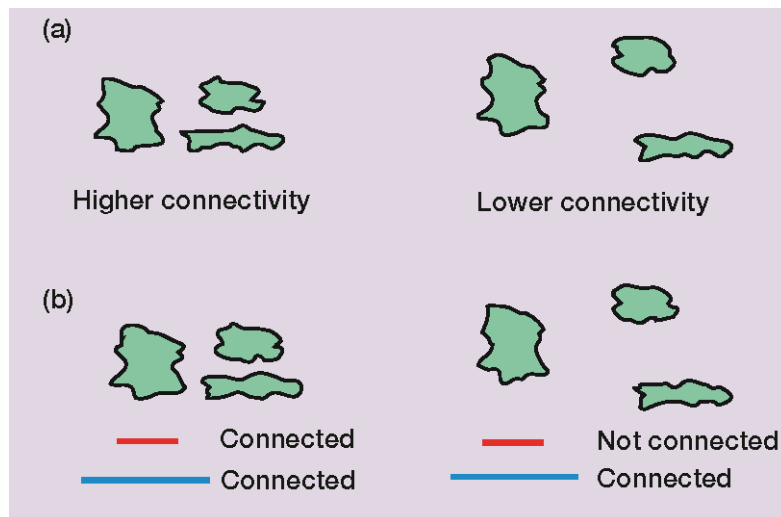


Figure 3 : Représentation schématique de deux estimations de la connectivité

(a) La connectivité structurelle dépend principalement des attributs physiques des éléments paysagers tel que la proximité spatiale par exemple. Les éléments présents à gauche ont donc une connectivité structurelle plus élevée que les éléments présents à droite. (b) La connectivité fonctionnelle dépend elle aussi des attributs physiques des éléments paysagers mais également de la capacité de dispersion de l'espèce étudiée. Les traits rouge et bleu représentent des mesures de capacité de dispersion différentes pour deux espèces hypothétiques. Si la distance entre les taches d'habitat est plus grande que cette mesure de dispersion, les taches ne sont pas connectées. Le paysage de gauche est donc connecté pour les deux espèces alors que le paysage de droite est seulement connecté pour l'espèce bleue (Calabrese et Fagan 2004).

Conserver et restaurer la connectivité paysagère est par conséquent fondamental pour assurer le maintien de nombreuses espèces (Crooks et Sanjayan 2006; Luque *et al.* 2012; Rayfield *et al.* 2011). Cependant, afin de mettre en place des mesures de conservation efficaces, il est tout d'abord nécessaire de comprendre comment les interactions entre la composition et la structure du paysage influencent les déplacements des organismes. De nombreux outils ont

été mis au point pour mesurer la connectivité structurelle et fonctionnelle d'un paysage et permettent de caractériser l'influence de la connectivité paysagère sur le maintien des populations (Calabrese et Fagan 2004; Moilanen et Nieminen 2002; Tischendorf et Fahring 2000). Ces différentes mesures sont développées dans la partie suivante.

1.3. Mesurer le degré de connectivité fonctionnelle

1.3.1. Par des observations directes

L'estimation la plus directe pour mesurer les flux d'individus est fournie par des données sur le mouvement individuel des organismes. Ces données sont recueillies à partir du suivi des organismes dans leur environnement. Cependant, cette démarche peut s'avérer problématique dans le cadre de l'observation de larges populations ou de grandes étendues spatiales, particulièrement lorsque l'espèce étudiée est petite (Sutherland 2006). Des méthodes de radiopistage ont été mises au point pour faciliter ce suivi à l'aide de radio transmetteurs, elles nécessitent cependant la manipulation des organismes et donc leur capture (Millspaugh et Marzluff 2001). Ces méthodes dites de capture-marquage-recapture (CMR) ont été développées et sont très largement utilisées de nos jours pour déterminer les dynamiques de population et par conséquent évaluer le degré de connectivité entre populations (Lebreton *et al.* 1992). Les CMR fournissent une estimation de la taille des populations, de leur probabilité de capture, de leur survie et renseignent sur les patrons de dispersion dans un contexte paysager particulier à l'espèce. Toutefois, un échantillonnage sur de larges étendues spatiales sur plusieurs années est souvent très difficile à réaliser en raison d'un investissement financier et humain important, ce qui conduit souvent au suivi de quelques individus seulement (Rudnick *et al.* 2012). De nouvelles méthodes de modélisation ont été mises au point afin de remédier à ces difficultés. Ces modèles mathématiques et statistiques sont basés sur des hypothèses relatives au comportement de dispersion d'un individu (ou d'une espèce) et permettent d'investiguer les relations entre processus écologiques et la dynamique paysagère. Par ailleurs, l'estimation des flux d'individus entre les populations peut être également réalisée par des méthodes de génétique des populations permettant de quantifier les flux de gènes entre les populations résultant de la dispersion des individus.

Dans le cadre de cette thèse, nous disposons uniquement de données relatives à la présence de gîte de maternité du petit rhinolophe dans la zone d'étude. La mise en place de suivi d'individus par radiopistage n'a pas été envisagée pour des raisons de temps et de coûts

de financement. Nous nous sommes donc concentrés sur des méthodes de modélisation spatiale afin de caractériser l'impact de la connectivité fonctionnelle des habitats du petit rhinolophe sur la distribution des gîtes de maternité de cette espèce et sur des méthodes génétiques pour estimer les flux de gènes entre colonies de maternité.

1.3.2. Par de la modélisation spatiale

Les études sur la connectivité paysagère ont été grandement améliorées grâce à l'apport des systèmes d'information géographique (SIG) et de la télédétection. Ces outils sont utilisés pour modéliser les relations habitat-espèce à différentes échelles spatiales à partir de données biologiques (pour plus de détails/exemples sur les relations habitat-espèces, se référer à Calabrese et Fagan 2004; Franklin et Miller 2009). Sur la base de ces relations habitat-espèces, une méthode fréquemment utilisée pour déterminer le degré de connectivité consiste à mesurer la distance euclidienne entre les taches d'habitat (Baguette *et al.* 2013; Kindlmann et Burel 2008). Plus la distance est grande et plus le degré de connectivité est considéré comme faible. Cette mesure rend compte de la connectivité structurelle.

Cette simple mesure peut être améliorée par la prise en compte de la capacité de dispersion des organismes, une tache d'habitat étant considérée comme connectée aux autres taches si la distance à parcourir entre ces taches est inférieure à la distance maximale de dispersion des individus (Moilanen et Hanski 2001; Moilanen et Nieminen 2002). Dans ce contexte, l'évaluation de la connectivité paysagère correspond à une approche fonctionnelle centrée sur l'espèce considérée (Hansen et Urban 1992). Cette connectivité fonctionnelle peut être mesurée par des noyaux de dispersion souvent utilisés comme méthode pour mesurer l'effet de la distance sur la connectivité (Moilanen et Nieminen 2002). Mais ces noyaux supposent un processus de dispersion isotrope, non influencé par la structure paysagère. D'autres modèles, dits individu-centrés permettent de fournir des estimations de la connectivité fonctionnelle (*e.g.* Baguette et Van Dyck 2007). Cependant, bien que ces modèles soient assez flexibles, leur application à de réelles situations nécessite des données détaillées sur les traits d'histoire de vie de l'espèce considérée qui ne sont pas toujours disponibles (Baguette *et al.* 2013).

Une approche plus réaliste par les chemins de moindres coûts

Pour pallier ces difficultés, plusieurs approches ont été développées pour calculer des distances dites « écologiques ». Ces distances prennent en compte la résistance (et donc la perméabilité) des différents éléments paysagers aux mouvements des individus et les capacités

de dispersion de l'espèce étudiée (Adriaensen *et al.* 2003). Cette démarche suppose que les organismes subissent un coût pour chaque déplacement, ce coût reflétant principalement l'énergie dépensée pour ce mouvement. Plus l'élément considéré est favorable aux déplacements des organismes et plus la valeur du coût relatif est faible. Afin de définir les valeurs de ces coûts, des hypothèses concernant l'influence potentielle des éléments paysagers sur les mouvements des organismes sont posées.

Pour attribuer des valeurs de résistance aux éléments du paysage, le calcul de ces distances « écologiques » nécessite des données souvent issues du dire d'experts, d'expériences de capture-recapture et de relevés de présence-absence obtenus via le suivi télémétrique des individus ou par expérimentation (Stevens *et al.* 2006; Zeller *et al.* 2012). Chaque type d'habitat est ainsi associé à un degré différent de perméabilité, spécifique à chaque espèce (Figure 5a ; With *et al.* 1997). Ces hypothèses sont généralement élaborées sur la base des connaissances écologiques sur la façon dont les organismes répondent à leur environnement pendant la dispersion (Spear *et al.* 2010).

Rayfield *et al.* (2010) ont rigoureusement analysé ces approches basées sur ces valeurs de coût et ont montré que les distances écologiques varient en fonction des valeurs de coût assignées aux éléments paysagers et à la configuration spatiale des taches d'habitat. De nouvelles approches basées sur des données génétiques (Angelone *et al.* 2011; Garroway *et al.* 2011) et des expériences de translocation permettent d'estimer encore plus efficacement les valeurs de coût à assigner aux éléments paysagers. Deux formes de distances peuvent être dérivées de la même approche :

- La distance de moindre coût. C'est la distance métrique calculée entre deux taches qui minimise les coûts associés aux mouvements des individus à travers le paysage (Figure 4 ; Adriaensen *et al.* 2003; Verbeylen *et al.* 2003).
- La distance en coûts cumulés. C'est le coût accumulé le long du chemin de moindre coût (Figure 5b ; Janin *et al.* 2009; Ray *et al.* 2002).

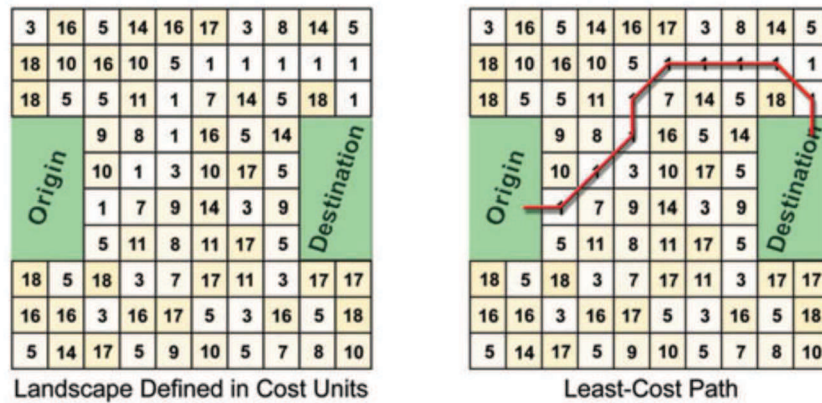


Figure 4 : Chemins de moindre coût déterminés à partir d'une carte de résistance

(Rudnick et al. 2012).

Dans leur revue, Sawyer *et al.* (2011) examinent les limites des modèles de chemins de moindre coût considérés comme l'estimation la plus explicite de la connectivité fonctionnelle. Les auteurs identifient deux biais majeurs à cette approche : (1) la plupart des modèles utilisent des données environnementales de faible résolution pour déterminer la connectivité et (2) les chemins de moindre coût ignorent comment les organismes utilisent en réalité le paysage.

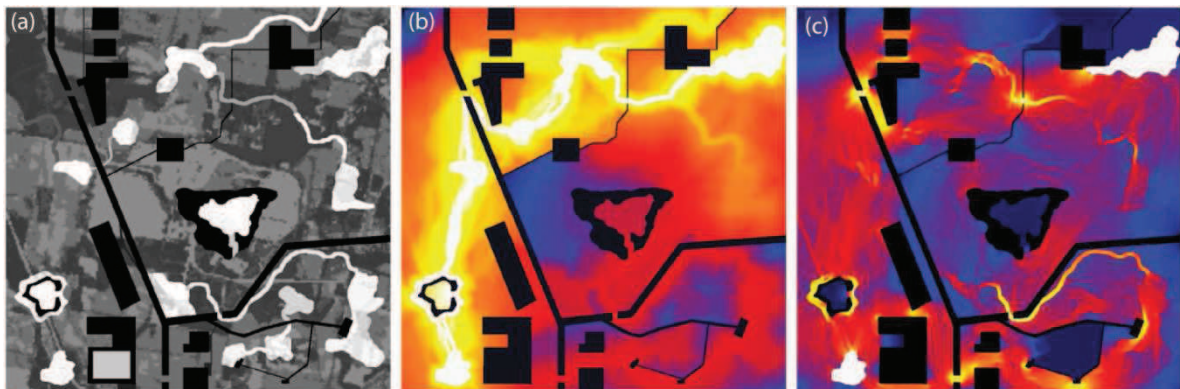


Figure 5 : Représentations des modèles de chemins de moindre coût et du courant électrique

(a) Carte de résistance avec les coûts associés à chaque éléments allant de 1 (gris clair) à 100 (gris foncé) à l'infini (noir), les taches d'habitat étant en blanc. (b) Résultats du modèle de chemin de moindre coût entre deux taches d'habitat de la figure (a) (celle en haut à droite et celle en bas à gauche). La couleur assignée à chaque cellule indique le coût accumulé le long du chemin le plus efficace qui passe d'une tache à une autre. Les surfaces les plus claires indiquent le chemin avec le minimum de coûts accumulés. (c) Carte du courant entre les deux mêmes taches d'habitat. Les fortes densités de courant (en rouge) indiquent les zones avec une probabilité de passage plus importante. Les surfaces en jaune représentent les zones où la connexion est limitée à un passage restreint (McRae et al. 2008).

Apport de la théorie des circuits en écologie du paysage

En prenant en compte les capacités de déplacement des organismes, les chemins de moindre coût apportent une amélioration par rapport aux distances euclidiennes. Cependant ils identifient un unique tracé de déplacement entre deux taches d'habitat (le moins coûteux) alors que les organismes peuvent emprunter de multiples chemins. Pinto et Keitt (2009) se basent sur l'algorithme de Dijkstra pour définir le chemin le plus court et le modifient pour trouver des chemins multiples. Dans le même ordre d'idée, une autre approche consiste à évaluer tous les chemins possibles entre chaque paire de taches en se basant sur la théorie des circuits électriques (McRae et Beier 2007; McRae *et al.* 2008). De cette façon, plusieurs chemins parallèles entre deux taches permettent potentiellement un plus large flux d'individus que le seul chemin de moindre coût définit plus haut. Cette méthode peut être considérée comme une extension des modèles de chemins de moindre coût. En effet, la théorie des circuits est basée sur la dérivation des valeurs de résistances entre les taches d'habitat. Le paysage est représenté sous la forme d'une grille où la connectivité entre deux cellules adjacentes est fonction des caractéristiques locales du paysage. Cette grille est ensuite modélisée sous la forme d'un circuit électrique, dans lequel chaque cellule reflète le degré de connectivité (Figure 6). Les résultats issus de l'analyse des circuits sont visualisés à l'aide de cartes de courant qui reflètent la probabilité de mouvement entre deux taches d'habitat prédite par le modèle (Figure 5c). Un faible courant implique une forte résistance et inversement. Ces cartes permettent d'évaluer le degré de connectivité du paysage et d'identifier les zones où la connectivité est restreinte à un passage (goulot d'étranglement) pour de futures actions de conservation.

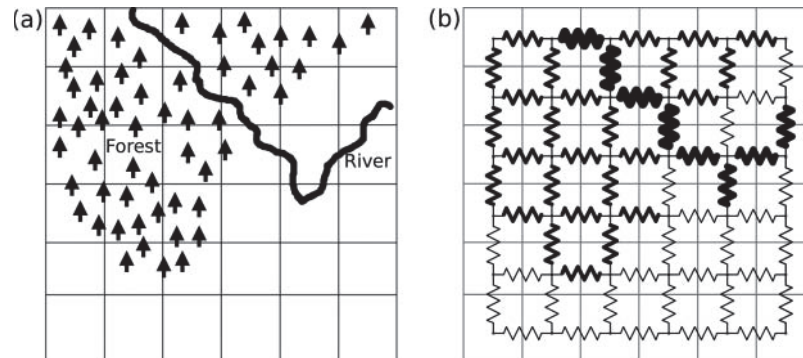


Figure 6 : Illustrations de l'utilisation des circuits pour modéliser la connectivité paysagère

Le paysage est représenté sous forme de raster où la connectivité entre deux cellules adjacentes est fonction des caractéristiques locales du paysage et est calculée en utilisant la théorie des circuits. (a) Dans ce paysage hypothétique, la combinaison entre la forêt et la rivière limite les mouvements des organismes et donc la connectivité. (b) Dans la modélisation du circuit, les centroïdes des cellules du raster sont connectés par une valeur de résistance (traits de la figure b). Les traits plus foncés indiquent une forte résistance entre les cellules (Hanks et Hooten 2013).

Une autre façon d'estimer la connectivité fonctionnelle peut être fondée sur les graphes paysagers. L'application de la théorie des graphes en écologie du paysage a connu un essor important ces quinze dernières années et présente un outil efficace et performant permettant de modéliser le réseau paysager (Fall *et al.* 2007; Keitt *et al.* 1997; Minor et Urban 2007; Saura et Pascual-Hortal 2007). Les graphes paysagers fournissent une représentation spatiale explicite du paysage permettant d'évaluer la contribution de chaque élément paysager à la connectivité, dans le cadre par exemple de la mise en place de mesure de conservation. Cette approche étant employée dans le cadre de cette thèse, elle fait l'objet de la partie suivante.

2. La modélisation de la connectivité par les graphes paysagers

La théorie des graphes offre un outil puissant pour caractériser les processus intervenant dans des systèmes complexes et connectés, relatifs à diverses disciplines comme la physique, les mathématiques et la sociologie (Newman 2003) mais également la biologie où les interactions entre protéines, les structures sociales et les réseaux trophiques sont modélisés (May 2006; Proulx *et al.* 2005). La connectivité est quantifiée par le biais de nombreuses métriques dont Bunn *et al.* (2000) et Urban et Keitt (2001) ont donné des interprétations écologiques pour certaines. La théorie des graphes apporte ainsi une approche efficace en écologie du paysage pour fournir des métriques combinant les attributs structurels du paysage et les distances de dispersion des organismes (Bunn *et al.* 2000; Keitt *et al.* 1997; Urban et Keitt

2001). Cette approche est particulièrement utile pour modéliser la connectivité sur de larges zones d'étude.

Les graphes paysagers sont utilisés dans plusieurs objectifs (Urban *et al.* 2009). Ils sont tout d'abord utilisés pour représenter les relations spatiales entre les taches d'habitat (Urban et Keitt 2001) et entre les individus d'une espèce donnée dans un paysage (Fortuna *et al.* 2008). Dans une logique opérationnelle, Fuller *et al.* (2006) ont montré que les graphes permettent de modéliser la connectivité entre les réserves naturelles et d'évaluer ainsi les stratégies de conservation mises en place pour de multiples espèces.

2.1. Sélection et construction du graphe

La modélisation des réseaux écologiques par les graphes paysagers a été mise en avant ces dix dernières années à partir des travaux de Bunn *et al.* (2000) et Urban et Keitt (2001), en tant qu'outil permettant d'étudier les effets de la fragmentation des habitats sur les déplacements des organismes et sur le maintien des espèces (Dale et Fortin 2010; Luque *et al.* 2012). Les graphes paysagers fournissent une représentation spatiale du paysage à partir duquel il est possible d'évaluer la contribution individuelle des éléments paysagers à la connectivité globale (Galpern *et al.* 2011; Luque *et al.* 2012; Urban *et al.* 2009). L'avantage de cette méthode est d'être peu exigeante sur la nature et la quantité des données nécessaires pour quantifier la connectivité paysagère (Calabrese et Fagan 2004). L'application des graphes paysagers permet d'évaluer la connectivité paysagère sans nécessiter de données à long terme sur les populations bien que des informations supplémentaires peuvent être intégrées *a posteriori*, donnant un aspect dynamique à ces modèles (Galpern *et al.* 2011).

Dans un graphe paysager, le paysage est représenté sous forme de réseau dont les taches d'habitat de l'espèce considérée forment les nœuds et sont connectées entre elles par des liens. De ce fait, la construction d'un graphe paysager nécessite de définir au préalable les éléments du paysage représentés comme les nœuds du graphe. Cette définition se fait à partir d'une cartographie de la zone d'étude à plus ou moins haute résolution selon les processus écologiques que l'on souhaite caractériser par les liens du graphe (Galpern *et al.* 2011). Ainsi, la construction d'un graphe paysager va dépendre de l'objectif de l'analyse, des connaissances biologiques sur l'espèce étudiée et des données disponibles pour paramétrer le modèle.

Définition des nœuds

En principe, les nœuds d'un graphe paysager correspondent aux taches d'habitat de l'espèce considérée (Figure 7a). Dans certains cas il est nécessaire de considérer uniquement le cœur des taches comme habitat, la lisière de la tache en contact avec la matrice paysagère étant considérée comme une zone susceptible de subir des perturbations environnementales externes. Cependant, il est possible que les connaissances disponibles sur l'espèce ne permettent pas de déterminer concrètement son habitat préférentiel. De ce fait, pour de nombreuses espèces mobiles telles que les grands mammifères par exemple, la représentation du paysage n'est pas strictement dichotomique entre l'habitat et la matrice environnante. Dans ces cas-là, les nœuds du graphe sont définis soit à l'aide d'une combinaison de variables environnementales (Pascual-Hortal et Saura 2007; Saura et Pascual-Hortal 2007), soit grâce à l'utilisation de modèles de sélection de ressources (O'Brien *et al.* 2006). Un ensemble de nœuds interconnectés par des liens est appelé une composante du graphe (Figure 7b). Cela implique que les organismes présents dans n'importe quel nœud de la composante peuvent potentiellement se déplacer vers tous les autres nœuds de la même composante.

Les nœuds peuvent être représentés sous la forme de points, généralement correspondant aux centroïdes des taches d'habitat (Figure 7b), ou bien sous forme de polygones en considérant les taches d'habitat en deux dimensions (Figure 7c). Outre leur forme, les nœuds du graphe sont également définis par d'autres propriétés telles que leur surface, leur taille potentielle de population, la présence ou l'absence d'individus d'une espèce donnée ou encore la qualité intrinsèque de l'habitat.

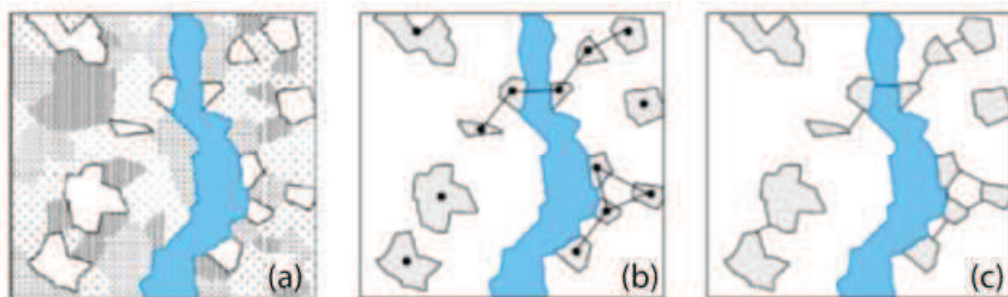


Figure 7 : Définition des nœuds du graphe paysager

(a) Les taches d'habitat considérées sont représentées en blanc. Le reste du paysage est constitué par une rivière (en bleu) et d'une mosaïque d'éléments paysagers (en pointillés). (b) Graphe paysager avec des liens représentant les relations entre les centroïdes des taches. L'ensemble des nœuds interconnectés représente une composante (c) Graphe paysager avec des liens représentant les relations entre les lisières des taches (Galpern *et al.* 2011).

Définition des liens

Dans un modèle de graphe paysager, les nœuds sont reliés par des liens en fonction des processus écologiques pris en compte. Les liens du graphe sont caractérisés par :

- leur direction ; dans la plupart des cas, les nœuds sont reliés par des liens bidirectionnels qui considèrent des flux d'individus équivalents entre deux nœuds (Figure 8b). Or des graphes définis par des liens unidirectionnels (appelés arcs) sont nécessaires pour décrire certains processus écologiques pour lesquels les flux d'individus se déroulent dans une direction précise (Figure 8a ; Fagan 2002; Grant *et al.* 2007; Trembl *et al.* 2008). Par exemple, Fortuna *et al.* (2006) ont analysé le réseau spatial de mares temporaires et les mouvements des amphibiens pendant la sécheresse à l'aide de liens unidirectionnels. Les mesures de connectivité issues du graphe ont ainsi montré que la structure spatiale des mares permettait les mouvements entre les mares asséchées et inondées, ce qui augmente la probabilité de reproduction pendant la saison sèche.

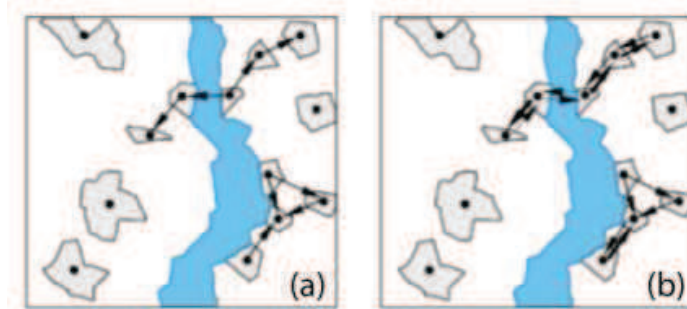


Figure 8 : Liens symétriques et asymétriques

(a) Exemple de liens unidirectionnels. (b) Exemple de liens bidirectionnels (Galpern *et al.* 2011).

- leur topologie ; un graphe est dit complet lorsque tous les liens qui connectent chaque paire de nœuds sont pris en compte (Figure 9a). Des liens peuvent ainsi se croiser et se superposer. Une alternative à ce graphe complet est le graphe planaire minimal où les liens rejoignent uniquement les paires de nœuds les plus proches (Figure 9b ; Fall *et al.* 2007). Cet assemblage est basé sur la mise en place de polygone de « Voronoï » autour de chaque nœud. Basé sur l'hypothèse que les organismes se déplacent via les taches de proche en proche, les liens rassemblent les nœuds des polygones adjacents, produisant un graphe où les liens ne se croisent pas. Cette approximation du graphe complet par une représentation visuelle plus simple d'un paysage permet un traitement informatique plus efficace.

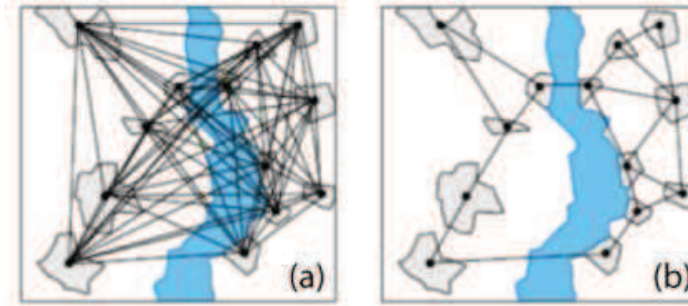


Figure 9 : Graphe complet et graphe planaire minimal

(a) Graphe complet représentant tous les liens possibles entre paires de taches. (b) Graphe planaire minimal avec des liens reliant les paires de nœuds les plus proches (Galpern *et al.* 2011).

Dans un paysage fragmenté, les liens entre les nœuds reflètent le degré de résistance des différents types d'occupations du sol aux mouvements des organismes (*e.g.* eau, urbain, forêt, cultures *etc.*). Comme les liens sont établis à partir des informations sur les mouvements des individus, ils définissent une véritable relation fonctionnelle entre les nœuds. En l'absence de données de dispersion, il est possible d'utiliser une estimation de la capacité maximale de dispersion des organismes comme distance seuil pour déterminer les liens entre les nœuds. Le graphe ainsi « seuillé » connecte directement toutes les paires de nœuds pour lesquelles la distance qui les sépare est inférieure à la distance de dispersion seuil définie (Saura et Torne 2009). La distance de dispersion seuil appliquée au graphe planaire minimal peut donc être directement interprétée comme la capacité de dispersion des organismes (Belisle et Desrochers 2002; Richard et Armstrong 2010). Il est donc possible de faire varier cette distance seuil pour tester des hypothèses alternatives sur la dispersion des espèces (Figure 10 ; Dale et Fortin 2010). L'utilisation d'un modèle de dispersion permet d'améliorer la construction des liens. Ces modèles produisent une probabilité de dispersion entre les nœuds adjacents en intégrant les connaissances théoriques sur la capacité de déplacement des organismes (Treml *et al.* 2008). La combinaison des modèles de dispersion avec les attributs de nœuds, telle que la surface par exemple, permet de représenter de manière encore plus réaliste les flux d'individus entre les taches d'habitat.

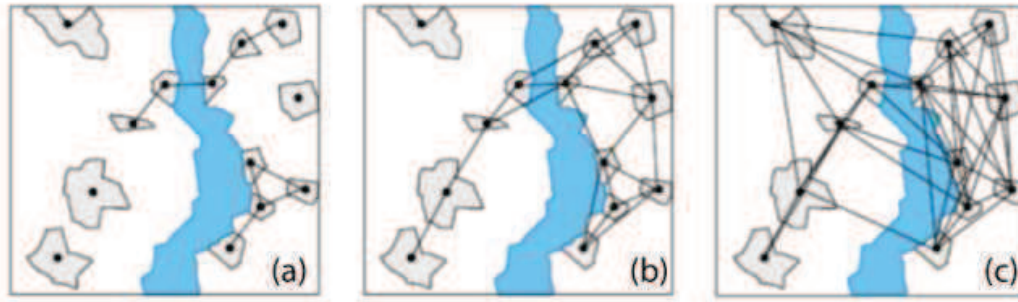


Figure 10 : Graphes seuillés à différentes distances

(Galpern *et al.* 2011)

- leur pondération ; une valeur d'impédance représentant le plus souvent le coût de déplacement entre deux nœuds peut être attribué à un lien. Ce poids peut correspondre à différentes propriétés du lien telles que la distance euclidienne ou la distance de moindre coût (voir définitions page 9).

De fait, l'efficacité des analyses reposant sur les graphes paysagers dépend de l'attribution des liens et des nœuds (Urban et Keitt 2001), de l'assignement de leur propriétés fonctionnelles (Fall *et al.* 2007) mais également de la sélection des mesures de connectivité (Laita *et al.* 2011; Rayfield *et al.* 2011).

2.2. Applications des graphes paysagers en conservation

Une fois calibré pour une espèce donnée, le graphe paysager permet de multiples applications en biologie de la conservation. La structure du réseau a en effet une importante implication dans le maintien des populations. Les graphes paysagers fournissent une représentation spatiale du paysage et offrent un outil mathématique suffisamment développé pour quantifier l'impact des décisions d'aménagement du territoire sur la connectivité paysagère (Urban *et al.* 2009). Ces applications sont surtout basées sur l'exploration des différentes propriétés du graphe.

Approche visuelle du graphe

Le graphe paysager permet dans un premier temps de visualiser et de décrire la configuration spatiale de l'habitat. Cette configuration est importante, notamment pour distinguer les différentes composantes et identifier les zones isolées de l'ensemble du réseau où la connectivité peut être améliorée et restaurée (Galpern *et al.* 2011). Les éléments linéaires tels

que les routes et chemins de fer qui peuvent jouer le rôle de barrière dans le déplacement des organismes, peuvent ainsi être aménagés afin d'éviter la rupture de connectivité au sein du paysage. Les graphes paysagers peuvent également être consultés dans le cadre de la mise en place de zones protégées (Fall *et al.* 2007).

Approche par le calcul de métriques de connectivité

L'aménagement du paysage pour la conservation des espèces nécessite, en plus de la représentation cartographique du réseau, des informations quantitatives sur la quantité, la qualité et le degré de connectivité de l'habitat (Fahrig 2001, 2002). En association avec la représentation des graphes paysagers, il est donc important de présenter des mesures chiffrées de la connectivité fonctionnelle. La quantification de cette connectivité s'effectue par le calcul de métriques issues du graphe. Ces indices permettent de caractériser la connectivité à différentes échelles spatiales : sur le graphe entier, sur les composantes du graphe ou sur les éléments de base, nœuds et liens (Dale et Fortin 2010; Galpern *et al.* 2011; Rayfield *et al.* 2011). Pour certaines métriques, la connectivité d'un ensemble de nœuds ou du graphe entier peut également être évaluée en réalisant la somme ou la moyenne des valeurs obtenues pour chacun des nœuds. Par exemple, la surface totale des taches d'habitat d'une composante (Awade et Metzger 2008) ou la surface moyenne des taches des composantes du graphe (O'Brien *et al.* 2006) peuvent être incluses dans les analyses de graphes paysagers.

Rayfield *et al.* (2011) ont proposé une classification des métriques de connectivité selon le niveau structurel du graphe (un élément particulier du graphe, une composante ou sur le graphe entier) et les propriétés de connectivité mesurées. Par exemple, le flux d'un réseau écologique peut être mesuré localement entre deux nœuds connectés ou globalement, entre nœuds connectés indirectement à travers des nœuds « intermédiaires ». La nature multi-échelle des analyses de graphes paysagers les rend particulièrement pertinents pour des études sur les processus écologiques intervenant à fine et large échelle (Fortin *et al.* 2012). La mesure de la connectivité via le graphe va dépendre elle de l'objectif de l'analyse.

Les graphes paysagers comme outil de gestion

Dans un contexte de paysage fragmenté, il est important d'évaluer le maintien potentiel des espèces face à la perte de connectivité (Bunn *et al.* 2000). A l'inverse, dans le cas d'espèces invasives ou nuisibles il est également important de prédire la dispersion potentielle de ces

organismes (Margosian *et al.* 2009). Pour cela, l'approche utilisée est d'identifier la valeur critique de seuillage des liens à partir de laquelle le paysage apparaît déconnecté pour l'espèce étudiée. Cette information est ensuite utilisée pour déterminer si la restauration d'une tache d'habitat est nécessaire pour améliorer la connectivité ou inversement s'il est nécessaire de réduire la dispersion des organismes néfastes. Cette valeur est déterminée à partir d'une analyse de seuillage progressif des liens : le graphe est assemblé à l'aide d'une série de différentes valeurs de seuillage (de la plus petite distance considérée à la plus grande) et une métrique de connectivité est calculée pour le graphe entier ou pour un groupe de nœuds à chaque seuillage (*e.g.* Bergerot *et al.* 2013 ; Annexe 1). La métrique de connectivité augmente avec la valeur de seuillage (*i.e.* avec un nombre de taches connectées de plus en plus important) jusqu'à atteindre un plateau lorsque l'ensemble des nœuds est connecté (Brooks 2006). La valeur critique de seuillage associée à une augmentation rapide de la connectivité est ensuite déterminée mathématiquement.

Les graphes paysagers sont également employés pour mesurer l'impact des modifications du paysage sur la connectivité ou pour évaluer l'efficacité des mesures de restauration réalisées. Par exemple, il est possible de représenter la mise en place d'une infrastructure de transport en modifiant un graphe pour ensuite quantifier les modifications de la connectivité et ainsi de prédire l'impact de cet aménagement sur les potentiels mouvements des organismes (Girardet *et al.* 2013). Ces analyses sont généralement basées sur plusieurs métriques qui décrivent la connectivité sur l'ensemble du graphe.

Afin de cibler au mieux les mesures de conservation à appliquer ou de mettre en place des zones de protection, il peut être utile de déterminer les zones et plus précisément les taches d'habitat à conserver en priorité (*e.g.* Minor et Urban 2008; Pascual-Hortal et Saura 2007). Ainsi, les nœuds et les liens d'un graphe peuvent être sélectionnés en fonction de leur contribution à la connectivité de l'ensemble du réseau, en évaluant par exemple le nombre de connexions potentielles dépendant de chaque nœud (ou lien) ou simplement en sélectionnant les éléments pour lesquels la valeur de la métrique de connectivité calculée est la plus forte. Une autre approche consiste à évaluer l'importance de chaque tache par rapport à une métrique de connectivité globale en simulant sa suppression (et ses liens associés) du graphe et en mesurant les modifications de la valeur de la métrique considérée. Cette méthode peut aussi être appliquée aux liens du graphe. L'importance de chaque élément du graphe est ainsi indexée en fonction de la différence de connectivité que sa perte occasionne. Les éléments du graphe qui entraînent une forte réduction de la connectivité sont identifiés comme essentiels au

maintien du réseau. En se fondant sur la théorie des métapopulations, Urban et Keitt (2001) ont généralisé cette approche pour divers indices de connectivité issus de la théorie de graphes permettant de déterminer l'importance d'une tache d'habitat à différentes échelles spatiales par rapport à sa capacité démographique (métrique R), à son flux de dispersion potentiel en fonction des connexions locales (métrique F) et à sa traversabilité, *i.e.* son rôle d'élément intermédiaire dans la connectivité à longue distance (métrique T nommée « *betweenness centrality of long distances* » *BCL* en anglais; Figure 11). La définition et le calcul de ces métriques sont donnés en détail dans l'article présenté dans la partie suivante de cette thèse (page 63).

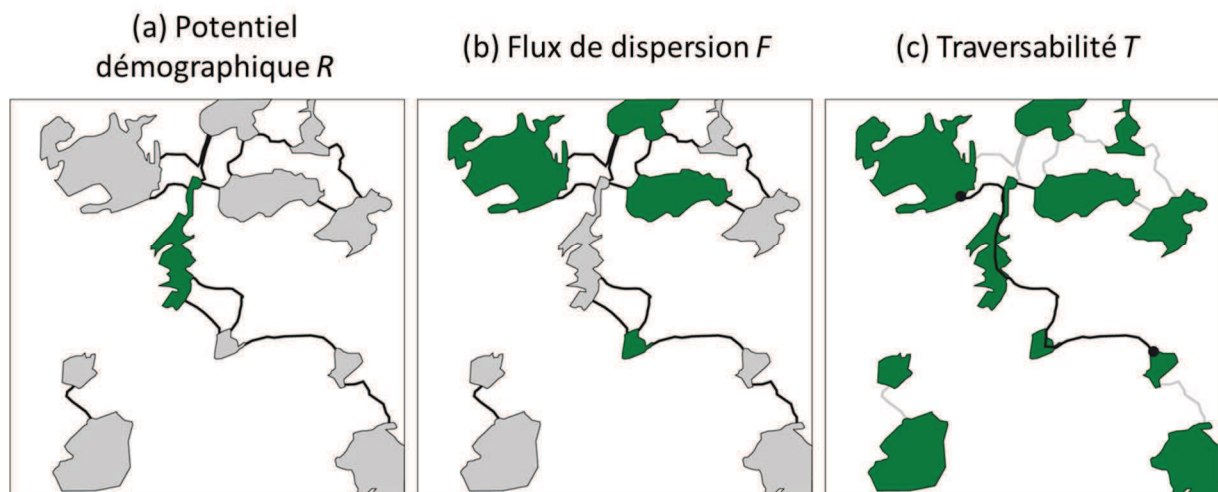


Figure 11 : Représentation de trois métriques de connectivité fondées sur la théorie des métapopulations et calculées à partir d'un graphe paysager

(a) Le potentiel démographique (métrique R) généralement assimilé à la surface de la tache d'habitat est une métrique relative à la tache considérée (en vert). (b) Le flux de dispersion (métrique F) considère les relations entre les taches d'habitat proches et représente la capacité d'une tache à disperser des individus. Elle correspond à la somme des capacités des taches connectées à la tache focale (en vert), chacune étant pondérée par une fonction décroissante du coût de déplacement qui les sépare de la tache focale (au centre). (c) La traversabilité (métrique T) représente le potentiel d'une tache d'être traversée par un lien reliant d'autres taches (points noirs).

Saura et Pascual-Hortal (2006; 2007) ont par la suite développé plusieurs indices permettant de caractériser le degré d'accessibilité des taches d'habitat par les organismes. L'accessibilité tient compte à la fois des ressources disponibles au sein de la tache (connectivité intra-tache) et des ressources accessibles dans les taches voisines (connectivité inter-tache). La probabilité de connectivité calculée avec la méthode de la suppression (dPC ; Saura et Rubio 2010) est une métrique qui exprime la contribution relative à la connectivité d'une tache d'habitat par rapport à l'ensemble des taches disponible au sein du paysage. Cette probabilité peut être évaluée de trois façons différentes : en termes de connectivité intra-tache, de flux de dispersion à travers

la tache et de la contribution d'un élément à la connectivité par rapport aux autres taches d'habitat.

Les métriques dites de centralité identifient la position ou le rôle d'un nœud par rapport à ses proches voisins ou à l'ensemble du réseau (Estrada et Bodin 2008) et détectent les nœuds qui exercent une forte influence sur la dynamique du système (*e.g.* Goetz *et al.* 2009). La priorisation des liens quant à elle, est une approche utilisée dans le cas où les liens peuvent être assimilés à des éléments structurels du paysage utilisés par les organismes comme corridors de déplacement entre les taches (Encadré 1). Les mesures de conservation s'appuient sur la sélection des liens contribuant le plus à la connectivité du réseau (*e.g.* Jordan 2003; Vasas *et al.* 2009).

A l'inverse, la création de nouveaux corridors ou de nouvelles taches d'habitat peut être modélisée par l'ajout de nouveau liens ou de nœuds dans un graphe paysager déjà construit. Cette démarche permet à la fois d'évaluer des mesures de restauration (*e.g.* Schick et Lindley 2007) et peut servir d'outil d'aide à la décision lorsque plusieurs scénarios alternatifs de conservation sont possibles (Dale 2003). De la même façon que pour la suppression des nœuds ou des liens, la modification de la connectivité globale est évaluée successivement par l'ajout d'un élément.

Application des graphes paysagers dans les modèles de distribution d'espèce

Les études sur la fragmentation des habitats négligent souvent les processus spatiaux et considèrent uniquement les propriétés individuelles des taches (Dale et Fortin 2010). En effet, bien que l'influence de la configuration spatiale des taches d'habitat et de la matrice sur le maintien des espèces dans un paysage fragmenté soit établie, l'importance relative de ces facteurs dans la structuration spatiale des populations est peu étudiée (Luque *et al.* 2012). Guisan et Zimmermann (2000) ont montré que les modèles de distribution d'espèce peuvent être améliorés en intégrant des informations sur les processus écologiques, telle l'utilisation fonctionnelle de l'habitat par les organismes par exemple. C'est la démarche qui a été employée dans ce travail de thèse, développée par Foltête *et al.* (2012 ; Annexe 2). La méthode est basée sur l'emploi des trois métriques de connectivité précédemment présentées (métriques *R*, *F* et *T*) issues de la construction d'un graphe paysager et calculées au niveau des taches. Ces trois métriques ont été sélectionnées par rapport à leur signification écologique, chacune représentant un facteur favorable à la présence d'espèce à différentes échelles spatiales (locale, sub-locale

et globale). Les valeurs de ces métriques sont attribuées aux nœuds du graphe et peuvent être assignées aux points de présence d'une espèce de deux façons différentes : en rattachant le point d'analyse à la tache la plus proche (par la distance euclidienne ou par une fonction décroissante du coût de déplacement en fonction de la capacité de déplacement des individus) ou en moyennant les valeurs des métriques pour un ensemble de taches accessibles (Figure 12).

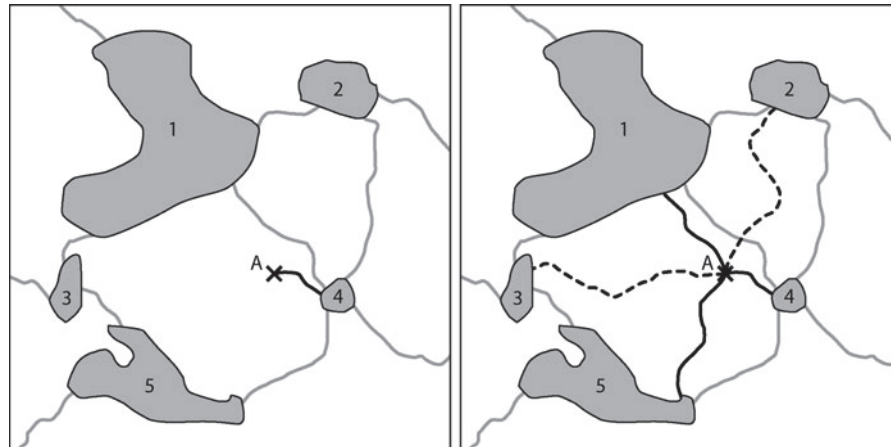


Figure 12 : Attribution des valeurs des métriques de graphe par rattachement simple ou multiple

(a) Les lignes grises représentent les chemins de moindre coût entre les taches d'habitat. Les lignes noires correspondent à la connexion simple du point A à la tache la plus proche. Dans ces cas les valeurs des métriques du graphe de la tache 4 sont attribuées au point A (b) Rattachement multiple du point A aux taches voisines accessibles par les chemins de moindre coût. Les taches 2 et 3 ne sont pas connectées car les chemins sont plus grands que la capacité maximale de déplacement de l'organisme considéré. Les valeurs des métriques assimilées au point A correspondent à la moyenne des métriques des taches 1, 4 et 5 (Foltête et al. 2012).

Ces métriques sont ensuite associées à d'autres facteurs environnementaux dans un modèle de distribution et permettent de déterminer leur influence sur la présence d'espèce. Cette démarche a été appliquée dans le cadre de cette thèse afin de déterminer si la connectivité fonctionnelle de l'habitat du petit rhinolophe influence la distribution spatiale des gîtes de maternité de cette espèce en Franche-Comté (Tournant *et al.* 2013 ; cf. page 52). Cette approche permet également la mise en œuvre diachronique de modèles de distribution d'espèces et peut être employée pour mesurer l'impact de la mise en place d'infrastructure de transport (Clauzel *et al.* 2013; Girardet *et al.* 2013). Le modèle de distribution des gîtes de maternité a été appliqué dans cette thèse afin d'estimer l'impact potentiel de la mise en place de Ligne à Grande Vitesse (LGV) Rhin-Rhône.

La mesure de la connectivité fonctionnelle peut être également appréhendée sur une large zone d'étude à partir de l'étude des flux de gènes. Le développement rapide des marqueurs

génétiques (Broquet et Petit 2009) et des outils informatiques ont ouvert de nouvelles opportunités pour identifier les patrons génétiques et les corrélés aux patrons paysagers (Balkenhol *et al.* 2009; Lowe et Allendorf 2010). Cette démarche a abouti à la création de la discipline de la génétique du paysage (Manel *et al.* 2003). De la même façon que la méthode des graphes paysagers, cette approche utilisée dans ce travail de thèse est développée dans la partie suivante.

3. Une discipline émergente : la génétique du paysage

La génétique du paysage est une discipline émergente, à l'interface entre l'écologie du paysage, la génétique des populations et les statistiques spatiales (Storfer *et al.* 2007). Son objectif est de décrire et d'analyser l'influence des structures paysagères et des facteurs environnementaux sur la structuration spatiale de la variabilité génétique des populations (Holderegger et Wagner 2008; Manel *et al.* 2003; Storfer *et al.* 2007). Elle s'intéresse plus précisément aux interactions entre les structures paysagères et les processus micro-évolutifs tels que les flux de gènes (Encadré 2), la dérive génétique ou la sélection.

3.1. Le matériel génétique comme élément clé

Un prérequis indispensable à toute étude en génétique du paysage réside dans la collecte de matériel génétique. Cependant les méthodes traditionnelles permettant d'obtenir du matériel génétique (*e.g.* prélèvements de tissus) sont invasives et nécessitent la capture et la manipulation des individus qui peuvent être contraignantes lorsque l'espèce étudiée est protégée et/ou difficile à capturer. Des techniques non-invasives ont été mises au point et permettent de récolter de l'ADN (Encadré 2) à partir de poils ou de fèces (Taberlet *et al.* 1996). Cependant du fait de la nature de ces échantillons, l'ADN extrait est souvent de faible qualité et est présent en faible quantité (Boston *et al.* 2012). Une des applications de ces méthodes est l'amplification de parties de l'ADN génomique (Encadré 2) qui permet d'identifier des allèles (Encadré 2) et des combinaisons d'allèles. Cependant il arrive que certains allèles présents ne soient pas amplifiés (*allelic dropout*, ADO) lors de la PCR (*Polymerase Chain reaction*). A l'inverse, de faux allèles (FA) peuvent être générés à cause d'un décalage de paires de bases également lors de la PCR. L'ADN issu de ces méthodes d'échantillonnage doit donc être amplifié et génotypé plusieurs fois afin de s'assurer de la fiabilité des données, ce qui entraîne une augmentation et du temps d'analyse et des coûts liés aux consommables de laboratoire.

L'utilisation de ce type d'échantillon nécessite également la mise au point de marqueurs moléculaires adaptés, facilement amplifiables et présentant de faibles taux d'erreur (Broquet *et al.* 2007; Puechmaille *et al.* 2005). Malgré ces difficultés, les études basées sur des échantillonnages non-invasifs montrent que l'ADN extrait de fèces permet de quantifier de façon comparable la diversité génétique observée à partir de l'analyse de tissus (Boston *et al.* 2012).

Encadré 2 : Définitions en génétique

Génome : ensemble du matériel génétique d'un individu ou d'une espèce codé dans son ADN.

ADN : acide désoxyribonucléique, molécule présente dans toutes les cellules de l'organisme qui renferme l'ensemble des informations nécessaires au développement et au fonctionnement de celui-ci.

Chromosome : support de l'information génétique. Ils contiennent les gènes et permettent leur distribution égale dans les deux cellules filles lors de la division cellulaire.

Locus : emplacement d'un gène sur un chromosome.

Gène : unité d'information génétique qui détermine les divers caractères héréditaires d'un organisme.

Allèle : formes alternatives du gène pouvant varier d'un individu à un autre.

Nucléotide / paire de base : molécule organique dont certaines forment la base de l'ADN (adénine, cytosine, guanine, thymine). Il existe des associations préférentielles entre ces nucléotides entre les deux brins d'ADN contenu dans les chromosomes (adénine-thymine, cytosine-guanine) qui forment des paires de bases.

Le développement de marqueurs moléculaires a permis des avancées non négligeables en génétique des populations (Frankham *et al.* 2002). Ils offrent l'avantage d'être applicables à tout individu de la population quels que soit l'âge et le sexe et restent inchangés au cours de la vie de l'individu. Les marqueurs moléculaires sont employés à diverses fins et permettent notamment de déterminer la diversité et la structure génétique des populations, d'estimer la taille de ces populations et d'identifier les individus. Or pour pouvoir distinguer des individus sur la base d'un nombre restreint de loci (huit dans notre cas), il faut que ces marqueurs soient suffisamment polymorphes pour que la probabilité d'identité entre deux individus à ces loci soit la plus faible. Les microsatellites sont des marqueurs qui présentent un polymorphisme suffisant pour ce type d'analyse (Selkoe et Toonen 2006). Ils peuvent être étudiés à différentes échelles biologiques (espèce, population, individu). Les microsatellites sont de courtes régions

de l'ADN présentant des répétitions en tandem de un à six nucléotides (Encadré 2), de tailles variables, distribués aléatoirement au sein du génome de nombreux d'animaux et de végétaux. La variabilité de ces marqueurs provient du nombre de répétitions de chaque motif. Le nombre de répétitions est en moyenne de 10 à 30, le polymorphisme observé entre chaque individu portant donc sur la taille du fragment amplifié. Les microsatellites représentent des fragments de 100 à 300 paires de bases facilement amplifiables par PCR à l'aide d'amorces marquées.

L'ADN est dans un premier temps extrait de l'échantillon sous forme soluble puis les microsatellites sélectionnés sont amplifiés par PCR à l'aide d'amorces spécifique de ces loci. Pour chaque microsatellite analysé, le nombre de répétitions est ensuite déterminé en réalisant une migration par une électrophorèse capillaire à l'aide d'un séquenceur. Cette méthode permet de déterminer facilement les génotypes de chaque individu et de les distinguer entre eux. Le profil génétique d'un individu est caractérisé par le nombre de répétitions présentes dans le génome pour chaque microsatellite utilisé. Les organismes diploïdes possèdent 23 paires de chromosomes homologues (dont l'un issu du père et l'autre de la mère ; Encadré 2), chacun contenant deux copies de chaque microsatellite (les allèles). Si les deux allèles sont identiques, l'individu est dit homozygote pour ce microsatellite. Si les deux copies sont différentes, l'individu est dit hétérozygote. C'est la combinaison de ces allèles pour chacun des microsatellites analysés qui permet de différencier les individus.

En calculant la fréquence d'apparition de chaque allèle, il est possible de quantifier la différenciation génétique entre plusieurs individus et par conséquent entre plusieurs populations à l'aide de différents tests (l'équilibre de Hardy-Weinberg, le déséquilibre de liaison, le déficit en hétérozygote). Chaque microsatellite peut être étudié séparément et indépendamment des autres et permet l'utilisation directe de méthodes statistiques pour estimer la différenciation génétique des populations (statistiques F développées ci-après).

Dans ce travail de thèse, de l'ADN de petit rhinolophe a été extrait à partir de guano récolté dans des gîtes de maternité en juin 2010 et 2011 en Franche-Comté. Le profil génétique de chaque individu échantillonné a été obtenu à l'aide de huit microsatellites développés par Puechmaille *et al.* (2005). La différenciation et la structure génétique de ces colonies ont été analysées. Plus de détails sont disponibles page 106.

3.2. De l'intégration de la connectivité fonctionnelle à la génétique du paysage

Le maintien des populations animales est dépendant de la connectivité fonctionnelle, définie par les échanges d'individus et les flux de gènes (Fischer et Lindenmayer 2007). En contrecarrant la dérive génétique et en diffusant les gènes potentiellement adaptatifs, les flux de gènes permettent le maintien de la diversité génétique locale. En biologie de la conservation, il est essentiel de déterminer le degré de connectivité entre les populations pour déterminer leur possible maintien au sein d'un paysage (Van Dyck et Baguette 2005). Le degré de connectivité peut être estimé par le biais de nombreuses approches différentes (Calabrese et Fagan 2004) mais nécessite d'être validé par des données empiriques. L'estimation des flux de gènes entre les populations offre la possibilité d'effectuer une telle validation (Cushman 2006; Cushman *et al.* 2009).

En écologie du paysage, le degré de connectivité fonctionnelle d'un paysage repose sur la structuration spatiale des taches d'habitat favorables à une espèce considérée au sein d'une matrice plus ou moins perméable (Baguette 2004). Ces mesures de perméabilité de la matrice résultent dans de nombreuses études de mesures directes effectuées sur le terrain (*e.g.* Bergerot *et al.* 2013). Cependant, pour de nombreuses espèces (notamment nocturnes, comme les chauves-souris), l'observation directe des mouvements de dispersion est difficile, voire impossible. Contrairement à l'écologie du paysage, les études en génétique du paysage apportent des éléments dans la compréhension de la dispersion de ces espèces sans mesures directes sur le terrain. Elles permettent d'identifier les éléments environnementaux qui facilitent ou au contraire empêchent la dispersion des individus et donc par conséquent les flux de gènes associés (Storfer *et al.* 2010). En effet, la localisation des discontinuités génétiques en relation avec les éléments du paysage procure des informations essentielles sur les contraintes spatiales qui influencent les individus qui dispersent.

La génétique du paysage met à la disposition de la biologie de la conservation de nombreuses méthodes qui permettent d'appréhender le fonctionnement des populations en tenant compte de leur intégration au sein d'un paysage fréquemment modifié par l'Homme (Storfer *et al.* 2010) et apporte des solutions pratiques pour la préservation du patrimoine génétique (Storfer *et al.* 2007). Parmi les nombreuses applications possibles, elle permet d'identifier les barrières potentielles aux flux de gènes (Frantz *et al.* 2012; Karamanlidis *et al.* 2012), de quantifier la diversité génétique (Dominguez-Dominguez *et al.* 2007; Segelbacher *et al.* 2008), d'estimer l'impact des modifications paysagères sur la connectivité (Wagner *et al.*

2006; Wang *et al.* 2008), d'évaluer la mise en place de corridors écologiques (Epps *et al.* 2007; Neel 2008), d'analyser la dispersion des individus en fonction de la structure paysagère (Janssens *et al.* 2008; Wilmer *et al.* 2008), d'estimer les dynamiques sources-puits (Lowe et Allendorf 2010; Martinez-Solano et Gonzalez 2008), de prédire la propagation des maladies (Foley *et al.* 2005; Guivier *et al.* 2011; Wood *et al.* 2007) et des espèces invasives (Lecis *et al.* 2008) et enfin de comparer les patrons génétiques observés entre paysages contemporains et historiques (Orsini *et al.* 2008; Spear et Storfer 2008).

Dans le cadre de cette thèse, la génétique du paysage a été utilisée pour caractériser les relations entre la connectivité fonctionnelle et la structure génétique spatiale du petit rhinolophe (*cf.* page 104).

3.3. Un large panel de méthodes mêlant génétique des populations et écologie du paysage

Selon Manel *et al.* (2003), la démarche adoptée en génétique du paysage se décompose principalement en trois étapes. La première, propre à la génétique des populations, consiste tout d'abord à détecter et quantifier spatialement les discontinuités génétiques entre les populations échantillonnées. La seconde étape relève de l'écologie du paysage et consiste à modéliser le réseau écologique de l'espèce considérée. Le but est, dans une troisième étape, d'estimer la relation entre les discontinuités génétiques et les caractéristiques paysagères.

Caractérisation de la structure génétique spatiale

La structure génétique d'une espèce peut être déterminée à l'aide de différentes mesures statistiques. Les indices génétiques les plus communément utilisés sont les F -statistiques ou indices de fixation (F_{ST} et variantes ; Wright 1951). Basés sur les coefficients de consanguinité, ils fournissent une estimation de la différenciation génétique entre populations. Plus particulièrement, le F_{ST} donne l'effet de la subdivision entre les populations et est défini comme la réduction d'hétérozygotie dans les sous-populations liée aux différences de fréquences alléliques. Si les sous-populations sont à l'équilibre et possèdent les mêmes fréquences alléliques grâce à d'importants flux de gènes, alors $F_{ST} = 0$. Si les fréquences alléliques moyennes sont différentes (par l'action de la dérive génétique), F_{ST} est positif. $F_{ST} = 1$ lorsque deux sous-populations ne partagent pas d'allèle en commun. Le F_{ST} est un indicateur de la cohésion de l'ensemble des sous-populations. La mise en évidence d'une structure

génétique entre populations dépend des marqueurs moléculaires utilisés, surtout lorsque celle-ci est faible (Freeland 2005). Une étude chez l'anguille européenne (*Anguilla anguilla*) à partir de microsatellites a révélé la présence d'une faible différenciation génétique significative entre groupes provenant de différents sites (Wirth et Bernatchez 2001) contredisant les résultats obtenus à partir d'allozymes et d'ADN mitochondrial où cette structure n'était pas observée (Avisé *et al.* 1986).

Le modèle en île de Wright (1951) et son indice de différenciation génétique F_{ST} sont à la base de plusieurs approches, telles que l'analyse moléculaire de variance (AMOVA) qui consiste à partitionner la variabilité génétique selon différents niveaux hiérarchiques (*e.g.* région, altitude etc. ; Excoffier *et al.* 1992) ou le patron d'isolement par la distance (IBD). Ce modèle peut être appliqué à deux niveaux, populationnel (Rousset 1997) et individuel (Rousset 2000). A l'échelle individuelle, il existe plusieurs indices génétiques pouvant être employés dans le cadre de l'IBD tel que l'indice de différenciation génétique a_r , développé par Rousset (2000), qui correspond à une généralisation de l'indice de différenciation $F_{ST} / (1 - F_{ST})$ entre paires d'individus. Ce modèle prédit une augmentation de la différenciation génétique entre individus ou populations lorsque la distance géographique qui les sépare augmente, ceci dû à des contraintes spatiales s'exerçant sur les flux de gènes (Rousset 1997; Wright 1943). Dans ce contexte, les fréquences alléliques varient de manière graduelle dans l'espace. Ce concept est approprié dans le cas de populations distribuées de façon continue, où il est difficile de définir des clusters sur la base de la distribution géographique des individus dans l'espace (Rousset 2000; Segelbacher *et al.* 2010). Son application est problématique lorsqu'il existe par exemple des ruptures dans la distribution spatiale de la variabilité génétique. De récents travaux ont montré que les modèles multivariés qui incluent des variables paysagères sont significativement meilleurs que le modèle d'IBD pour expliquer la variance des distances génétiques entre populations (Foll et Gaggiotti 2006; McRae 2006; Spear et Storfer 2008; Storfer *et al.* 2010). Dans leur étude basée sur l'analyse de microsatellite de populations de Triton alpestre (*Mesotriton alpestris*), Emaresi *et al.* (2011) montrent que les modèles intégrant les variables paysagères (densité de chaque occupation du sol dans un corridor entre chaque population) expliquent une plus grande proportion de la variation des F_{ST} enregistrés pour chaque paire d'individu qu'un IBD.

Une approche alternative à celle du F_{ST} est celle des tests d'assignation qui mesurent les flux de gènes entre les populations (Cornuet et Luikart 1996; Paetkau *et al.* 1995). Cette méthode est souvent utilisée dans les études de génétique du paysage pour caractériser la

dispersion des animaux (Coulon *et al.* 2006; Manel *et al.* 2005). Elle permet d'assigner des individus dont l'origine est inconnue à des populations connues (génétiquement caractérisées) sur la base de leur génotype multilocus. A partir de la fréquence allélique obtenue pour chaque population et en appliquant des méthodes statistiques de maximum de vraisemblance, il est possible de déterminer si chaque individu appartenant à une population donnée est un migrant issu d'une autre population (Holderegger et Wagner 2008). La proportion d'individus de la population 1 assignée à la population 2 peut être interprétée comme une estimation du flux de gène de la population 2 vers la 1 (Figure 13). A noter que cette estimation n'est pas forcément réciproque, le flux de gène de la population 1 vers 2 peut être différent. En utilisant cette approche Kraaijeveld-Smit *et al.* (2005) n'ont détecté aucun mouvement de dispersion récent entre les différentes mares chez une espèce de crapaud endémique de Majorque (*Alytes muletensis*), indiquant que le paysage entre les points d'eau constitue une barrière aux flux de gènes. L'analyse des flux de gènes à l'aide de méthodes d'assignation repose sur l'hypothèse que l'espèce soit structurée en populations discrètes. Cette méthode peut produire des résultats peu fiables si elle est appliquée sur des espèces ayant une structure de population graduelle (Cushman *et al.* 2006).

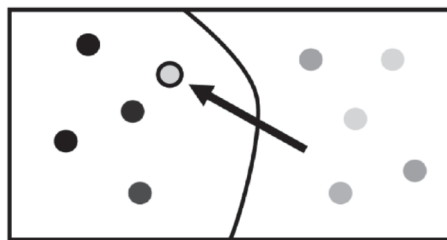


Figure 13 : Illustration des tests d'assignation utilisés en génétique du paysage pour déterminer si un élément paysager constitue une barrière aux flux de gènes

La ligne noire représente un élément linéaire du paysage potentiellement barrière, comme une route ou une rivière. Les cercles représentent des individus potentiellement migrants et les variations de gris symbolisent le degré d'apparentement génétique entre les individus. Les individus sont répartis de part et d'autre de l'élément potentiellement barrière. Les tests permettent d'identifier un individu de la population de gauche comme étant un migrant récent provenant de la population de droite (Holderegger et Wagner 2008).

Jusqu'alors, la méthode employée pour définir la structuration génétique des populations consistait à prédéfinir et échantillonner des populations *a priori* (sur la base de propriétés visibles partagées par les individus, comme par exemple leur origine géographique) puis à comparer leurs propriétés génétiques à partir des fréquences alléliques. D'autres approches développées récemment dans un cadre statistique bayésien, appelées méthodes de regroupement ou *clustering*, utilisent l'inférence individuelle et permettent d'approfondir

l'analyse des interactions entre la structure génétique des populations et la composante environnementale (Storfer *et al.* 2007).

Ces méthodes de *clustering* permettent de réaliser des inférences précises sur le nombre de populations et les éléments paysagers ou environnementaux qui les délimitent. Elles reposent sur le fait que l'existence d'une structure génétique au sein d'un échantillonnage induit nécessairement un écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg et un déséquilibre de liaison entre loci. En d'autres termes, ces modèles prennent en compte la présence de ces déséquilibres en introduisant une structure de populations qui minimise autant que possible ces déséquilibres (Pritchard *et al.* 2000). Suivant ces modèles, il est donc possible de définir K populations (ou clusters) dans la zone étudiée. Leur principal intérêt réside dans le fait de n'établir aucune hypothèse *a priori* sur la structuration de la population (Manel *et al.* 2003). Chaque population est définie comme étant une unité panmictique, et donc caractérisée par ses propres fréquences alléliques aux loci analysés. La valeur de K la plus vraisemblable est ensuite déterminée à partir de la probabilité d'avoir K clusters dans l'échantillon. Chaque individu est affecté avec une certaine probabilité aux différentes populations inférées sur la base de son génotype multilocus. L'ensemble des probabilités *a posteriori* est généré par une procédure de Chaînes de Markov Monte Carlo (MCMC). Cette approche utilisée par Cegelski *et al.* (2003) a permis de délimiter les populations du glouton (*Gulo gulo*) afin d'identifier l'échelle appropriée pour la mise en place de mesure de conservation de cette espèce.

Il est également possible de considérer l'origine mélangée (hybride) des individus, souvent attendue lorsque les populations sont génétiquement proches (Falush *et al.* 2003). Puisque cette hybridation résulte de processus intrinsèquement spatiaux (par exemple les migrations régionales), ces modèles de *clustering* ont récemment été améliorés par la prise en compte des coordonnées spatiales des individus (Chen *et al.* 2007; Guillot *et al.* 2005a) et permettent ainsi de délimiter spatialement les populations et de localiser les discontinuités génétiques dans l'espace. Ces modèles utilisent les coordonnées spatiales des individus échantillonnés, en partant de l'hypothèse que les individus ne sont pas spatialement indépendants entre eux, au sens où deux individus géographiquement proches ont une plus grande probabilité d'appartenir à la même population que deux individus géographiquement éloignés (Guillot *et al.* 2005b). Dans leur étude sur le chevreuil, Coulon *et al.* (2006) ont comparé l'assignement des individus échantillonnés à leur population respective selon deux méthodes de *clustering* implémentées dans les logiciels STRUCURE (Pritchard *et al.* 2000) et GENELAND (Guillot *et al.* 2005b). Ce dernier permet de tenir compte des coordonnées

spatiales des individus. Malgré la faible différenciation génétique, les résultats générés par STRUCTURE indiquent une seule population tandis que GENELAND assigne les individus à deux populations différentes dont la limite coïncide avec une infrastructure de transport supposée limiter les mouvements des organismes de part et d'autre.

Les approches de F_{ST} et de *clustering* définies ci-dessus ont été utilisées dans cette thèse afin de définir le degré de différenciation génétique entre les colonies échantillonnées et déterminer comment cette différenciation est spatialement structurée (Tournant *et al.* soumis ; *cf.* page 104).

Relations entre structuration génétique et caractéristiques environnementales

Les premières études en génétique du paysage se sont appliquées à identifier les principales ruptures dans la structuration génétique des populations observées et à les associer visuellement avec des éléments paysagers pouvant faire office de barrières aux déplacements des individus (Dupanloup *et al.* 2002; Monmonier 1973).

Les éléments linéaires tels que les chaînes de montagnes, les rivières ou les routes sont les plus fréquemment testés. En effet, les infrastructures de transport comme les autoroutes ou les lignes à grande vitesse sont souvent mises en cause dans la fragmentation paysagère. Plusieurs études ont tenté de mettre en évidence leur influence négative sur le déplacement des animaux par l'intermédiaire de méthodes génétiques (Balkenhol et Waits 2009; Epps *et al.* 2005; Frantz *et al.* 2012). De nombreux individus sont échantillonnés de part et d'autre de l'infrastructure et des indices génétiques sont calculés entre paires d'individus (F_{ST} ou coefficient d'apparentement par exemple). L'hypothèse est que les individus localisés d'un côté de la structure seront génétiquement plus proches entre eux qu'avec les individus situés de l'autre côté. Frantz *et al.* (2012) ont analysé l'impact d'une autoroute en Belgique sur deux espèces de mammifères, le sanglier (*Sus scrofa*) et le cerf élaphe (*Cervus elaphus*) et ont montré que cette infrastructure limitait les mouvements du cerf mais pas du sanglier. Les barrières aux flux de gènes d'une espèce ne sont pas seulement définies par les éléments paysagers linéaires. Un habitat non favorable peut être considéré comme un élément pouvant empêcher la dispersion (Emaresi *et al.* 2011; Storfer *et al.* 2010). Les facteurs anthropogéniques tels que l'urbanisation (Hitchings et Beebe 1997), le développement de l'agriculture (Johansson *et al.* 2005) et la construction de barrages (Hall *et al.* 2011) affectent également les mouvements des individus et diminuent les flux de gènes.

Lorsque les populations sont géographiquement délimitées, plusieurs hypothèses concernant les barrières potentielles au flux de gènes sont formulées. De nombreuses études en génétique du paysage utilisent une approche individu-centrée de la structure génétique qui met en relation la connectivité fonctionnelle du paysage avec des distances génétiques interindividuelles ou interpopulationnelles (Figure 14).

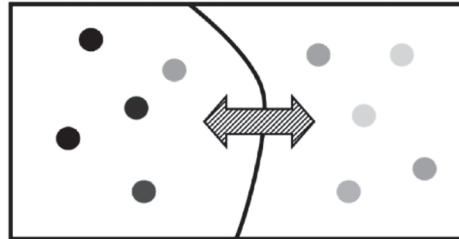


Figure 14 : Illustration de l'approche basée sur les distances génétiques corrélées à la structure du paysage (via les distances écologiques)

Dans le cas présent, la plus grande distance génétique est illustrée par la double flèche (Holderegger et Wagner 2008).

Classiquement, de nombreuses variables paysagères sont quantifiées à l'aide d'un SIG (par exemple : la surface de forêt, le nombre de haies, la densité de routes, la topographie, l'altitude etc.). Une autre approche consiste à déterminer les voies de migration les plus probables à l'aide des chemins de moindre coût qui quantifient la perméabilité de chaque élément paysager en fonction des capacités de déplacement de l'espèce étudiée (Adriaensen *et al.* 2003). Dans leur étude, Spear *et al.* (2005) montrent que l'intégration des variables paysagères tenant compte de la connectivité dans le modèle de distribution permet de mieux expliquer la structure génétique des populations de salamandres observée entre les différentes mares qu'un isolement par la distance.

Les tests de Mantel (Mantel 1967) et tests de Mantel partiels (Smouse *et al.* 1986) sont majoritairement utilisés en génétique du paysage pour mesurer et tester statistiquement la corrélation entre des matrices de distance. Les matrices d'intérêt sont d'une part celles contenant les distances génétiques entre paires d'individus (ou de populations) et d'autre part une matrice mesurant la distance géographique (ou écologique) entre ces mêmes paires (Holderegger et Wagner 2008). Les travaux utilisant ces tests étudient différentes hypothèses de perméabilité du paysage aux mouvements des organismes, en estimant des chemins de moindre coûts basés sur différents jeux de valeurs de coût et en évaluant ensuite quelle configuration explique le mieux la matrice de distance génétique.

Une autre approche largement appliquée en génétique du paysage pour analyser de manière empirique les patrons génétiques et identifier les facteurs paysagers responsables est l'utilisation de modèle de simulation (Cushman *et al.* 2006; Epperson *et al.* 2010). Ces modèles permettent d'analyser la réponse génétique des populations en termes de dérive, sélection, diversité et taille efficace en fonction de multiples variables paysagères. A l'aide de ces modèles il est possible de simuler l'évolution de populations et d'estimer les flux de gènes dans un paysage complexe (Segelbacher *et al.* 2010).

Dans le cadre de cette thèse, nous avons analysé la relation entre la structure génétique des colonies de maternité du petit rhinolophe et différentes variables paysagères intégrant la connectivité de l'habitat de l'espèce à l'aide de matrices de distances afin de déterminer si la structure paysagère explique la différenciation génétique observée.

4. L'intérêt des chauves-souris comme modèle d'étude

4.1. Un atout écologique et économique ...

Après les rongeurs, l'ordre des chiroptères est le plus diversifié chez les mammifères avec plus de 1200 espèces de chauves-souris identifiées à travers le monde (Gunnell et Simmons 2012; Simmons 2005). 34 espèces de chauves-souris sont recensées en France métropolitaine (Arthur et Lemaire 2009). Selon l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) et le Muséum national d'histoire naturelle (MNHN), un tiers de ces espèces étaient menacées ou quasi menacées en 2009 (Figure 15).

Les chauves-souris se distinguent des autres espèces de mammifères notamment par leur capacité à voler. Cette particularité a favorisé leur adaptation à différentes niches écologiques et a contribué au développement d'une multitude de comportements alimentaires et sociaux et de stratégies reproductives (Jones *et al.* 2009). Les chauves-souris ont colonisé de nombreux habitats et sont présentes sur la plupart des continents, excepté en Antarctique. Cette importante diversité fonctionnelle leur confère un rôle écologique prépondérant au sein des écosystèmes qu'elles occupent.

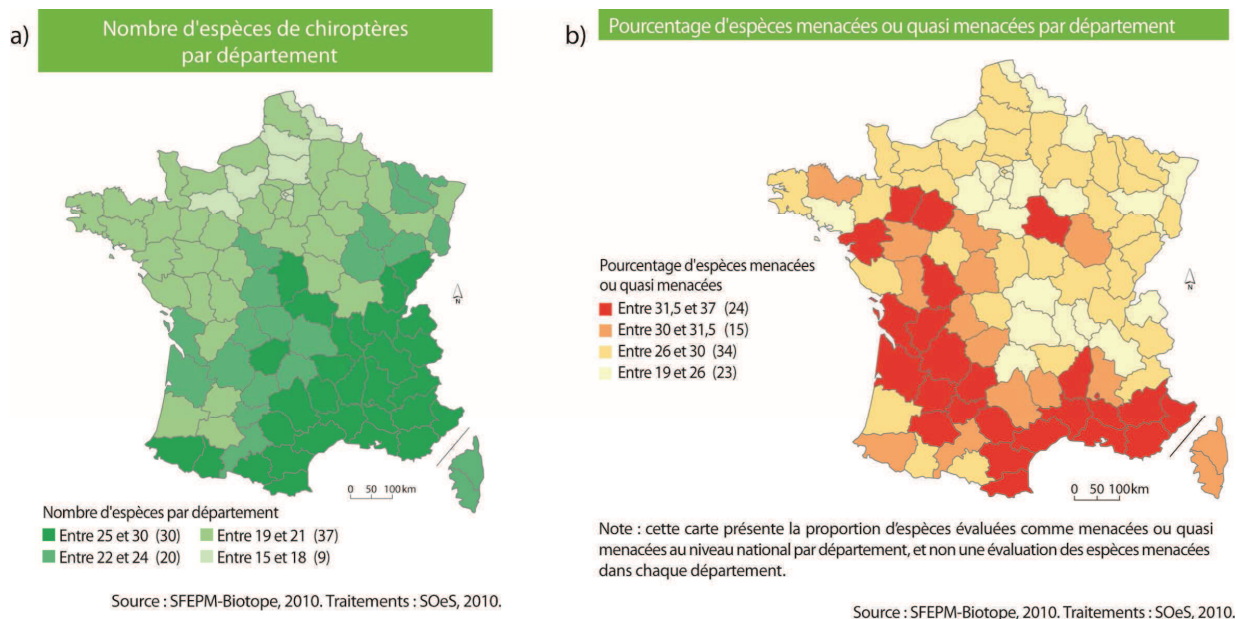


Figure 15 : Cartes de recensement des espèces de chauves-souris métropolitaines

(a) Nombre d'espèces de chauves-souris et (b) pourcentage d'espèces menacées par département en France (source : SFPEM-Biotope, 2010 ; traitements : Service de l'observation et des statistiques, 2010).

Les espèces de chauves-souris insectivores agissent fortement sur la régulation des populations d'arthropodes, majoritairement des lépidoptères, coléoptères, homoptères, hémiptères et diptères (Agosta 2002). Les espèces frugivores participent au maintien de la diversité végétale des habitats en jouant le rôle de vecteur de dispersion des graines au sein des écosystèmes (Hodgkison *et al.* 2003). Les espèces nectarivores quant à elles, favorisent la pollinisation des plantes. C'est le cas par exemple des plantes de la famille des agaves et des cactus, présentes dans les milieux arides, dont la pollinisation dépend fortement des chauves-souris de la famille des phyllostomidés (de nombreux autres exemples sont développés dans Kunz *et al.* 2011, table 4). Par conséquent, les chauves-souris frugivores assurent une partie du maintien de la diversité génétique pour de nombreuses plantes à fleurs. Les chauves-souris prennent également part au maintien de l'équilibre des écosystèmes en redistribuant les nutriments et l'énergie ingérés par l'intermédiaire de leur guano (Kunz *et al.* 2011).

L'ensemble des fonctions écologiques remplies par les chauves-souris au sein des écosystèmes ont récemment été identifiées en tant que services écosystémiques (Kunz *et al.* 2011). En effet, ces fonctions écologiques ont un impact économique prépondérant, principalement dans le domaine de l'agriculture. De nombreuses espèces d'arthropodes considérées comme nuisibles pour l'agriculture ou vectrices de maladies transmissibles aux hommes et aux autres animaux sont consommées par les chauves-souris. Boyles *et al.* (2011)

ont notamment estimé à 22.9 milliards de dollars par an la valeur économique des chauves-souris dans l'industrie cotonnière aux Etats-Unis, ce qui représente 16% du marché. Bien que leur fonction pollinisatrice ne soit pas comparable à celle des insectes pollinisateurs ou des oiseaux, elle concerne tout de même de nombreuses plantes à forte valeur économique. C'est le cas par exemple de l'espèce *Agave tequilana*, pollinisée par trois espèces de chauves-souris du genre *Leptonycteris*, utilisée principalement au Mexique et en Amérique du sud comme ingrédient de la tequila (Kunz *et al.* 2011). De même, de nombreuses espèces végétales cultivées pour leur caractère médicinal (exemple : le badamier, arbre d'origine tropicale dont les feuilles sont utilisées contre les indigestions), alimentaire (mangue, banane) ou ornemental (*Anthurium sp.*, *Philodendron sp.*) sont dépendantes de la dissémination de leurs graines par l'intermédiaire des chauves-souris.

4.2. ... mais très sensible !

Les études menées sur différentes espèces de chauves-souris ont permis de révéler que l'ensemble des populations présentes dans le monde ont enregistré un fort déclin en réponse à une série de stress environnementaux principalement générés par l'Homme (Mickleburgh *et al.* 2002). Plusieurs espèces endémiques sont même considérées comme éteintes, tels que *Pteropus brunneus* d'Australie, *Pteropus tokudae* de l'île de Guam ou encore *Mystacina robusta* de la Nouvelle-Zélande (Kunz et Pierson 1994). Stebbings (1988) rapporte que le nombre de pipistrelles communes (*Pipistrellus pipistrellus*), espèce autrefois très commune en Angleterre, a diminué de 62% entre 1978 et 1987.

Les populations de chauves-souris doivent faire face à de nombreuses perturbations d'origine anthropiques. Les chauves-souris sont affectées par les changements climatiques induits par l'Homme qui perturbent leur cycle de vie (Jones *et al.* 2009). Du fait de l'augmentation globale des températures, la phase d'hibernation est réduite, les individus émergent donc plus tôt dans l'année, ce qui peut entraîner une importante mortalité si les ressources alimentaires ne sont pas suffisamment abondantes à cette période. Ces changements climatiques sont également à l'origine d'une modification de la répartition spatiale des espèces. C'est le cas par exemple pour l'espèce *P. kuhlii*, associée aux régions méditerranéennes, dont la répartition spatiale a évolué au cours de ces 15 dernières années. L'espèce est maintenant présente dans plusieurs pays d'Europe centrale et de l'Est (Sachanowicz *et al.* 2006).

Par ailleurs, les chauves-souris sont très sensibles à la modification et à la destruction de leur habitat naturel. Le développement de l'urbanisation a des conséquences négatives sur leur survie. Leur taux de mortalité augmente en milieu urbain du fait des collisions avec les véhicules (Berthinussen et Altringham 2012; Lesinski *et al.* 2011) et l'émergence des individus à la nuit tombée est perturbée par la pollution lumineuse engendrée par les éclairages publics (Boldogh *et al.* 2007; Stone *et al.* 2009). L'augmentation des surfaces agricoles et le remembrement des parcelles ont provoqué la disparition de nombreuses haies qui servent à la fois de zones de chasse mais également d'éléments de migration aux chauves-souris. La déforestation en milieu tropical engendre la fragmentation de la forêt en petites taches. Cette fragmentation a des conséquences à la fois sur leur activité de chasse (Boughey *et al.* 2011b; Frey-Ehrenbold *et al.* 2013) mais également sur la diversité des assemblages de chauves-souris (Gorresen et Willig 2004; Meyer *et al.* 2008; Meyer et Kalko 2008). En limitant la connectivité entre les taches d'habitat, ces modifications environnementales isolent les populations de chauves-souris et provoquent à terme une diminution de la diversité génétique (Asher 2009; Meyer *et al.* 2009; Struebig *et al.* 2011).

Les activités anthropiques sont également source de pollution chimique directe pour les chauves-souris, notamment à cause des polluants issus de sites industriels comme les métaux lourds. En effet, de fortes concentrations en cadmium, plomb et mercure ont été relevées dans les organes de plusieurs espèces de chauves-souris (O'Shea et Johnson 2009; Walker *et al.* 2007). Or les effets délétères de ces substances sur les individus sont peu connus pour le moment (Carravieri et Scheifler 2012). Les polluants agricoles (pesticides, fongicides) provoquent eux la détérioration de la qualité de l'eau et des habitats, influençant notamment la disponibilité des ressources alimentaires (Jones *et al.* 2009; Kunz *et al.* 2011). L'exposition des chauves-souris à la combinaison de ces multiples stress environnementaux a pour effet de diminuer le système immunitaire des individus et les rend plus vulnérable à de nouvelles maladies infectieuses, potentiellement mortelles (Jones *et al.* 2009). Il existe actuellement dans le nord-est des Etats-Unis une épidémie appelée syndrome du nez blanc qui affecte de nombreuses populations de chauves-souris (Blehert *et al.* 2009). Elle provient d'un champignon (*Geomyces destructans* ; Warnecke *et al.* 2012) et provoque une infection de la peau pendant la phase d'hibernation des individus. Cette infection se caractérise par une coloration blanche du nez des individus et cause à terme des modifications du comportement (comme des réveils fréquents) et physiologiques (comme une diminution des réserves énergétiques). Plus d'un million de chauves-souris seraient mortes de cette maladie et dans les zones les plus touchées,

certaines colonies d'hibernation (Encadré 3) auraient perdu plus de 70% de leurs effectifs (Boyles *et al.* 2011).

Ainsi, de par leur diversité écologique et leur forte sensibilité aux modifications de leur environnement, les chauves-souris constituent un excellent bioindicateur de la santé des écosystèmes au sein desquels elles résident.

4.3. Un cas d'étude : le petit rhinolophe

Parmi les chauves-souris d'Europe, le petit rhinolophe (Figure 16) est l'une des espèces ayant le plus régressé (Arthur et Lemaire 2009). Durant la seconde moitié du XX^{ème} siècle, l'effondrement des populations est enregistré dans différents pays tels que l'Angleterre et le Pays de Galles (Schofield 1996), la France (Farcy *et al.* 2009), la Suisse (Arlettaz *et al.* 2000), la Pologne (Kokurewicz 1990), l'Allemagne (Weiner et Zahn 2001; Zahn *et al.* 2008), et la Belgique (Motte et Libois 2002). Son aire de répartition a diminué, elle s'étend dorénavant de l'Irlande au sud de la péninsule arabique et en Asie centrale (Figure 17).



Figure 16 : Photographie d'un petit rhinolophe (*Rhinolophus hipposideros*)

(source : <http://www.speotimis.ro/dictionar-speologic/rhinolophus-hipposideros-liliacul-mic-cu-potcoava.html>).

Ce déclin a été attribué à une combinaison de divers facteurs à la fois biotiques et abiotiques, le plus souvent d'origine anthropique, telles que l'utilisation intensive de pesticides (dont le dichlorodiphényltrichloroéthane, DDT), ainsi que la diminution et la détérioration des gîtes et des habitats favorables à l'espèce (Bontadina *et al.* 2001).



Figure 17 : Carte de répartition du petit rhinolophe

(Jacobs et al. 2008).

Comme chez de nombreuses espèces de chauves-souris insectivores, le petit rhinolophe hiberne en groupe mixtes pendant l'hiver, principalement dans des caves (Figure 18 ; Crucitti et Cavalletti 2002; Williams 2001). Les femelles rejoignent chaque année, à la fin du printemps, le gîte de maternité (Encadré 3) dans lequel elles sont nées pour y donner naissance à leur tour à leur unique petit (Schofield 1996). Ces colonies de maternité (Encadré 3) sont généralement localisées dans de vieilles constructions, tels que les clochers d'église, les granges ou les greniers (McAney et Fairley 1988; Weiner et Zahn 2001). Cependant, la rénovation de ces édifices ainsi que la construction de nouveaux bâtiments dont l'accès est difficile aux chauves-souris contribuent à la diminution et à la détérioration de zones favorables à l'installation de colonies de maternité. Les mâles quant à eux vivent isolés des femelles durant l'été, dispersés en petits groupes de quelques individus dans des anciens bâtis (Gaisler 1963). La reproduction intervient à la fin de l'automne. A cette période, les mâles et les femelles se retrouvent pour se reproduire dans des zones encore inconnues avant de rejoindre leur gîte d'hiver.

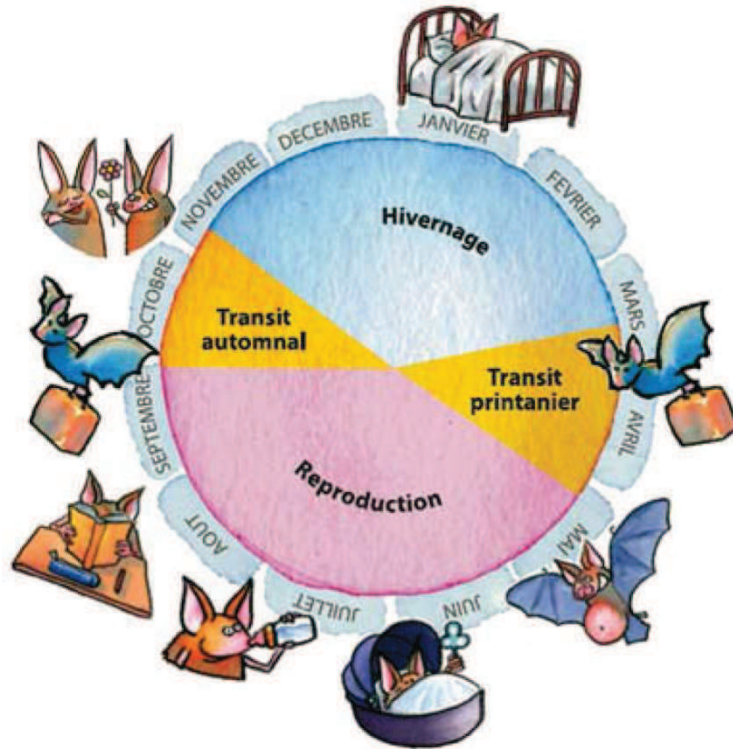


Figure 18 : Cycle biologique des chauves-souris

(source : « Les gîtes cavernicoles à chauves-souris », Issartel G, Vincent S., édité par le CREN Rhône-Alpes).

Le petit rhinolophe est une espèce non-migratrice (Schofield 1996). Les gîtes de maternité et d'hivernage sont éloignés de seulement quelques dizaines de kilomètres en moyenne (Crucitti et Cavalletti 2002; Williams 2001). Certaines femelles hibernent et donnent naissance à leur unique petit au même endroit et restent donc dans le même gîte tout le long de l'année lorsque les conditions de température et d'hygrométrie le permettent. Les individus se déplacent généralement dans un rayon de 5 km autour du gîte pour aller chasser (Bontadina *et al.* 2002; Farcy *et al.* 2009; Holzhaider *et al.* 2002; Motte et Libois 2002; Schofield *et al.* 2002; Zahn *et al.* 2008). Le petit rhinolophe utilise différents types d'habitats boisés (vergers, lisières de forêt, haies) principalement comme zones de chasse mais également comme corridors pour se déplacer depuis son gîte ou comme zones de refuges pour se protéger de la prédation par les rapaces nocturnes (Ramovš *et al.* 2010; Schofield 1996). La modification du paysage par les activités anthropiques est considérée comme l'un des principaux facteurs du déclin du petit rhinolophe (Bontadina *et al.* 2001). Cela a engendré une homogénéisation des habitats et une perte de la connectivité entre ces habitats.

Dans certaines régions où le degré de fragmentation est important, la dispersion des individus est par conséquent entravée. Ce phénomène se traduit par une lente recolonisation des habitats disponibles par l'espèce (Dietz *et al.* 2009). En effet depuis le début des années 1990,

la quasi-totalité des pays européens ont enregistré une amélioration de certaines populations de petits rhinolophes. L'espèce est actuellement considérée sur la liste rouge de l'UICN comme « préoccupation mineure » (IUCN 2012). Warren & Witter (2002) mentionnent que le nombre d'individus au Pays de Galles s'est maintenu depuis 1990. En France, Farcy *et al.* (2009) rapportent que le nombre de gîte de maternité a augmenté en Bretagne depuis 1998. En Franche-Comté, plus d'une centaine de gîtes de maternité ont été répertoriés par la Commission de Protection des Eaux (CPEPESC) et comptent une population estimée à 3000 individus (Roué 2011).

Si les efforts menés par les différentes associations de protection sur le terrain sensibilisent certainement l'Homme à la sauvegarde de cette espèce, il est important de comprendre les relations qui unissent les facteurs environnementaux et la distribution du petit rhinolophe pour en comprendre l'origine. S'il existe un impact de la fragmentation des habitats sur cette espèce de chauve-souris, il devrait pouvoir être caractérisé au travers de sa distribution ainsi que de la structure génétique de ces populations.

Encadré 3 : Colonie et gîte

En chiroptérologie, un vocabulaire spécifique est utilisé lorsque l'on s'intéresse particulièrement à l'organisation spatiale des individus.

Le terme « colonie » se réfère à un rassemblement d'individus de sexe et d'âge différent. Le terme « gîte » se réfère lui à la localisation spatiale d'un regroupement d'individus, donc d'une colonie. On distingue le gîte d'hivernage dans lequel les individus se retrouvent pendant l'hiver pour hiberner, et le gîte de maternité où les femelles se rassemblent pour donner naissance à leur petit.

Objectifs de la thèse

Le travail de thèse présenté ici s'inscrit en écologie du paysage et consiste à caractériser le fonctionnement spatial des colonies de maternité de petits rhinolopes présentes en Franche-Comté. Cette étude a plus précisément pour objectif d'une part de déterminer et d'analyser les relations entre la structure du paysage et la distribution spatiale des colonies de petit rhinolope, et d'autre part d'explorer l'influence des structures paysagères sur la structuration génétique spatiale des colonies. Pour cela, des outils de modélisation spatiale, ainsi que des méthodes de génétique du paysage sont utilisés afin de déterminer les relations spatiales entre colonies.

Cette thèse s'articule en deux parties :

- La première porte sur l'étude de l'influence de la connectivité paysagère sur la présence de gîtes de maternité du petit rhinolope. La diminution et la fragmentation des habitats préférentiels du petit rhinolope étant l'une des hypothèses avancées pour expliquer le déclin de cette espèce en Europe, nous supposons que le degré de connectivité de ces habitats est susceptible d'influencer la distribution spatiale de cette espèce et notamment la présence de gîtes de maternité, lieux où les femelles donnent naissance à leur petit. La méthode des graphes paysagers présentée précédemment a été employée dans ce contexte comme outil permettant de modéliser et de caractériser la connectivité des habitats de cette espèce sur l'ensemble de la région. Cette étude a fait l'objet d'un article publié dans *Biological Conservation* (cf. page 52). D'autre part, l'application de la méthode des graphes paysagers a également permis d'estimer plus spécifiquement l'impact potentiel de la mise en place de la LGV Rhin-Rhône dans le nord de la Franche-Comté sur la probabilité de présence de gîte de maternité du petit rhinolope dans la région.
- La seconde partie de la thèse porte sur l'étude des interactions entre les structures paysagères et la structure génétique des colonies de maternité de petit rhinolope afin d'analyser à plus fine échelle le rôle du paysage sur les flux de gènes entre les colonies. Pour cela il est nécessaire dans un premier temps de caractériser la structure génétique des colonies. Nous émettons l'hypothèse que les colonies de maternité sont génétiquement structurées à l'échelle de la région car le petit rhinolope est une espèce de chauve-souris sédentaire ayant un comportement de déplacement restreint. Cette analyse génétique a été

réalisée à l'aide de l'utilisation de microsattellites à partir de l'échantillonnage de guano dans 11 gîtes en 2010. La caractérisation de la structure génétique de ces colonies fait actuellement l'objet d'une publication en cours de révision dans *Journal of heredity* (cf. page 104). Dans un second temps, à partir de l'échantillonnage de guano dans 26 gîtes en 2011, nous avons analysé la relation entre la distance génétique observée entre colonies avec différentes distances paysagères intégrant la connectivité.

Première partie

Influence de la connectivité
paysagère sur la distribution spatiale
du petit rhinolophe

1. Présentation de l'étude

1.1. Objectifs

Dans cette étude, nous avons cherché à mettre en évidence et à quantifier l'influence de la connectivité des habitats sur la distribution spatiale des gîtes de maternité du petit rhinolophe. La méthode des graphes paysagers est employée dans un premier temps afin de caractériser la connectivité des habitats par le biais de métriques. Ces métriques permettant de quantifier la connectivité à travers différentes échelles spatiales sont intégrées dans un modèle de distribution avec d'autres variables caractérisant la composition de l'environnement local des gîtes de maternité (surfaces d'occupation du sol) calculées dans trois rayons différents en fonction des distances parcourues quotidiennement par les individus.

Le modèle de distribution de gîte de l'espèce issu de cette première analyse est ensuite utilisé en seconde partie dans une application diachronique afin de prédire l'impact de la mise en place de la LGV Rhin-Rhône sur la probabilité de présence de ces gîtes dans la région Franche-Comté. Cette étude prospective a été réalisée dans le cadre du projet de recherche GRAPHAB (*cf.* avant-propos).

1.2. Préparation des données

1.2.1. Données biologiques et zone d'étude

Les données relatives à la présence du petit rhinolophe utilisées dans cette étude sont la localisation des gîtes de maternité de l'espèce. Ces données ont été acquises avec la collaboration de Sébastien Roué, ancien chargé de mission chiroptères de l'association naturaliste CPEPESC⁵ Franche-Comté, dans le cadre du projet GRAPHAB. Ces données ont été établies à partir de la surveillance des gîtes de maternité de l'espèce réalisée par l'association depuis une quinzaine d'années et correspondent à la présence de colonies de maternité (essentiellement constituées de femelles et de leurs petits). Les gîtes de maternité sont généralement localisés dans de vieilles bâtisses telles que les églises, les granges et greniers situés dans de petits villages ou dans des propriétés isolées, à proximité de cours d'eau et d'éléments boisés tels que les forêts mixtes de feuillus et de conifères (Figure 19).

⁵ Commission de Protection des Eaux, du Patrimoine, de l'Environnement, du Sous-sol et des Chiroptères

Le suivi de ces colonies n'ayant pas été effectué chaque année, la présence enregistrée à un moment donné n'a donc pas forcément été confirmée par la suite. Les données utilisées dans cette thèse représentent par conséquent la présence potentielle de gîte de maternité. Cette base de données contient la localisation de 102 gîtes de maternité observés au moins une fois, répartis sur les départements du Doubs, de la Haute-Saône et du Jura (Figure 23). Une estimation de la taille de ces colonies nous a également été transmise. Celle-ci représente des effectifs de 5 à 200 individus dénombrés visuellement. En revanche, il n'a pas été possible d'intégrer les gîtes d'hivernage de l'espèce de la région dans les analyses car leur localisation n'est pas connue.



Figure 19 : Photographies de l'environnement de gîte de maternité du petit rhinolophe en Franche-Comté

(a) Colonie située dans le toit de l'église de Les Planches-Près-Arbois (39). (b) Colonie présente dans le grenier de l'ancienne école de Graye-et-Charnay (39). (c,d) Environnement immédiat de la colonie située dans l'église de Blois-sur-Seille (39). Crédit photo : P. Tournant.

Ces données de présence ont été assemblées avec un jeu de points de pseudo-absences pour l'analyse du modèle de distribution des gîtes de maternité. La procédure d'acquisition de ces points est décrite dans l'analyse suivante (*cf.* page 56).

Ainsi, afin de déterminer précisément la structure paysagère, une cartographie de l'occupation du sol a été établie à partir de plusieurs sources de données (BD ortho, BD topo IGN et images satellites). Cette combinaison a abouti à une carte au format raster à 10 m de résolution spatiale, précision nécessaire pour intégrer les éléments fins du paysage comme les haies, servant aux déplacements des chauves-souris (Figure 20). Initialement cette cartographie était constituée de 24 classes d'occupation du sol représentant la distinction entre les éléments boisés (haies, forêts de feuillus, forêts de conifères, arbustes) proches de cours d'eau (classés comme « humides » en opposition aux éléments boisés « secs ») et entre les lisières et le cœur des forêts de feuillus et de conifères. La surface de chacun de ces éléments présents dans un voisinage autour du gîte a été intégrée dans un modèle de distribution des gîtes de maternité. L'analyse a révélé que de nombreuses classes d'occupation du sol n'avait pas d'effet sur la présence de gîte, il a alors été décidé d'agréger certaines catégories (c'est le cas par exemple des forêts de feuillus sèches et humides et les lisières). La cartographie finale utilisée dans les analyses suivantes est constituée de 12 classes d'occupation du sol, représentant les principaux éléments paysagers étant considérés comme favorables et défavorables pour le déplacement des individus (Figure 20). Certaines zones de la région situées dans le sud et à l'est n'ont pas pu être cartographiées car les images satellites utilisées ne recouvrent pas entièrement la région. La zone nord et les zones où l'altitude est supérieure à 1000 m (zone au-delà de laquelle le petit rhinolophe n'est pas présent ; Bontadina *et al.* 2008; Holzhaider *et al.* 2002) ne comportant pas de colonies de maternité ont été retirées de la zone d'étude (Figure 23).

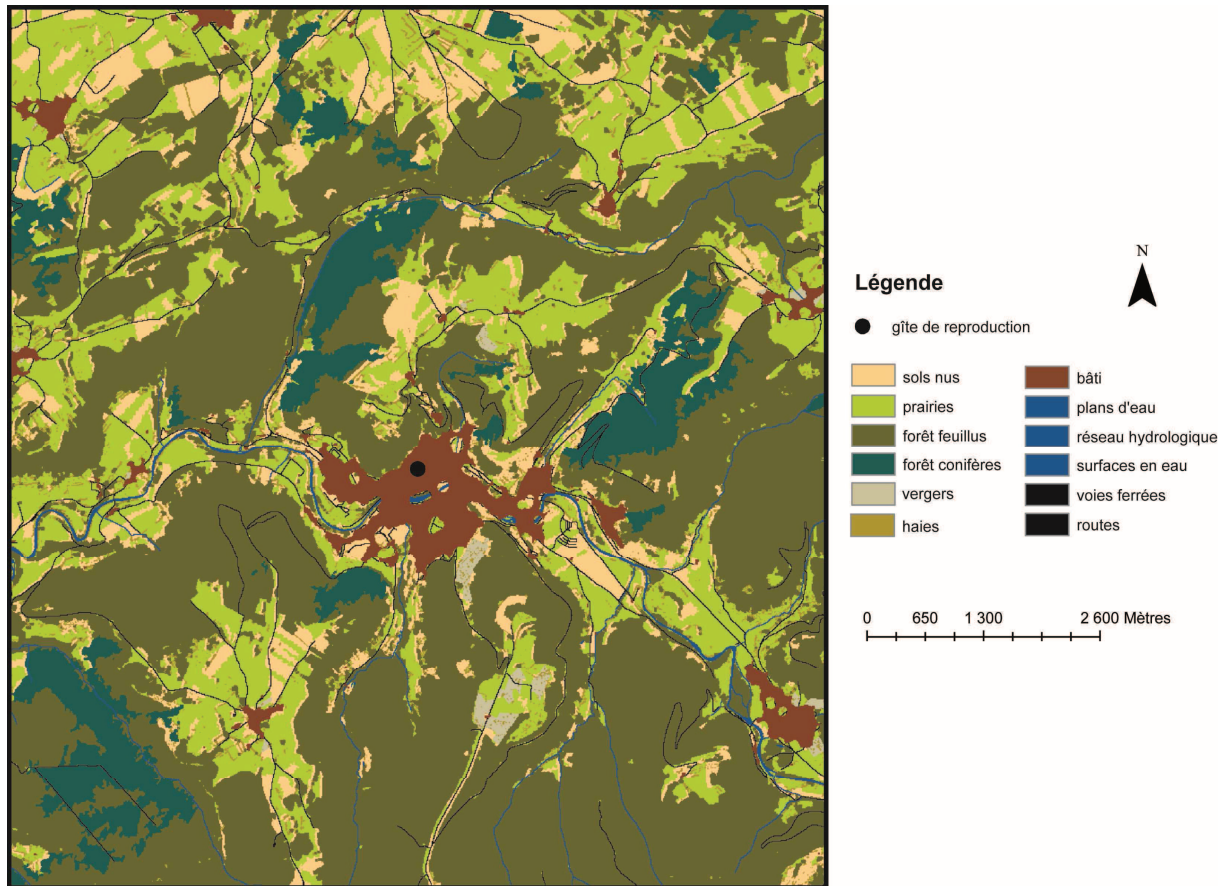


Figure 20 : Extrait de la cartographie de la zone d'étude représentant les douze classes d'occupation du sol définies autour d'un gîte de maternité

1.2.2. Construction du graphe paysager

Définition des nœuds du graphe

La méthode des graphes paysagers a été utilisée dans les analyses suivantes pour obtenir des métriques permettant de caractériser la connectivité paysagère suivant la démarche de Foltête *et al.* (2012). Les études basées sur l'utilisation des graphes paysagers définissent généralement les nœuds du graphe comme une entité spatiale qui représente l'habitat de l'espèce considérée. Cependant, cette définition est particulière dans ce cas d'étude car les nœuds représentent la présence potentielle de gîte de maternité et non l'habitat *sensus stricto* de l'espèce.

Avant de définir les nœuds comme un gîte de maternité potentiel, nous avons testé différentes façons de les définir. Dans un premier temps les nœuds du graphe ont été définis comme l'habitat de chasse du petit rhinolophe représenté par les taches de forêt de feuillus. Or la majorité de la région étant recouverte de forêts de feuillus, les nœuds de ce graphe

représentaient de très grandes surfaces, ce qui n'était pas pertinent pour représenter la présence de l'espèce dans la région. Dans un second temps, nous avons affiné cette définition en définissant les centroïdes des surfaces de bâti comme nœuds du graphe pour représenter la présence potentielle de gîte de maternité. En effet, les gîtes sont généralement localisés dans des anciennes constructions situées au centre des villages (Figure 21a) plutôt que dans les zones périphériques où les nouveaux bâtiments construits sont généralement moins favorables à l'installation d'une colonie. Cette définition des nœuds permet également de standardiser le calcul de la métrique R (surface de forêt de feuillus dans un rayon de 600 m autour du nœud) sans prendre en compte la surface de bâti (Figure 21b). Ainsi les nœuds du graphe ne représentent pas une entité surfacique mais un point.

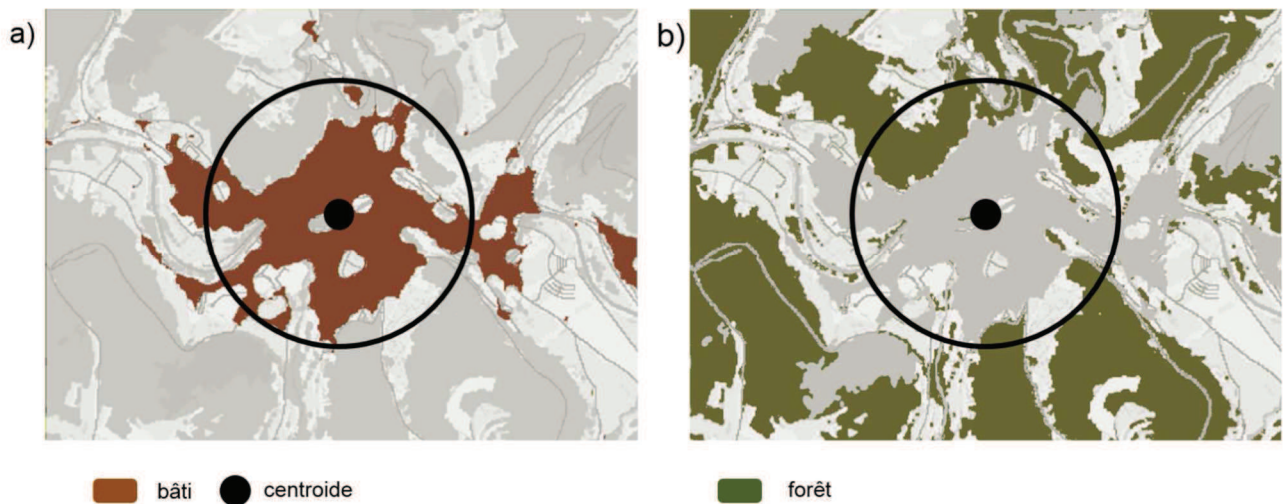


Figure 21 : Représentation schématique de la définition des nœuds du graphe paysager et du calcul de la métrique R

(a) Les nœuds du graphe sont définis par les centroïdes des taches de bâti. (b) La métrique R correspond à la surface en forêt de feuillus calculée dans un rayon de 600m autour du nœud.

Définition des variables paysagères

Paradoxalement, dans les métriques de connectivité, le bâti a été défini comme un élément défavorable aux déplacements des individus. D'une part parce que l'analyse de composition a révélé que la surface de bâti autour des gîte de maternité avait une influence négative sur la probabilité de présence des gîtes et d'autre part parce que le petit rhinolophe est sensible à la pollution lumineuse (Stone *et al.* 2009).

A partir de ce constat, nous avons tenté d'intégrer une variable représentant cette pollution lumineuse dans les modèles de distribution. A partir du modèle de Albers et Duriscoe

(2001), basé sur une relation entre densité de population et distance au bâti, nous avons cartographié une estimation de la pollution lumineuse sur l'ensemble de la zone d'étude et mis en conformité cette couche avec les autres données spatiales (Figure 22). Cette variable a par la suite été retirée du jeu de données car nous n'avons pas pu montrer de relation avec la présence de gîte de maternité.

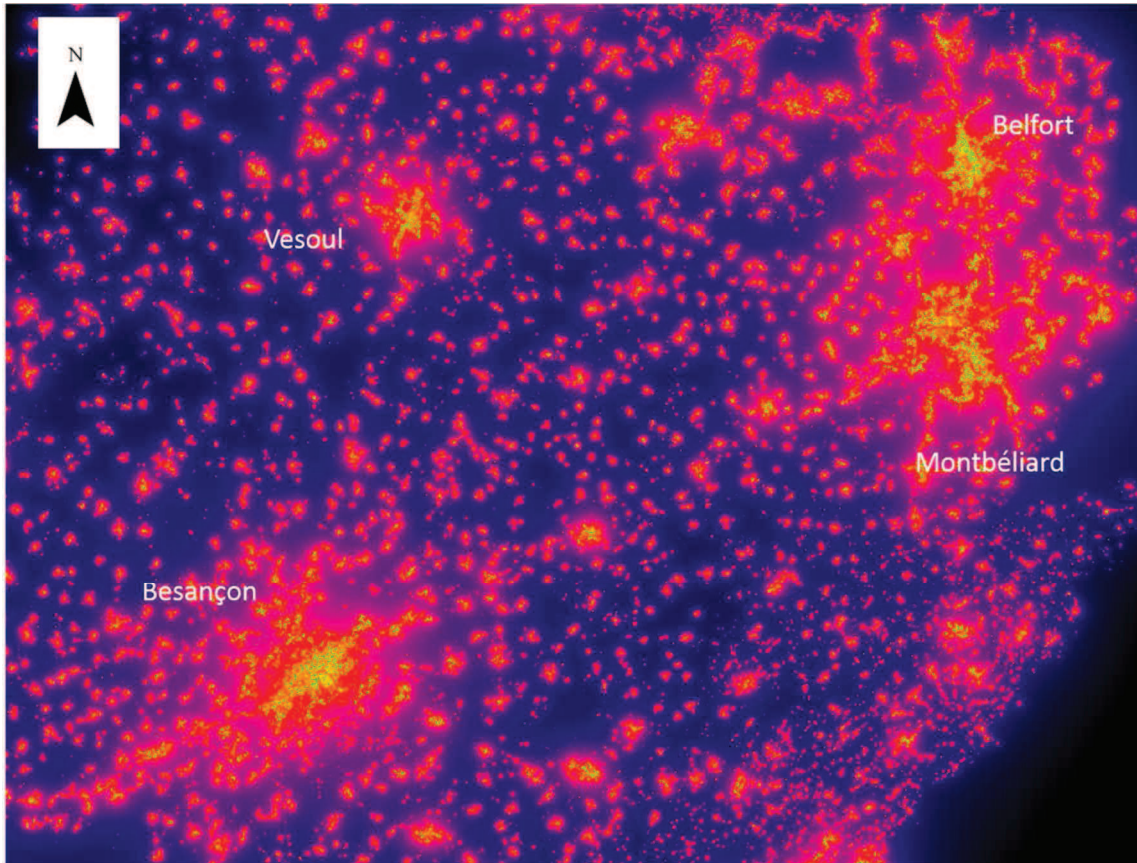


Figure 22 : Extrait de la cartographie de l'estimation de la pollution lumineuse de la zone d'étude selon Albers et Duriscoe (2001)

Les zones jaunes représentent les zones de pollution lumineuse intense.

Les liens entre les nœuds du graphe ont été définis par des chemins de moindre coût. Afin de déterminer la meilleure combinaison des valeurs de coût nous avons attribué différentes valeurs aux éléments paysagers en faisant varier arbitrairement l'amplitude des valeurs et le nombre de catégories de valeurs (Table 1). La combinaison sélectionnée pour les analyses suivantes est celle permettant de prédire au mieux la présence de gîtes de maternité de l'espèce (modèle avec l'AIC le plus faible). La première liste de la table 1 est celle qui a été retenue.

Table 1 : Listes de valeurs de coûts attribuées à chaque éléments paysagers pour le calcul des chemins de moindre coût.

éléments paysagers	coûts 1-50-100	coûts 1-5-10	coûts 1-5-350	coûts 1-100-100000	coûts 1-15-50-100
sol nu	100	10	350	100 000	100
prairie	50	5	5	100	50
forêt feuillus	1	1	1	1	15
forêt conifères	1	1	1	1	50
verger	50	5	5	100	15
haies	50	5	5	100	15
bâti	100	10	350	100 000	100
plan d'eau	50	5	5	100	50
hydro	50	5	5	100	50
surface en eau	50	5	5	100	50
voie ferrée	50	5	5	100	50
route	100	10	350	100 000	100
centroïde bâti	1	1	1	1	1

Définition des liens du graphe

Puisqu’aucune information n’est connue sur la distance de dispersion des juvéniles nous avons réalisé quatre graphes paysagers dont les liens ont été seuillés à une distance correspondant au comportement de déplacement des chauves-souris : 600 m (zone d’activité intensive), 2500 m (distance moyenne de déplacement quotidien), 5000 m (distance maximale entre le gîte et la zone de chasse) et 10 km (distance entre le gîte de maternité et le gîte d’hivernage). De la même façon que pour les valeurs de coût, le modèle de distribution des gîtes avec le plus faible AIC a permis de déterminer la distance de seuillage des liens. La distance de 2500 m qui a été retenue.

La construction du graphe paysager et le calcul des métriques de connectivité ont été réalisés à l’aide du logiciel Graphab 1.1⁶ créé dans le cadre du projet GRAPHAB pour modéliser et analyser les réseaux écologiques à l’aide des graphes paysagers. Il inclut un module pour la

⁶ <http://thema.univ-fcomte.fr/productions/graphab/fr-home.html>

construction des graphes à partir de carte du paysage, le calcul de nombreuses métriques de connectivité à différentes échelles spatiales (nœud, lien, composante, réseau global) et permet la visualisation de ces différents éléments. Le logiciel permet également de relier des données exogènes à ces éléments afin d'évaluer leur intégration dans un modèle de distribution d'espèce ou de mesurer l'impact de la modification de l'environnement (par la mise en place d'une infrastructure de transport par exemple) sur la probabilité de présence d'une espèce.

2. Evaluating the effect of habitat connectivity on the distribution of lesser horseshoe bat maternity roosts using landscape graphs

Pierline Tournant, Eve Afonso, Sébastien Roué, Patrick Giraudoux, Jean-Christophe Foltête

Biological Conservation. 2013. 164, 39-49.

Received: November 8, 2012

Accepted: April 15, 2013

2.1. Abstract

The destruction and fragmentation of habitats due to anthropogenic land use changes have led to the decline of numerous species by reducing the size and the connectivity of the remaining local populations and so contributing to their isolation. The impact of habitat fragmentation can be modeled using landscape graphs, which have become a popular tool. Habitat reduction and fragmentation have been suggested as one hypothesis for the decline of the lesser horseshoe bat *R. hipposideros* in most of western and central Europe. Consequently, we expected habitat connectivity to influence the spatial distribution of the species, particularly through the presence of maternity roosts, which are essential for the persistence of the species. We designed this study to evaluate the impact of landscape connectivity on the distribution of the lesser horseshoe bat by comparing the predictive power of landscape composition alone with a model including both landscape composition and connectivity. We assessed the impact of landscape composition on maternity roost presence for different distances covered daily by bats (600, 2500 and 5000 m). We then applied a landscape graph-based approach to the roosting habitat of the lesser horseshoe bat to extract several patch-level metrics representing the functional connectivity of the landscape at different spatial scales. The results from those approaches show that the bats' presence in the Franche-Comté region depends on the availability of wooded elements near small built areas and, at a broader scale, on the spatial

integration of maternity roosts into a connected network allowing exchanges of individuals among roosts. This approach is a promising way to establish whether the presence probability of a given species depends on the potential connectivity between habitat patches quantified at different spatial scales. We expect that this method can be applied to taxa for which habitat fragmentation is one of the causes of population decline. We anticipate that using a graph-based species distribution model as a tool to predict species presence may focus conservation efforts on areas where habitat potential connectivity and landscape composition together should be taken into account, *e.g.* where anthropogenic landscape modifications are the main drivers of habitat connectivity.

Keywords: distribution model, fragmentation, habitat patches, least-cost distance, conservation, landscape graph

2.2. Introduction

Among the different processes contributing to the loss of biodiversity, habitat fragmentation is considered to be one of the major causes of decline or extinction of species as a result of human pressure (Fahrig 1997; Lindenmayer and Fischer 2006). A major effect of such fragmentation is the loss of connectivity between habitat patches used by species to obtain their basic resources for survival. As a consequence, species have to live in local populations whose conservation depends on the spread of genes by exchange of individuals and on their integration within a connectivity network (Tischendorf and Fahrig 2000). Populations located in small isolated habitat patches therefore face a high risk of extinction (Fahrig 2003). Such populations are particularly sensitive to modifications of their habitat by the development of linear infrastructures, for example, which may put an end to connectivity between several sub-populations (Forman and Alexander 1998). Species habitat fragmentation has thus become a major issue in conservation biology leading researchers to create new tools with which to assess, model, and predict the impact of human activities on species distribution and population dynamics.

Powerful GIS tools can be used to model species habitat relationships from biological data at different scales (Calabrese and Fagan 2004; Franklin *et al.* 2009). Spatial multivariate approaches have been recognized to be a significant component of conservation planning since they produce quantitative predictive models of species distribution (Austin 2002). These models are widely applied in ecology and conservation biology (for a review, see Austin 2007; Guisan and Thuiller 2005) including for the assessment of the impact of climate, land use, and other

environmental changes on species distributions. Nevertheless, species distribution models (SDMs) still have their limitations, mainly in theoretical applications (Guisan and Thuiller 2005). Although they are based on empirical data such as field observations, they often ignore ecological principles such as population dynamics (Richard and Armstrong 2010). Besides including the potential quality of the habitat when modeling the distribution of a species, it may also be important to take into account as a landscape variable individuals' functional use of that habitat. Guisan and Zimmermann (2000) show that SDMs can be improved by adding information about ecological processes, for instance habitat connectivity.

Among a set of different methods, graph theory is now used in landscape ecology as an effective framework within which to model and analyze landscape connectivity (Urban *et al.* 2009). Landscape graphs have been successfully used to describe habitat networks for conservation purposes (Andersson and Bodin 2009; Saura and Pascual-Hortal 2007) and also to assess habitat connectivity for focal species (Morzillo *et al.* 2011; O'Brien *et al.* 2006; Pereira *et al.* 2011). In such approaches, initially based on the concept of metapopulation, the landscape is considered to be a network made up of nodes and links. Habitat patches that are thought to be optimal for the focal species are represented as the nodes of the network, and the connections between nodes are determined on the basis of ecological assumptions about the movements of the species within the landscape. The graph resulting from these connections is used to quantify the potential landscape connectivity by means of different connectivity metrics (Rayfield *et al.* 2011). These landscape connectivity metrics may be integrated into a spatially explicit model in order to associate spatial landscape structure with animal movements. This means that hypotheses about population distribution can be proposed. Foltête *et al.* (2012a) already applied this method for an amphibian species, the European tree frog (*Hyla arborea*), by including altitude and two landscape connectivity metrics from landscape graph as predictors.

We concentrate on the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*). This species used to be common throughout north-western Europe, but it has declined dramatically since the 1960s across most of its distribution range (Kokurewicz 1990; Motte and Libois 2002). Several hypotheses have been proposed for this decline, such as contamination by pesticides, habitat destruction, climate change, or competition for prey with pipistrelle bat populations (Arlettaz *et al.* 2000; Bontadina *et al.* 2001; Motte and Libois 2002). The main assumption is a reduction in its foraging habitats and a loss of connectivity among its maternity roosts because of habitat fragmentation (Bontadina *et al.* 2001). By analyzing the roosting spatial network of two bat species, Fortuna *et al.* (2009) and Rhodes *et al.* (2006) demonstrated that the use of roosting

sites is decisive for the structural organization of bat populations. Moreover, the importance of maternity roosts in the reproductive phase of the lesser horseshoe bat (females gather to give birth and raise their single young in those places) means that roost availability and distribution appear to be significant determinants of population dynamics and therefore of the conservation of this species. Recent studies have stressed the importance of linear wooded elements such as tree lines, woodland edges, and well-structured hedgerows in the movement of bats (Bontadina *et al.* 2002; Motte and Libois 2002; Ramovš *et al.* 2010; Schofield 1996; Zahn *et al.* 2008). By contrast, the species totally avoids open land, possibly due to intense predation by owls. Landscape connectivity is therefore assumed to be a key-factor for the population sustainability of this species (Bontadina *et al.* 2002; Schofield 1996). Although several studies reported that the landscape surrounding maternity roosts is becoming homogeneous and made general recommendations for future conservation planning (Bontadina *et al.* 2001; Schofield 1996), none quantify the potential impact of connectivity loss on this bat species.

In this paper we propose to evaluate the effect of landscape connectivity on the presence of maternity roosts of the lesser horseshoe bat in Franche-Comté (Eastern France). We argue that both the landscape composition and connectivity, measured respectively by overall land cover frequencies and by graph-based connectivity metrics, are essential in assessing whether a landscape is suitable for the lesser horseshoe bat. We hypothesize that the total area of woodland elements considered as the foraging area and also the spatial distribution of potential maternity roosts are crucial for this species. We compare the predictive power of landscape composition alone as to the presence of maternity roosts against a model that integrates both composition and connectivity.

2.3. Materials and methods

2.3.1. Study area and maternity roosts

The study area (11 780 km²) covered much of the Franche-Comté region (16 200 km²; Eastern France; Figure 23). Non-built areas are mainly covered by forests (42 %: deciduous, coniferous, and mixed) and farmland (46 %: pastures, meadows, and arable land). A conservation association (CPEPESC Franche-Comté) supplied data on the location of maternity roosts and the abundance of lesser horseshoe bats. The association exhaustively prospected villages and regularly monitored sites in the study area for ten years. Throughout this period, a total of 87 maternity roosts were recorded (Figure 23). The locations of winter roosts were

unknown because of the difficulty in finding them, lesser horseshoe bats mostly wintering in caves.

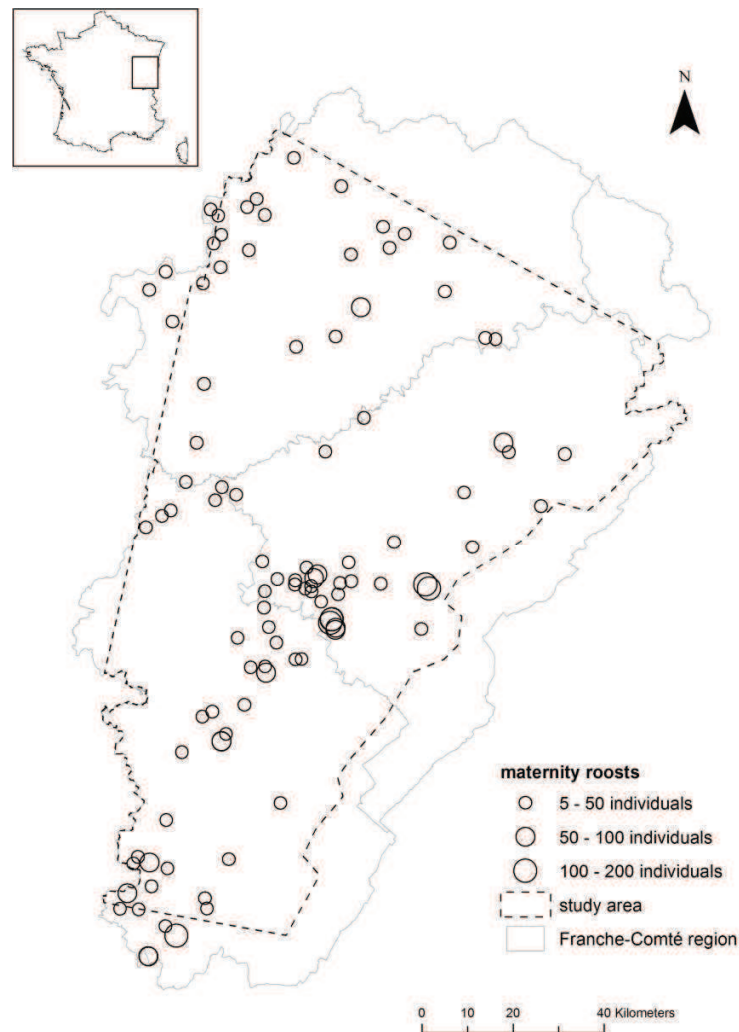


Figure 23 : Location of lesser horseshoe bat maternity roosts with abundance of individuals in the Franche-Comté region, Eastern France

2.3.2. Landscape data

We created a high-resolution landscape map of the study area from various sources (Table 2). We used a 1 m-accuracy vectorial landscape database provided by the French cartography services (BD Topo IGN®) to map deciduous and coniferous woodlands, hedgerows, roads, railways, built areas, ponds, streams, and rivers. We defined built areas from buildings, using expand and shrink functions to 50 m in ArcGIS version 9.3. in order to include artificial surfaces located between buildings. We used remotely sensed data (IRS PAN + LISS-III, 7 m spatial resolution) to distinguish grassland and bare ground. Since they are not reported in databases, we classified orchards visually from the BD Ortho IGN®. As wetlands are important landscape

features for bats according to experts, we first decided to create a landscape map composed by deciduous and coniferous wetland areas around rivers and to integrate a wetland database provided by French cartographic services (DREAL). Their influence of maternity roost presence was not significant when it was independently tested. We consequently decided not to integrate wetlands in the final map. We then converted each land cover class into a raster layer with a spatial resolution of 10 m. Since hedgerows may serve as potential corridors, they were considered as critical landscape elements. Consequently we kept all linear landscape elements of less than 10 m in the rasterization as a priority.

The final raster map was made up of the 12 previously listed land cover classes combined in such a way as to give precedence to linear elements, so, when any given pixel was defined by several landscape elements, roads or hedgerows were preferred to planar elements such as woodland or bare ground. Previous studies of the lesser horseshoe bat reported its presence at altitudes below 1000 m only (Bontadina *et al.* 2008; Crucitti and Cavalletti 2002; Holzhaider *et al.* 2002). Hence we used a digital elevation model with a resolution of 25 m (IGN®) to remove areas above 1000 m. We used ArcGIS version 9.3. to process all the spatial data.

Table 2 : The 12 land cover classes used to create the landscape map, the sources of data, and the 4 categories into which they were collapsed for composition and connectivity analyses.

Data sources	Land cover classes	Categories of landscape elements
BD ortho IGN®	orchards	
	coniferous woodland	<i>woodland</i>
	deciduous woodland	
	hedgerows	
BD topo IGN®	roads	
	railways	<i>artificial areas</i>
	built areas	
	ponds	
	streams	<i>water bodies</i>
	rivers	
	remotely sensed data (IRS PAN + LISS-III)	grassland
bare ground		

2.3.3. Landscape composition predictors of maternity roost presence

Landscape composition is assumed to be an important predictive variable of bat species distribution (Bougey *et al.* 2011; Rainho and Palmeirim 2011). Several studies of the lesser horseshoe bat show that maternity roosts are generally located in attics or in old buildings such as churches or barns of small villages located close to foraging areas (McAney and Fairley 1988; Weiner and Zahn 2001). Deciduous and mixed woodlands close to the riparian vegetation of rivers are their favorite habitats for foraging, whereas open land (crops and pastures) is generally avoided (Bontadina *et al.* 2002; Holzhaider *et al.* 2002; Motte and Libois 2002; Reiter 2004; Schofield *et al.* 2002; Zahn *et al.* 2008). Moreover, Bontadina *et al.* (2002) and Schofield (2002) suggested that the amount of woodland within a 2 km radius around maternity sites could determine colony size. Consequently we expected the preferential habitats of this species to be positively correlated with the presence of maternity roosts and with the number of individuals recorded in roosts. Based on the map of the study area, we defined new land cover

classes by collapsing bare ground and grassland to *open land*; ponds, streams, and rivers to *water bodies*; deciduous and coniferous woodlands with orchards and hedgerows to *woodland*; and built areas, railways, and roads to *artificial areas*. We included these four new land cover classes in the landscape composition model as explanatory variables.

Radio-tracking studies of eight lesser horseshoe bats conducted in Germany and Wales showed that foraging areas up to 2.3 km from the roost were used more than expected by chance (Bontadina *et al.* 2002; Schofield *et al.* 2002). Holzaidner *et al.* (2002) confirmed this information by demonstrating that for one radio-tracked female, foraging areas were located at a mean distance of 2.4 km from the roost. Harmata (1992) reported that female lesser horseshoe bats covered a maximum distance from the roost of 5 km (3–4 km for one bat in Holzaidner *et al.* 2002, 4.2 km for one bat in Bontadina *et al.* 2002). Similar studies reported maximum distances of less than 2.6 km in France (Farcy *et al.* 2009), Belgium (Motte and Libois 2002), Wales (Schofield *et al.* 2002), and Germany (Zahn *et al.* 2008). Lesser horseshoe bats are nevertheless able to cover greater distances since in translocation experiments in Switzerland, Weinberger *et al.* (2009) observed that two bats released 12.3 km from their home roosts returned after two days. However, individuals spend half of their time foraging within a radius of 600 m of the maternity roost (50% for eight bats in Bontadina *et al.* 2002; 61 to 100 % for four bats in Farcy *et al.* 2009). Motte and Libois (2002) noticed that “the intensity of use of foraging areas of one single radio-tracked bat was within a radius of 500 m”. Based on this information, we then assessed the influence of landscape composition on the presence of lesser horseshoe bat maternity roosts separately for different buffer sizes in relation to the bat’s daily movement behavior around the roost: 600 m (most frequented foraging areas around maternity roosts), 2500 m (mean distance of foraging areas), and 5000 m (known maximum distance travelled by bats from roost). We recorded the total area of each of the four land cover classes (*i.e.* woodlands, open land, water bodies and artificial areas) in square meters for each radius of presence and pseudo-absence points.

In order to test the relationship between the four classes of landscape elements and the size of the colony in the maternity roost, we classified each roost by colony size in three categories. We identified small (5 to 50 bats), medium (50 to 100 bats) and large (100 to 200 bats) colonies. We compared the mean area of each of the four landscape classes for the three colony size categories using a mean comparison test (Fisher test), and when the test was significant ($p < 0.05$), we compared each pair of categories by a Tukey multiple comparison test. We ran these tests for each buffer size.

We considered presence data as the 87 maternity roosts currently recorded in the field, all situated in built areas, while we sampled a set of pseudo-absence points by randomly selecting one point located in built patches in each cell of a grid of 10 km resolution, corresponding to the mean distance travelled between the maternity roost and the winter roost (Crucitti and Cavalletti 2002; Williams 2001). We removed all selected pseudo-absence points within 2500 m of the maternity roosts so as to limit spatial autocorrelation. We tested the spatial autocorrelation between all analysis points within a radius of 2500 m by calculating Moran's I, estimated by Mantel's random permutation tests. We removed some pseudo-absence and presence points for which a buffer size was incomplete due to the boundaries of the study area.

We modeled the presence of maternity roosts against landscape composition elements using a logistic regression. We hypothesized that *woodland* and *water body* areas favored the presence of maternity roosts, contrary to *open land* and *artificial* areas. Bat colonies were observed in small villages or in isolated buildings close to woodlands. We assumed that although bats roost in buildings, large built areas are unfavorable for this species.

As described by Burnham and Anderson (2002), we performed model evaluation and parameter estimation using the multi-model inference techniques based on AIC corrected for small sample sizes (AICc). All possible combinations of predictors, including second order interactions, were modeled and an Akaike weight was attributed to each model. We selected models for which the difference between AIC values (Δ_i) was < 2 . The relative importance of each predictor was assessed by summing the Akaike weight of all the models in which that predictor appeared across the candidate set. This produces a selection probability ($\sum w_i$) for each predictor variable, which varied from 0 to 1, *i.e.* the estimated probability that, of all predictors considered, the predictor variable appears in the best approximating model (Bougey *et al.* 2011). The importance of predictors describing maternity roost presence was also assessed by whether the 95% confidence intervals of the coefficient estimates overlapped zero (Grueber *et al.* 2011). We assessed the overall fit of the final logistic equation for each buffer set using the Hosmer-Lemeshow test (Hosmer *et al.* 1997). We used the receiver operating characteristic (ROC) curves to assess the prediction accuracy of the best model. The area under the curve (AUC) represented the predictive power of the model, with 1 for perfect classification, and 0.5 representing model predictions that were no better than chance.

2.3.4. Landscape connectivity

We used a landscape graph-based approach to investigate landscape connectivity. Among the different types of existing graphs, we focused on the minimum planar graph (Fall *et al.* 2007; O'Brien *et al.* 2006) for which all pairs of nearby nodes are connected by a link weighted by the least-cost distance. Among several benefits, the minimum planar graph, which properly approximates the complete graph (Rayfield *et al.* 2010), also allows for considerable computational efficiency in the event of a complex optimal habitat definition entailing consideration of many nodes.

Several studies of the lesser horseshoe bat reported that its optimal habitat is a composite object requiring both potential maternity roosts (houses or old buildings) and wooded environments (*i.e.* deciduous and coniferous woodland, orchards, hedgerows) as foraging areas (Bontadina *et al.* 2002; Motte and Libois 2002; Schofield 1996; Zahn *et al.* 2008). As a consequence, we considered all built patches in the study area to be potential roosts for the species. They were arbitrarily represented by their centroids - which meant that they could be differentiated from the bat presence points also located in built patches - and formed the nodes of the landscape graph. Since least cost distances have been shown to make models more relevant by better capturing functional connectivity than Euclidean distances do (Adriaensen *et al.* 2003), the connections between nodes were ascertained in terms of cost movement defined for each landscape category: favorable, neutral, and unfavorable. From literature (Bontadina *et al.* 2002; Holzhaider *et al.* 2002; Motte and Libois 2002; Reiter 2004; Schofield *et al.* 2002; Zahn *et al.* 2008) and expert opinion, land cover classes were already known to be favorable or unfavorable to the movement of bats as deciduous woodland and roads for example. This information was confirmed by the composition analysis which allows characterizing the impact of each land cover class independently on maternity roost presence and assigned them to these three categories. They were independently tested as predictor variables against maternity roost presence (data not shown). Land cover classes for which the effect on maternity roost presence was positively significant, such as deciduous and coniferous forests considered to be the foraging areas of the lesser horseshoe bat, were held to be favorable. Classes for which the effect was negatively significant, such as bare ground, roads, and built areas, were considered unfavorable. Those for which the effect was not significant (*i.e.* hedgerows, railways, ponds, streams, rivers, grasslands, and orchards) were considered neutral. We used the three categories in the landscape graph as a resistance map (Fig. 3.c). We performed several tests to assess the best combination of resistance values for the three categories. We allocated different cost values

to the neutral and unfavorable categories (we consistently assigned a resistance value of 1 to the favorable category) over different scales from 10 to 100 000 cost units. We derived cost values by trial and error on a set of values providing the lowest AIC among predicted models of maternity roost presence. The most relevant values were 1, 50, and 100 for favorable, neutral, and unfavorable categories, respectively.

In other studies (Andersson and Bodin 2009; Foltête *et al.* 2012a; O'Brien *et al.* 2006), the connections between the nodes of the landscape graph were only generated if the least-cost distances corresponded to a cost value below the maximum dispersal distance. This led to the maximum dispersal distance expressed in metric units being converted into cost units by (i) fitting a linear regression model with the cost values of the links of the graph as the response variable and the metric distance as the independent variable, and by (ii) applying this model to predict the cost value of the maximum dispersal distance. And yet, in the case of the lesser horseshoe bat, since we had no information about the dispersal ability of juveniles, and since only females were radio-tracked in earlier studies, we considered instead the mean distance of foraging areas of 2500 m from the roost. According to the regression, we converted this metric value into 2800 cost units. We therefore used this cost value to threshold the links between the nodes of the minimum planar graph.

Rayfield *et al.* (2011) reported numerous well-developed indices that can be used to quantify landscape attributes based on the properties of the landscape graph. Some of those metrics could be used to predict the presence probability of a species (Foltête *et al.* 2012a). In particular, three patch-based metrics are relevant for inclusion in a species distribution model as explanatory factors since they reveal the quality of the landscape connectivity at different spatial scales. These three metrics refer to different ecological functions associated with the habitat patches. A given habitat patch may play a role with respect to a metapopulation by contributing to three functions related to population dynamics: recruitment, dispersal flux, and traversability (Urban and Keitt 2001).

Since bats are able to use several “satellite” roosts besides the principal maternity roosts (Bontadina *et al.* 2002; Holzhaider *et al.* 2002), their presence depends on the availability of several nearby habitat patches (built areas in our case). Consequently, we associated the presence and pseudo-absence points, which differ from graph nodes, to all nodes located within a neighborhood defined by a maximum cost distance of 2800 units. Based on the method

developed by Foltête *et al.* (2012a), we associated the analysis points to the mean values of the three landscape metrics by weighting each node using an inverse function of the cost distance.

The first metric used in this study referred to the intrinsic capacity of a habitat patch. For a given patch, the potential recruitment (R) amounts to the demographic potential and is related in this case to the available resources area. The greater the recruitment value, the greater the presence probability of the species under study. In our context and according to the results from the composition analysis, we allocated the area of deciduous woodlands recognized as the main foraging area of the lesser horseshoe bat to this metric. We made this computation within a radius of 600 m around each node (*i.e.* centroids of built-land patches), which corresponds to the area where bats spend half of their time to forage. It should be noted that this metric differed from the woodland composition variable which was calculated around each analysis points (presence and pseudo-absence).

As described in Foltête *et al.* (2012a), from the work of Urban and Keitt (2001), the dispersal flux (F_i) represents the capacity of a patch i to spread individuals to surrounding patches independently of its own potential recruitment. F_i depends on the patches directly and indirectly connected to the focal patch, each being characterized by both their recruitment and their distance to the focal patch. Consequently, F_i expresses the state of landscape connectivity of a component level, *i.e.* relative to a group of connected nodes. This index can be measured by: $F_i = \sum_{j=1}^n R_j p_{ij}$ where R_j is the recruitment of patch j and p_{ij} the probability of movement between patches i and j . Considering that the probability of dispersal decreases exponentially with distance, the inter-patch distance between patches i and j was converted into a movement probability using the exponential function such that $p_{ij} = \exp(-\alpha d_{ij})$. As proposed by Urban and Keitt (2001), the maximum dispersal distance d^* may correspond to a probability of movement $p = 0.05$, giving $\alpha = \ln(0.05) / -d^*$.

The betweenness centrality of long distances (BCI), adapted from the generalization of the betweenness centrality metric (BC^{PC} ; Bodin and Saura 2010), represents the likelihood that a patch will be crossed by a path linking other patches (considering the least-cost paths between all pairs of connected patches) by taking into account the recruitment of the starting and the ending patches. Path length was weighted using an increasing function $p^k = 1 - p$, giving less weight to the shorter paths. For a given patch i :

$$BCI_i = \sum_j^n \sum_k^n R_j R_k p_{jk}^k \quad j, k \in \{1 \dots n\}, k < j, i \in P_{jk}$$

with R_j and R_k being the potential recruitment of the patches j and k , p_{jk} the weight of the path between patches j and k , and P_{jk} the set of patches crossed by the least-cost path between patches j and k . This metric reflects the landscape connectivity of the study area at a global scale. A high contribution of a given patch to this metric enhances the long-distance rescue effect, *i.e.* the capacity of a metapopulation to react to a perturbation by dispersing new individuals from non-disturbed patches using the connectivity network. We calculated F and BCI for each node up to the maximum least cost path distance of 2800 cost units in accordance with the conversion of the mean distance of 2500 m. All the steps of the graph analysis were computed using Graphab 1.0 software (Foltête *et al.* 2012b).

2.3.5. Maternity roost distribution model

We modeled the presence of a maternity roost against landscape composition and connectivity using a generalized additive model (GAM) with a logistic link function. GAM allows nonlinear response shapes by fitting smoothed functions to the predictor variable and better represents the underlying ecological data. As F represents the potential dispersal flux of individuals, based on the recruitment value, between a given patch and its neighboring patches, we expected a nonlinear relationship between this variable and the predicted presence probability of maternity roosts since greater dispersal may not be offset by colonization by new individuals. Consequently, we modeled non-linearity between F and the logit of maternity roost presence using a regression spline as described by Wood (2000) whereas the R , BCI , *open land*, *water bodies*, and *artificial areas* variables were added to the model as linear effects. The *woodland* composition variable was not integrated into this model since R , represented by the deciduous woodland area available around the graph's nodes, was partially estimated from this variable. We calculated the three other landscape composition variables in the 600 m buffer size as in the composition model. We hypothesized that patch-based metrics R , F , and BCI computed from the landscape graph were positively related to the presence of lesser horseshoe bat maternity roosts and improved the predictive accuracy of the presence of maternity roosts, based on landscape composition alone.

As previously described, we performed an AIC-based model selection across all possible combinations of explanatory predictors to select the best model. The maximal model included the additive effect of predictor variables and took into account the three connectivity metrics according to the level at which they integrated connectivity (local to global) and the *artificial*, *open land*, and *water bodies* variables. We assessed the overall fit of the selected model using

the Hosmer-Lemeshow test and we analyzed the receiver-operating characteristic ROC to determine its prediction performance by calculating the area under the curve (AUC).

We compared the predictive power between the landscape composition model and the model integrating both composition and connectivity using AIC values (Burnham and Anderson 2002). We used R 2.14.0 software (R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011. <http://www.R-project.org>) to perform all the statistical analyses using MGCV (Wood and Augustin 2002), MuMin and pROC packages.

2.4. Results

2.4.1. Landscape composition effect on maternity roost presence

We removed some buffer sizes for presence and pseudo-absence points due to their proximity to the boundary of the study area. Accordingly, we used 119 pseudo-absences and 87 presences for the 600 m buffer, 106 pseudo-absences and 85 presences for the 2500 m buffer, and 91 pseudo-absences with 79 presences for the 5000 m buffer. We detected no spatial autocorrelation among all the analysis points within a 2500 m radius (Moran's $I = 0.17$, $p > 0.05$).

The relation between colony size and landscape element areas surrounding maternity roosts revealed that only *woodland* and *open land* variables ($p < 0.001$) differed between colony size categories ($p > 0.05$ for *artificial areas* and *water bodies* variables). Woodland areas were more abundant in the vicinity of the larger colonies than the smaller ones for each buffer size and also between the large and medium categories for the 2500 and 5000 m buffer sizes (Table 3). Open land areas were less abundant in the vicinity of the larger colonies than the smaller ones for each buffer size and also between the large and the medium categories for the 2500 and 5000 m buffers. There was no significant difference of woodland and open land areas between the small and the medium categories of colony size ($p > 0.05$). The magnitudes of the difference in the extent of woodland and open land between colony sizes for each buffer size and associated p-values are reported in Table 3.

Table 3 : Magnitude of the difference in woodland and open land extent between colony sizes (small: 5 to 50 bats, medium: 50 to 100 bats, and large: 100 to 200 bats) for the different buffer sizes (600, 2500, and 5000 m). Differences between medium and small colonies were not significant and are not shown. Proportion of Woodland (%) and Proportion of Open Land (%)

provide data on the magnitude of the difference in woodland and open land extent between the different buffer sizes.

Buffer size	Colony size comparison	Proportion of woodland (%)	p values	Proportion of open land (%)	p values
600 m	large - small	0.28	< 0.001	-0.24	< 0.001
	large - medium	0.16	NS	-0.12	NS
2500 m	large - small	0.16	< 0.001	-0.14	< 0.01
	large - medium	0.13	< 0.05	-0.13	< 0.05
5000 m	large - small	0.11	< 0.01	-0.10	< 0.01
	large - medium	0.13	< 0.05	-0.12	< 0.05

Based on the multi-model inference technique used to select the best predictor variables, *artificial* and *woodland areas* variables were selected to predict the presence probability of lesser horseshoe bat maternity roosts, for the 600 m, 2500 m, and 5000 m buffer size ($\sum w_i$ *artificial* and *woodland* > 0.99, $\sum w_i$ *open land*, *water bodies* and all second order interactions < 0.5; Table 4). The 95% confidence intervals of the coefficient estimates of *artificial* and *woodland areas* did not overlap zero. The Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test showed a good fit of the selected model for each buffer set (600 m, p = 0.27; 2500 m, p = 0.63; 5000 m, p = 0.60). An AUC score of 0.81 for the 600 m buffer size represented reasonable predictive accuracy whereas prediction accuracy of the 2500 m buffer size was lower but still acceptable (AUC = 0.73), and the 5000 m buffer size analysis demonstrated the weakest association between maternity roost presence and landscape composition, performing better than random with an AUC score of 0.66.

Table 4 : Model comparisons of the probability of presence of lesser horseshoe bat maternity roosts in the Franche-Comté region according to four landscape composition variables and to a null model for three buffer sizes: 600 m; 2500 m, and 5000 m. The bold model represents the final selected model.

AICc, Akaike's Information Criterion corrected for small sample sizes; Δ_i , difference between

Models	Residual deviance	AICc	Δ_i	w_i
<u>600 m buffer</u>				
<i>artificial + woodland + open land + water bodies</i>	210.31	220.6	4.15	0.038
<i>artificial + woodland + open land</i>	210.31	218.5	2.05	0.108
<i>artificial + woodland</i>	210.34	216.5	0	0.302
<i>woodland</i>	223.99	228	11.59	0.001
null model	281.19	283.2	66.75	0.000
<u>2500 m buffer</u>				
<i>artificial + woodland + open land + water bodies</i>	229.49	239.8	3.53	0.045
<i>artificial + woodland + water bodies</i>	230.13	238.3	1.96	0.094
<i>artificial + woodland</i>	230.16	236.3	0	0.263
<i>woodland</i>	240.05	244.1	7.83	0.005
null model	262.47	264.5	28.20	0.000
<u>5000 m buffer</u>				
<i>artificial + woodland + open land + water bodies</i>	215.92	226.3	1.57	0.079
<i>artificial + woodland + water bodies</i>	218.41	226.7	1.94	0.066
<i>artificial + woodland</i>	218.57	224.7	0	0.173
<i>artificial</i>	221.68	225.7	1.03	0.103
null model	233.76	235.8	11.07	0.001

AICc and the lowest AICc value; w_i , the Akaike weight. Each landscape composition variables were calculated around presence and pseudo absence points: *artificial*, proportion of artificial areas; *woodland*, proportion of wooded elements; *water bodies*, proportion of water areas; *open land*, proportion of open land areas.

As the 600 m buffer size represented the area around roost with the most frequent foraging activity, we assessed the variation of *artificial areas* and *woodland* for this model. Based on its final equation, predicted presence probability of maternity roost increased with wooded area ($\beta_{woodland} = 5.41$, SE = 1.23), while it decreased with artificial areas ($\beta_{artificial} = -7.86$, SE = 2.50). The maternity roost presence probability declined greatly when the artificial areas exceeded 20% within 600 m of the roosts, even with a high proportion of wooded areas (Figure 24).

However, a proportion of 20% of artificial areas in the buffer remained rare, representing only 10% of the observations.

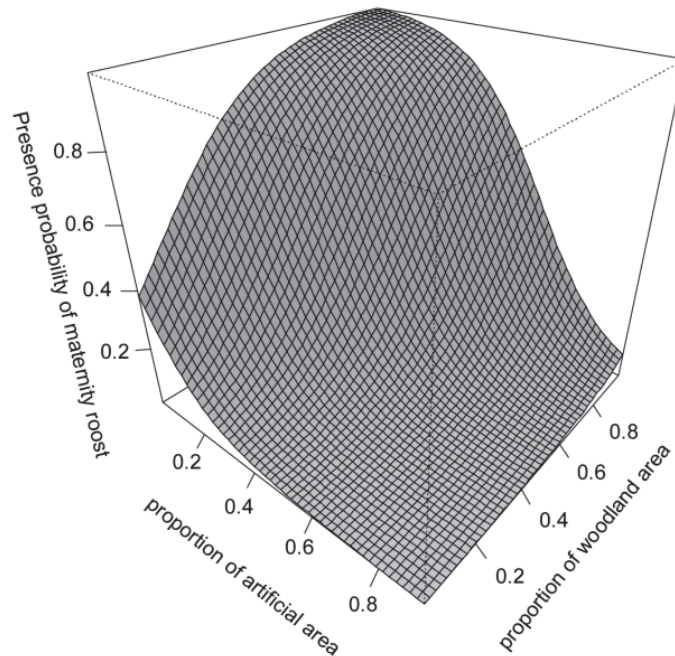


Figure 24 : Predicted presence probability of lesser horseshoe bat maternity roosts according to the proportions of artificial and woodland areas within a 600 m radius buffer

2.4.2. Landscape connectivity effect on maternity roost presence

From the study area map, 20 593 built patch centroids were identified and were therefore defined as the graph's nodes. The minimum planar graph constructed from these nodes comprised 42 745 links (Figure 25).

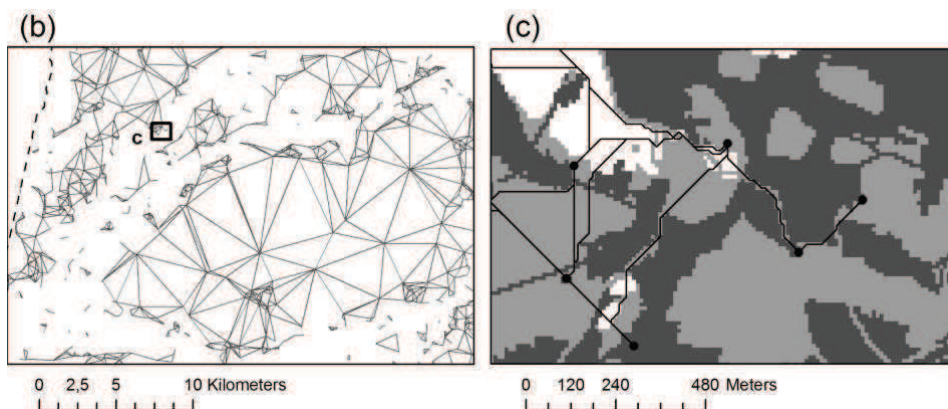
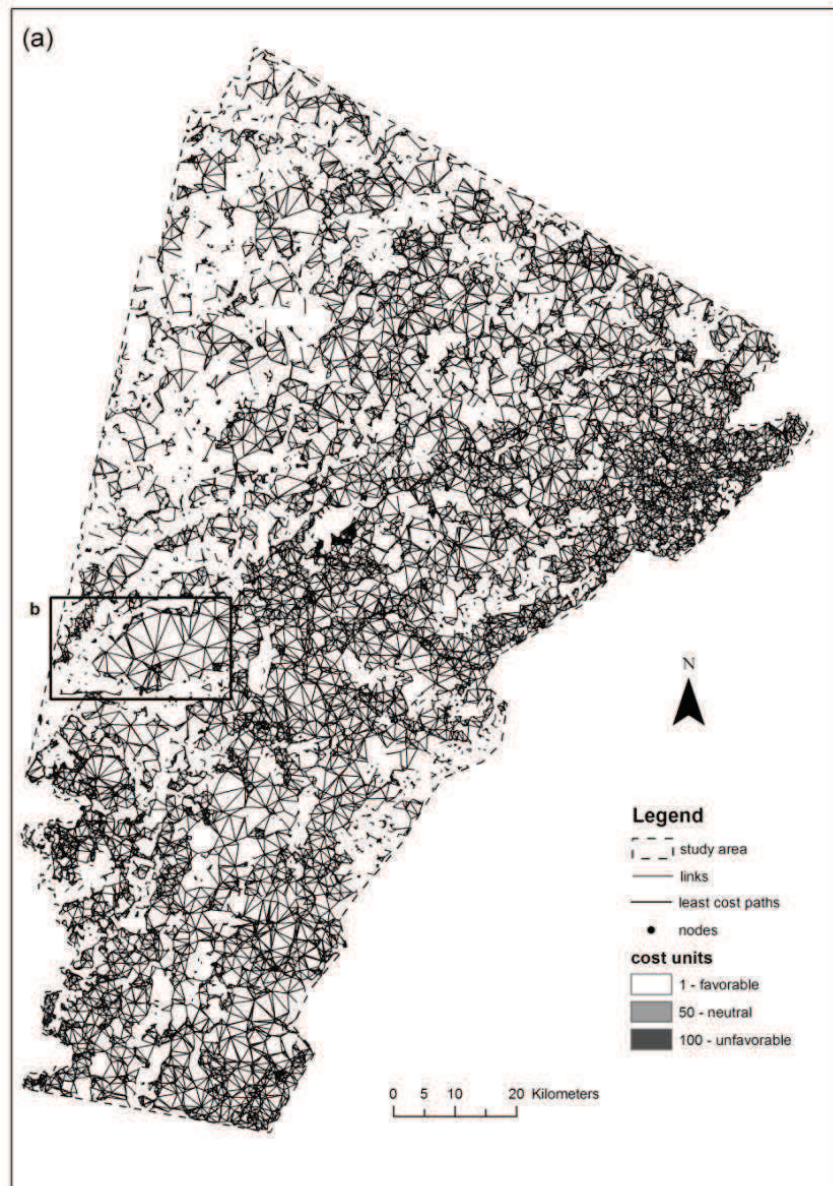


Figure 25 : Landscape graph of the lesser horseshoe bat habitat in the Franche-Comté region, Eastern France

(a) Topological representation of the graph links for the study area, with a local focus (b). The inset (c) shows the nodes of the graph and the least cost paths between them in relation to each category of landscape elements: favorable, neutral, and unfavorable.

The smoothed F variable better predicted maternity roost presence ($AICc = 249.91$) than the linear F variable ($AICc = 263.26$). We consequently included the F variable in the model with a smoothed function. The selected model based on $AICc$ included the R , smoothed F , BCI and *artificial areas* variables ($\sum w_i \text{artificial}, R, BCI \text{ and } F > 0.99, \sum w_i \text{open land}, \text{water bodies} < 0.5$; Table 5). However, the 95% confidence intervals of the coefficient estimates of the smoothed F variable overlapped zero $[-0.007; 0.007]$. Consequently it was omitted from the final model. The Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test showed a good fit of the selected model ($p = 0.42$). The best fitted model had high fit and good discrimination ability with an area under the curve of 0.84.

Table 5 : Model comparisons of the presence probability of lesser horseshoe bat maternity roosts in the Franche-Comté region according to landscape variables (composition and connectivity). The bold model represents the final selected model.

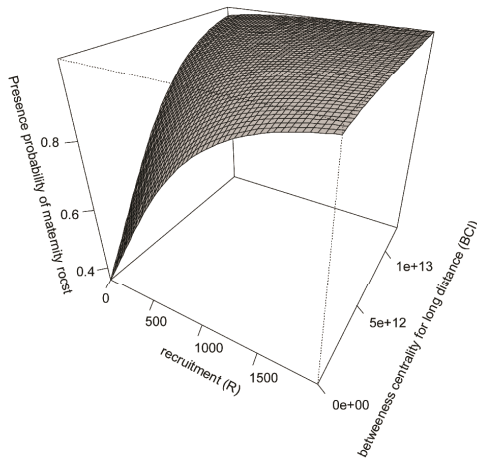
Models	Residual deviance	AICc	Δ_i	w_i
<i>artificial</i> + R + $s(F)$ + BCI + <i>open land</i> + <i>water bodies</i>	191.67	206.2	2.75	0.074
<i>artificial</i> + R + $s(F)$ + BCI + <i>open land</i>	191.98	204.4	0.90	0.187
<i>artificial</i> + R + $s(F)$ + BCI	193.19	203.5	0	0.294
<i>artificial</i> + R + BCI	196.58	204.8	1.28	0.155
<i>artificial</i> + R	206.67	212.8	9.30	0.003
R	225	229.1	25.56	0.000
null model	280.59	282.6	79.11	0.000

$AICc$, Akaike's Information Criterion corrected for sample sizes; Δ_i , difference between $AICc$ and the lowest $AICc$ value; w_i , the Akaike weight, R , recruitment as the proportion of deciduous forest calculated within a 600 m radius around graph nodes; $s(F)$, smoothed dispersal flux; BCI , betweenness centrality index for long distance. Each landscape composition variables were calculated around presence and pseudo absence points within a 600 m radius: *artificial*, proportion of artificial areas calculated; *water bodies*, proportion of water areas calculated; *open lands*, proportion of open land areas calculated.

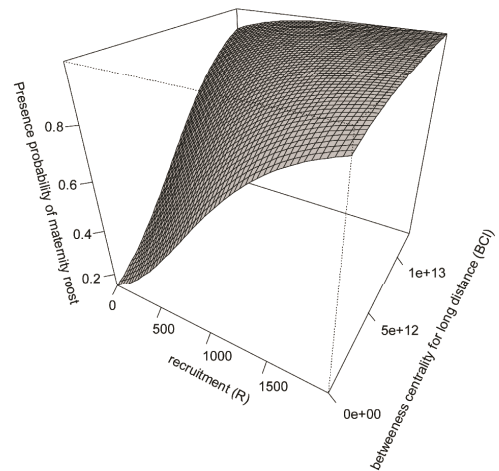
Based on the final equation of the selected model, the predicted presence probability of maternity roosts decreased similarly to the previous model based on a 600 m buffer size with artificial areas ($\beta_{\text{artificial}} = -8.62, SE = 5.19$) and increased with recruitment ($\beta_R = 2.18E-03, SE = 5.67E-04$) and betweenness centrality for long distances ($\beta_{BCI} = 3.47E-13, SE = 1.38E-13$). For a minimum ($> 1\%$) and a mean (18%) of artificial areas, the maternity roost presence probability increased with a greater value of R whereas the BCI had a weak positive influence

on the presence probability. Where there was a high proportion of artificial areas (92%, which was uncommon, see above), the R metric had no impact on the probability of maternity roost presence, whereas high values of BCI meant the presence probability increased (Figure 26).

(a) minimum proportion of artificial area (%)



(b) mean proportion of artificial area (%)



(c) maximum proportion of artificial area (%)

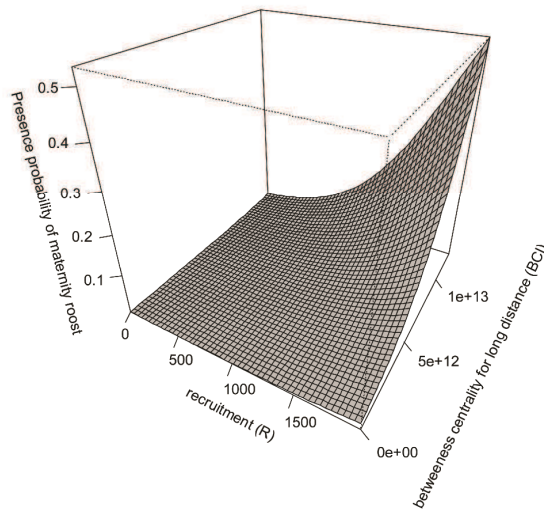


Figure 26 : Predicted presence probability of lesser horseshoe bat maternity roosts according to the recruitment, and betweenness centrality for long distance values for the minimum (a), the mean (b), and the maximum proportion (c) of artificial areas surrounding maternity roosts

Based on the AIC, the predictive maternity roost presence model integrating both landscape composition and connectivity (AICc = 204.85) is better than the model with landscape composition alone (AICc = 216.5), considering a Δ_i of 13 between the two models.

2.5. Discussion

We designed our study to assess the role of landscape composition and connectivity in the distribution of lesser horseshoe bat maternity roosts. Compared with the analysis based on landscape composition alone, our results provide additional arguments about the importance of the surrounding landscape in understanding patterns of maternity roost presence. The results clearly show that landscape composition has a crucial effect on the presence of horseshoe bat maternity roosts. For all buffer sizes, artificial and woodland areas are the best landscape factors for predicting maternity roost presence. As predicted by the model, within the 600 m buffer where bats are more active, wooded areas have a positive impact on maternity roost presence. Woodlands are known to be used as foraging areas by lesser horseshoe bats (Bontadina *et al.* 2002; Holzhaider *et al.* 2002; Motte and Libois 2002); it is thus understandable that these habitats are more abundant around maternity roosts than around randomly selected artificial places. Moreover, woodland areas are more abundant around large colonies (100–200 bats) than around small (5–50) and intermediate (50–100) colonies, indicating that colony size may be dependent on proximate prey resource abundance. Such findings are consistent with previous studies and with our hypothesis that the preferential habitat of the species is correlated with its presence. Reiter (2004) reports that colony size in Austria increases with the proportion of surrounding woodland: small areas of woodland support only small colonies, while bigger colonies are located in the vicinity of larger proportions of woodland. Similarly to Schofield (1996) in England, Reiter (2004) analyzes the presence of lesser horseshoe roost sites in relation with the surrounding landscape and finds that deciduous woodlands are the main landscape element associated with maternity roosts and are more abundant around existing maternity roosts than around randomly selected churches and castles. Conversely, a greater artificial area is found to have a negative impact on maternity roost presence, which is paradoxical since buildings are essential for bats, providing them with roosting sites. Although a minimum artificial area is required for the presence of maternity roost, according to the results from the composition analysis, the probability of presence decreases when the artificial area increases. This has never been formally proven for the lesser horseshoe bat, but it could be attributed to

the modification and to the loss of its foraging areas due to the spread of artificial areas and to the fact that new buildings may not be accessible for bats.

Furthermore, foraging areas have to be available in the nearby environment of roosts. Because flying is energetically costly, the choice of foraging areas by bats is constrained by travelling distance (Rainho and Palmeirim 2011). Moreover radio tracking studies reveal that the lesser horseshoe bat does not cover long distances to foraging areas daily, with a maximum of 5000 m (Bontadina 2002; Holzhaider *et al.* 2002; Schofield *et al.* 2002; Zahn *et al.* 2008). So woodland areas close to the roost are a prerequisite for selective foraging, especially since the lesser horseshoe bat is the smallest species of the Rhinolophid family and the main individuals present in roosts are pregnant or lactating females and juveniles. The findings of this study are consistent with Reiter (2004) and Boughey *et al.* (2011), who demonstrate that the distance from the roosting site of lesser horseshoe bats to forest patches and to the closest water bodies is shorter than the distance between these habitat elements and randomly chosen points in the landscape. The lesser horseshoe bat has been regularly observed foraging close to riparian vegetation (Bontadina 2002; Holzhaider *et al.* 2002; Schofield *et al.* 2002; Zahn *et al.* 2008). However, our results show that the area of water bodies does not influence maternity roost presence. For four bat species in the United States, Lookingbill *et al.* (2010) report that the importance of wetlands as a predictor of bat activity increases when network measures are used that account for connected areas in a broad spatial context.

While landscape composition is important for the presence of lesser horseshoe bat maternity roosts, the access to other potential maternity roosting sites is also a key element. At nighttime, lesser horseshoe bats may leave the main maternity roost to go to other roosting sites called satellite roosts, which bats use temporarily for several hours or for a couple of days (Bontadina *et al.* 2002; Holzhaider *et al.* 2002). A suitable satellite roost will be inaccessible if unfavorable landscape elements impede their movements (*e.g.* open spaces, Bontadina *et al.* 2002; Holzhaider *et al.* 2002; Motte and Libois 2002). Open areas, which are assumed to have a negative effect on the presence of maternity roosts, are not included in the final selected models but are significantly less abundant around maternity roosts accommodating many bats than around maternity roosts containing few bats. Open areas do not limit the presence of maternity roosts but have a negative impact on the colony size, confirming the unfavorable perception of this element by bats. Open areas are included in the graph modeling as unfavorable landscape elements; their presence is nevertheless involved in the construction of least-cost paths constituting the links between habitat patches. Actually, previous studies based on radio-

tracking of lesser horseshoe bats indicate that bats follow parallel paths to linear woodland elements such as tree lines and well-structured hedgerows (Bontadina *et al.* 2002; Motte and Libois 2002; Ramovš *et al.* 2010; Schofield 1996; Zahn *et al.* 2008). Those commuting routes are used as corridors by bats to move between roosts and from the maternity roost to the foraging areas and direct observations in the field suggest that they are also used as guidelines and provide protection against predators and wind (Ramovš *et al.* 2010). In our models we do not demonstrate the importance of hedgerows for bats when commuting. They are considered as neutral landscape elements in the graph construction because they do not provide significant links with maternity roost presence when considering hedgerows as a unique predictor. Holzaider *et al.* (2002) suggest that hedgerows are used by lesser horseshoe bats in sparsely wooded landscapes to allow them to cross open areas when they move from one foraging area to another. They explain that the forest cover in their study area (similar to our study area where forests cover 42% of the total area) is extensive enough to allow bats to avoid open areas.

Fortuna *et al.* (2009) and Rhodes *et al.* (2006) establish that the giant noctule bat *Nyctalus lasiopterus* populations in Spain and the white-striped freetail bat populations in Australia are sensitive to networks of roosting sites in built environments. Graph modeling used in this study provides a useful tool for representing the landscape connectivity network even in the case where the habitat of the lesser horseshoe bat is not well defined and the presence data are represented by roosting sites only (even omitting hibernation roosts or satellite roosts). The maternity roost presence model is improved by incorporating graph-based connectivity metrics into landscape composition variables, as has been done for the European tree frog *Hyla arborea* (Foltête *et al.* 2012a). Our selected model, including graph-based metrics integrating landscape connectivity at local and global scale (R and BCI), is more predictive than the model that uses landscape composition alone. Being more than just the area of deciduous forests calculated within a circular neighborhood, recruitment (R metric) integrates local landscape connectivity of roosts by relating the location of each analysis point to the landscape graph, *i.e.* by averaging the potential foraging area of all nearby nodes by existing least cost paths. The presence of lesser horseshoe bat maternity roosts thus depends on the woodlands and artificial areas located around roosts, and on the habitat connectivity at a broad scale represented by the BCI . However, habitat connectivity has a weak influence on maternity roost presence compared to landscape composition around roosts, since the inclusion of BCI slightly improves the model. The favorable environmental context of the study area may explain the weak impact of connectivity metrics in the maternity roost presence model. The Franche-Comté region offers numerous

potential roosting sites through the presence of isolated old farm buildings surrounded by large forests patches. As a result, the movement of individuals among roosts may be facilitated. Access to nearby available resources via favorable landscape elements is a crucial factor for the presence of maternity roosts, as is reflected by the integration of the R metric in the model. By contrast, the removal of the F metric from the selected model suggests that the maternity roost network at a component level (*i.e.* a group of connected nodes) does not influence maternity roost presence. The inclusion of the BCI metric in the selected model reflects the broad scale implication of maternity roosts in a connectivity network and suggests that long-distance dispersal movements by bats (more than 10 km) play an important role in the presence of maternity roosts. This means that, in an unfavorable context (*i.e.* with substantial artificial areas), the local bat population is more dependent on the connectivity network for sustaining itself, which allows individuals to exchange between well connected roosts at large scales. The development of urbanization contributes to the loss of foraging areas and enhances the habitat fragmentation of bats. Wooded elements are not available in the vicinity of roosts, open areas are developed, and new buildings are not accessible to bats. Bat dispersal is then reduced and the sustainment of a local colony depends on individuals exchanging with more remote colonies. The inclusion of BCI in the maternity presence model could be interpreted as the long-distance rescue effect, meaning that bats are able to travel farther than the mean distance used to design the landscape graph.

However, the results from landscape connectivity analysis cannot yet be validated because data about the dispersal of individuals are scarce. Few studies report information about the dispersal ability of the species (Bontadina *et al.* 2002; Holzhaider *et al.* 2002; Schofield 1996; Zahn *et al.* 2008). Weinberger *et al.* (2009) show that bats translocated to new roosts are able to fly more than 12 km to return to their maternity roost of origin. Behavior data acquired from the field are particularly difficult to obtain using ultrasound detectors because of the very weak and highly directional echolocation calls of this bat (Bontadina *et al.* 2002; Schofield 1996). Although recent technological advances allow bats to be tracked by radio, studies still focus on few individuals (Bontadina *et al.* 2002; Holzhaider *et al.* 2002; Motte and Libois 2002; Schofield *et al.* 2002). The BCI involvement in the landscape composition and connectivity model provides new hypotheses about the dispersal ability of the species, which needs to be further investigated in the field for validation.

The specific ecological requirements of the lesser horseshoe bat in terms of roosting and foraging sites makes this species a promising indicator for studying the consequences of species

habitat fragmentation. Woodlands and artificial areas, like landscape connectivity at a larger scale, are essential landscape characteristics in the distribution and selection of maternity roosts by bats. They should therefore be closely considered for future conservation measures for this species. In fragmented landscapes, the dispersal and migration of individuals depends on the degree of connectivity (Fahrig 2003). Since we show that habitat connectivity affects the presence of maternity roosts in the study area, it is expected to impact the lesser horseshoe bat population structure in the Franche-Comté region. Further genetic studies should be undertaken to determine whether the effect of landscape connectivity on the distribution of lesser horseshoe bat maternity roosts is consistent with their genetic population structure.

2.6. Conclusion

We incorporated graph-based connectivity metrics in a SDM and interpreted their role in the model in terms of population dynamics. The inclusion of patch-based metrics computed from landscape graphs in a distribution model appears to be more relevant than considering landscape composition variables alone. The application of the landscape graph method combined with the species distribution model proved to be an efficient approach by which to better predict the presence probability of a species confronted with habitat fragmentation. As landscape graphs can account for several spatial scales, we expect that this method may be relevant for other species with large home ranges. We also anticipate that our study may be a starting point for further research in conservation biology, where graph theory and SDM combined could be used as an effective tool for landscape management, to predict where landscape modifications are likely to alter connectivity for a focal species. More specifically, its application in a diachronic analysis could make it possible to assess the impact of landscape changes on species presence. This would be the case with landscape changes brought about by the construction of linear infrastructures or by urbanization, for example, which are thought to be barriers to individuals' mobility.

Acknowledgements

The authors thank the four anonymous referees for their constructive comments and questions. This research was funded by the CNRS, the Région Franche-Comté, the Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité (FRB), and the French Ministry of Ecology, Energy, Sustainable Development and the Sea (ITTECOP program) as part of the Graphab project managed by the USR 3124 MSHE Ledoux. Computations were performed on the supercomputer facilities of the "Mésocentre de calcul de Franche-Comté".

References

- Adriaensen, F., Chardon, J.P., De Blust, G., Swinnen, E., Villalba, S., Gulinck, H., Matthysen, E., 2003. The application of 'least-cost' modelling as a functional landscape model. *Landscape and Urban Planning* 64, 233-247.
- Andersson, E., Bodin, O., 2009. Practical tool for landscape planning? An empirical investigation of network based models of habitat fragmentation. *Ecography* 32, 123-132.
- Arlettaz, R., Godat, S., Meyer, H., 2000. Competition for food by expanding pipistrelle bat populations (*Pipistrellus pipistrellus*) might contribute to the decline of lesser horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*). *Biological Conservation* 93, 55-60.
- Austin, M., 2007. Species distribution models and ecological theory: A critical assessment and some possible new approaches. *Ecological Modelling* 200, 1-19.
- Austin, M.P., 2002. Spatial prediction of species distribution: an interface between ecological theory and statistical modelling. *Ecological Modelling* 157, 101-118.
- Bodin, O., Saura, S., 2010. Ranking individual habitat patches as connectivity providers: Integrating network analysis and patch removal experiments. *Ecological Modelling* 221, 2393-2405.
- Bontadina, F., 2002. Conservation ecology in the horseshoe bats *Rhinolophus ferrumequinum* and *Rhinolophus hipposideros*. University of Berne.
- Bontadina, F., Arlettaz, R., Fankhauser, T., Lutz, M., Mühlethaler, E., Theiler, A., Zingg, P., 2001. The lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* in Switzerland: present status and research recommendations. *Le Rhinolophe* 14, 69-83.
- Bontadina, F., Schmied, S.F., Beck, A., Arlettaz, R., 2008. Changes in prey abundance unlikely to explain the demography of a critically endangered Central European bat. *Journal of Applied Ecology* 45, 641-648.

- Bontadina, F., Schofield, H., Naef-Daenzer, B., 2002. Radio-tracking reveals that lesser horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*) forage in woodland. *Journal of Zoology* 258, 281-290.
- Boughey, K.L., Lake, I.R., Haysom, K.A., Dolman, P.M., 2011. Effects of landscape-scale broadleaved woodland configuration and extent on roost location for six bat species across the UK. *Biological Conservation* 144, 2300-2310.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R., 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer Verlag.
- Calabrese, J.M., Fagan, W.F., 2004. A comparison-shopper's guide to connectivity metrics. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2, 529-536.
- Crucitti, P., Cavalletti, L., 2002. Size, dynamics and structure of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) winter aggregations in central Italy. *Hystrix* 13, 29-40
- Fahrig, L., 1997. Relative effects of habitat loss and fragmentation on population extinction. *Journal of Wildlife Management* 61, 603-610.
- Fahrig, L., 2003. Effect of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34, 487-515.
- Fall, A., Fortin, M.J., Manseau, M., O'Brien, D., 2007. Spatial graphs: Principles and applications for habitat connectivity. *Ecosystems* 10, 448-461.
- Farcy, O., Le Rouxel, A., Queau, S., 2009. Activité et terrains de chasse du Petit rhinolophe (*Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800) en Bretagne, France. *Arvicola* 19, 12-20
- Foltête, J.-C., Clauzel, C., Vuidel, G., Tournant, P., 2012a. Integrating graph-based connectivity metrics into species distribution models. *Landscape Ecology* 27, 557-559.
- Foltête, J.-C., Clauzel, C., Vuidel, G., 2012b. A software tool dedicated to the modelling of landscape networks. *Environmental Modelling and Software* 38, 316-327.
- Forman, R.T.T., Alexander, L.E., 1998. Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29, 207-+.
- Fortuna, M.A., Popa-Lisseanu, G., Ibanez, C., Bascompte, J., 2009. The roosting spatial network of a bird-predator bat. *Ecology* 90, 934-944.
- Franklin, J., Miller, J.A., 2009. Mapping species distributions: spatial inference and prediction. Cambridge University Press.
- Grueber, C., Nakagawa, S., Laws, R., Jamieson, I., 2011. Multimodel inference in ecology and evolution: challenges and solutions. *Journal of Evolutionary Biology* 24, 699-711.

- Guisan, A., Thuiller, W., 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters* 8, 993-1009.
- Guisan, A., Zimmermann, N.E., 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling* 135, 147-186.
- Harmata, W., 1992. Movements and migrations of lesser horseshoe bat, *Rhinolophus hipposideros* (Bechst.) (Chiroptera, Rhinolophidae) in southern Poland. *Prace Zoologiczne* 39, 47-60. In Schofield, H.W., 1996. The ecology and conservation biology of *Rhinolophus hipposideros*, the lesser horseshoe bat, In Unpublished PhD thesis. University of Aberdeen.
- Holzhaider, J., Kriner, E., Rudolph, B.U., Zahn, A., 2002. Radio-tracking a Lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) in Bavaria: an experiment to locate roosts and foraging sites. *Myotis* 40, 47-54.
- Hosmer, D.W., Hosmer, T., leCessie, S., Lemeshow, S., 1997. A comparison of goodness-of-fit tests for the logistic regression model. *Statistics in Medicine* 16, 965-980.
- Kokurewicz, T., 1990. The decrease in abundance of the Lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800 (Chiroptera: Rhinolophidae) in winter quarters in Poland. *Myotis* 28, 109-118.
- Lindenmayer, D., Fischer, J., 2006. Habitat fragmentation and landscape change: an ecological and conservation synthesis. Island Press.
- Lookingbill, T.R., Elmore, A.J., Engelhardt, K.A.M., Churchill, J.B., Gates, J.E., Johnson, J.B., 2010. Influence of wetland networks on bat activity in mixed-use landscapes. *Biological Conservation* 143, 974-983.
- McAney, C.M., Fairley, J.S., 1988. Activity patterns of the lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* at summer roosts. *Journal of Zoology* 216, 325-338.
- Morzillo, A.T., Ferrari, J.R., Liu, J.G., 2011. An integration of habitat evaluation, individual based modeling, and graph theory for a potential black bear population recovery in southeastern Texas, USA. *Landscape Ecology* 26, 69-81.
- Motte, G., Libois, R., 2002. Conservation of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800) (Mammalia : Chiroptera) in Belgium. A case study of feeding habitat requirements. *Belgian Journal of Zoology* 132, 49-54.
- O'Brien, D., Manseau, M., Fall, A., Fortin, M.J., 2006. Testing the importance of spatial configuration of winter habitat for woodland caribou: An application of graph theory. *Biological Conservation* 130, 70-83.

- Pereira, M., Segurado, P., Neves, N., 2011. Using spatial network structure in landscape management and planning: A case study with pond turtles. *Landscape and Urban Planning* 100, 67-76.
- Rainho, A., Palmeirim, J.M., 2011. The importance of distance to resources in the spatial modelling of bat foraging habitat. *Plos One* 6, 10.
- Ramovš, V., Zidar, S., Zagmajster, M., 2010. Emergence and flight routes of the lesser horseshoe bats *Rhinolophus hipposideros* (Bechstein, 1800) from a church at Ljubljansko barje, central Slovenia. *Natura Sloveniae* 12, 35-53.
- Rayfield, B., Fortin, M.J., Fall, A., 2010. The sensitivity of least-cost habitat graphs to relative cost surface values. *Landscape Ecology* 25, 519-532.
- Rayfield, B., Fortin, M.J., Fall, A., 2011. Connectivity for conservation: a framework to classify network measures. *Ecology* 92, 847-858.
- Reiter, G., 2004. The importance of woodland for *Rhinolophus hipposideros* (Chiroptera, Rhinolophidae) in Austria. *Mammalia* 68, 403-410.
- Rhodes, M., Wardell-Johnson, G.W., Rhodes, M.P., Raymond, B., 2006. Applying network analysis to the conservation of habitat trees in urban environments: a case study from Brisbane, Australia. *Conservation Biology* 20, 861-870.
- Richard, Y., Armstrong, D.P., 2010. The importance of integrating landscape ecology in habitat models: isolation-driven occurrence of north island robins in a fragmented landscape. *Landscape Ecology* 25, 1363-1374.
- Saura, S., Pascual-Hortal, L., 2007. A new habitat availability index to integrate connectivity in landscape conservation planning: Comparison with existing indices and application to a case study. *Landscape and Urban Planning* 83, 91-103.
- Schofield, H.W., 1996. The ecology and conservation biology of *Rhinolophus hipposideros*, the lesser horseshoe bat, In Unpublished PhD thesis. University of Aberdeen.
- Schofield, H.W., Messenger, J., Birks, J., Jermyn, D., 2002. Foraging and roosting behaviour of lesser horseshoe bats at the Ciliau, Radnor. Vincent Wildlife Trust, Ledbury, United Kingdom.
- Tischendorf, L., Fahring, L., 2000. On the usage and measurement of landscape connectivity. *Oikos* 90, 7-19.
- Urban, D., Keitt, T., 2001. Landscape connectivity: A graph-theoretic perspective. *Ecology* 82, 1205-1218.
- Urban, D.L., Minor, E.S., Treml, E.A., Schick, R.S., 2009. Graph models of habitat mosaics. *Ecology Letters* 12, 260-273.

Weinberger, I.C., Bontadina, F., Arlettaz, R., 2009. Translocation as a conservation tool to supplement relict bat colonies: a pioneer study with endangered horseshoe bats. *Endangered Species Research* 8, 41-48.

Weiner, P., Zahn, A., 2001. Roosting ecology, population development, emergence behaviour and diet of a colony of *Rhinolophus hipposideros* (Chiroptera: Rhinolophidae) in Bavaria, In *Proceedings of the VIIIth EBRS. Approaches to Biogeography and Ecology of Bats.* ed. B.W. Woloszyn, pp. 231–242. Platan Publishing House, Krakow.

Williams, C.A., 2001. The winter ecology of *Rhinolophus hipposideros*, the lesser horseshoe bat. Open University, Cornwall, United Kingdom.

Wood, S.N., 2000. *Generalized additive models : an introduction with R.* Chapman & Hall/CRC.

Wood, S.N., Augustin, N.H., 2002. GAMs with integrated model selection using penalized regression splines and applications to environmental modelling. *Ecological Modelling* 157, 157-177.

Zahn, A., Holzhaider, J., Kriner, E., Maier, A., Kayikcioglu, A., 2008. Foraging activity of *Rhinolophus hipposideros* on the island of Herrenchiemsee, Upper Bavaria. *Mammalian Biology* 73, 222-229.

3. Impact de la mise en place de la LGV Rhin-Rhône sur la présence des colonies de maternité du petit rhinolophe en Franche-Comté

3.1. Introduction

Le développement de l'urbanisation, l'expansion agricole ainsi que la densification des réseaux d'infrastructures de transport sont à l'origine de la fragmentation des habitats et contribuent par conséquent au déclin de certaines espèces (Saunders *et al.* 1991). La fragmentation progressive des taches d'habitat entraîne une diminution de la connectivité structurelle et fonctionnelle essentielles pour le maintien des populations (Tischendorf et Fahrig 2000b) entre ces taches et limite le déplacement des individus (Forman et Alexander 1998). En particulier, les grandes infrastructures de transport telles que les autoroutes ou voies ferrées à grande vitesse peuvent jouer un rôle de barrière à ces déplacements lorsqu'elles deviennent infranchissables pour les individus (Fu *et al.* 2010; Shepard *et al.* 2008). Les petites infrastructures plus facilement franchissables affectent directement la mortalité des organismes en raison des risques de collisions occasionnées par le trafic.

Il est donc recommandé que les projets d'aménagement du territoire considèrent ces processus écologiques lors de leur mise en œuvre (Forman 2000). En France, depuis 1982, la loi d'orientation des transports intérieurs (LOTI) contraint tout projet important d'aménagement routier ou ferroviaire à réaliser une étude d'impact environnemental durant la création du projet, et un bilan cinq ans après la mise en service de l'infrastructure. Cependant, les bilans LOTI sont limités à une zone proche du tracé, le plus souvent à 800 m de part et d'autre. Or ces bilans effectués à l'échelle locale de l'infrastructure sont inadaptés dans le cadre de l'analyse de processus écologiques à plus large échelle, comme la connectivité paysagère concernant les espèces dispersant à plus de 800 mètres.

Plusieurs études rapportent des effets négatifs des infrastructures de transport (routes et voies ferrées) sur l'activité de chasse et sur la diversité des espèces de chauves-souris insectivores (Berthinussen et Altringham 2012) ainsi qu'une augmentation de la mortalité (Lesinski 2008; Lesinski *et al.* 2011). Il a été mis en évidence que les autoroutes forment une barrière aux mouvements des chauves-souris et en particulier aux espèces insectivores ayant un vol lent et bas comme le petit rhinolophe, qui s'avèrent par conséquent sensible au franchissement d'infrastructure de transport (Abbott *et al.* 2012; Kerth et Melber 2009). Du fait du risque d'impact et par la destruction d'éléments boisés sur de larges distances qui s'avèrent difficilement franchissables par les individus, nous supposons que la LGV Rhin-Rhône agit comme une barrière aux déplacements et peut potentiellement avoir une répercussion sur la probabilité de présence de gîte de petit rhinolophe à proximité.

La mesure à large échelle de l'impact d'infrastructure de transport sur la connectivité fonctionnelle nécessite une approche modélisatrice. La méthode des graphes paysagers offre un outil adéquat pour la modélisation des réseaux écologiques grâce aux calculs de métriques reflétant le degré de connectivité à différentes échelles spatiales (Urban *et al.* 2009). Ces métriques sont intégrées dans un modèle de distribution d'espèce dont la probabilité de présence est évaluée avant et après l'implémentation de l'infrastructure. La portée spatiale de l'impact d'infrastructure de transport sur la présence d'espèces animales est ainsi estimée de façon diachronique puis cartographiée. L'ensemble de cette méthode a été développée à partir d'une espèce virtuelle par Girardet *et al.* (2013) et appliquée sur la présence de la rainette arboricole (*Hyla arborea*) en Franche-Comté par Clauzel *et al.* (2013) dans le cadre du projet de recherche GRAPHAB. Suivant ces deux études, nous avons appliqué la même méthode sur la présence de gîte de maternité du petit rhinolophe.

3.2. Matériel et Méthodes

3.2.1. La LGV Rhin-Rhône

Ce projet d'aménagement connecte les réseaux ferrés existants du nord et du sud de l'Europe de l'ouest et est composé de trois branches (Figure 27).

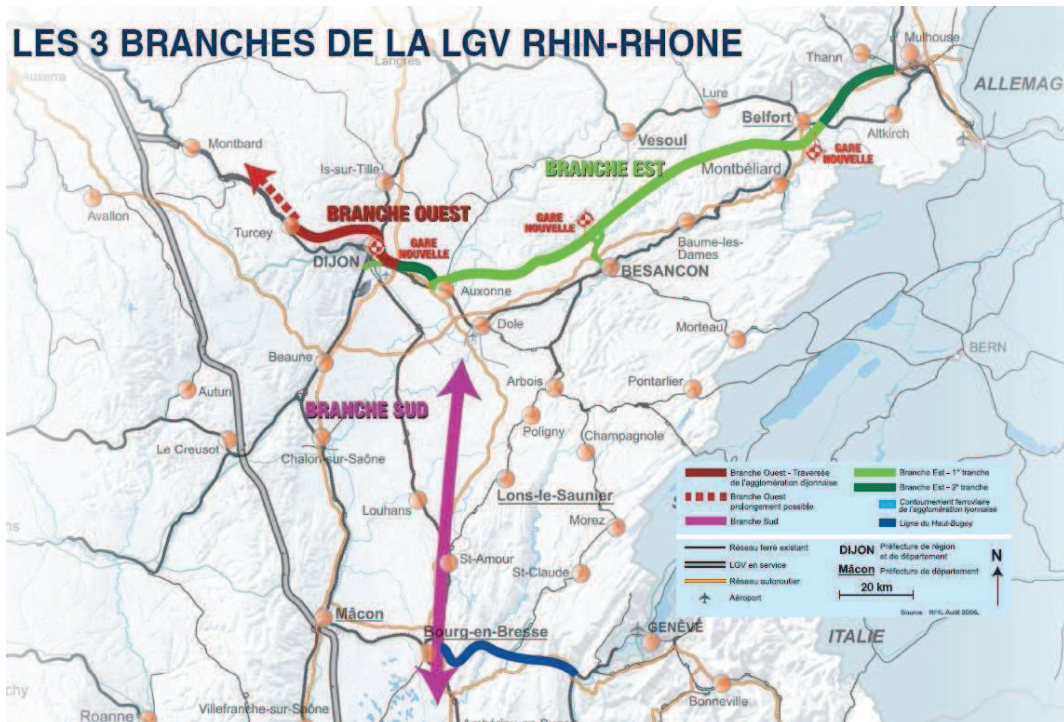


Figure 27 : Tracé des trois branches de la LGV Rhin-Rhône
(source : Réseau ferré de France)

Seule la branche « est » est en service depuis décembre 2011 après 4 ans de travaux. Cette infrastructure de 140 km de long et 30 m de large en moyenne traverse la région de Franche-Comté d'est en ouest en suivant la vallée de l'Ognon (Figure 28).



Figure 28 : Construction de la branche est de la LGV Rhin-Rhône
Cette photo illustre la destruction et la fragmentation de l'habitat forestier engendrées par la mise en place de l'infrastructure (source : Réseau ferré de France).

3.2.2. Des données au modèle de distribution

La cartographie de la zone d'étude, la localisation des gîtes de maternité ainsi que la procédure utilisée pour aboutir au modèle de distribution sélectionné étant les mêmes que celles utilisées dans la première partie de l'analyse, elles ne seront pas redéfinies ici (*cf.* page 55). Le modèle utilisé pour définir la probabilité de présence de l'espèce est le modèle de distribution constitué des variables de connectivité R et T mesurées d'après le graphe paysager précédemment construit (*cf.* page 61) et de la surface de bâti calculée dans un rayon de 600 m autour des points d'analyse.

3.2.3. Analyse diachronique de la mise en place de la LGV

D'après la procédure publiée par Girardet *et al.* (2013), une fois que le modèle prédictif de la présence de l'espèce avant la mise en place de l'infrastructure est validé, celui-ci peut être généralisé à l'ensemble de la zone d'étude afin de cartographier la probabilité de présence de l'espèce au temps t . Cependant, dans cette étude, la généralisation du modèle a été limitée aux points d'analyse du modèle (points de présences et pseudo-absences) dans la mesure où le modèle porte strictement sur les gîtes et non sur la présence plus générale de l'espèce.

Une seconde cartographie de l'occupation du sol est ensuite réalisée en ajoutant le tracé de la LGV Rhin-Rhône à la première cartographie. Afin que la LGV soit considérée comme une barrière infranchissable aux individus, une valeur de coût de 100 000 lui est attribuée. Un nouveau graphe paysager est construit en utilisant les mêmes paramètres que précédemment et les métriques de connectivité R et T sont recalculées ainsi que la surface de bâti d'après cette nouvelle cartographie. Le modèle prédictif de la présence de gîte est à nouveau utilisé à partir des mêmes données de présence et de ces nouvelles variables paysagères décrivant le temps $t+1$. Nous disposons ainsi de données diachroniques, décrivant un modèle de distribution de l'espèce avant (p_t) et après (p_{t+1}) l'installation de l'infrastructure de transport. Le taux de variation de la probabilité de présence est calculé à l'aide de la formule suivante : $\Delta p = (p_{t+1} - p_t) / p_t$ sur les points de présence de gîte. Ce taux représente la diminution potentielle de l'espèce d'après le modèle.

La cartographie de Δp permet d'identifier les gîtes affectés par la mise en place de la LGV. Afin d'éviter d'appliquer cette procédure à des zones où l'espèce était absente à l'état initial, seuls les points de présence de gîte dont la probabilité était supérieure à 50% avant

l'installation de l'infrastructure sont sélectionnés. L'étendue spatiale de l'impact est définie en mettant en relation le taux de variation de la présence de gîte avec la distance à l'infrastructure. Un modèle de régression est ensuite ajusté à l'aide d'une fonction exponentielle qui permet de déterminer la distance d'impact potentiel de la mise en place de l'infrastructure en considérant une perte de probabilité de 5%. Nous posons l'hypothèse que l'impact décroît avec la distance d'éloignement à l'infrastructure.

3.3. Résultats

3.3.1. Variation de la probabilité de présence de gîte de maternité de petits rhinolophes

La diminution de probabilité de présence de gîte de maternité oscille entre 0 et 16% après l'installation de la LGV (seul un point est à 40% de perte de probabilité de présence). Spatialement, l'impact le plus fort n'est pas localisé à proximité de la ligne TGV mais sur des gîtes situés à une distance de plusieurs kilomètres de l'infrastructure, excepté pour le point dont la perte de probabilité de présence est de 40% qui est très proche de la ligne (Figure 29).

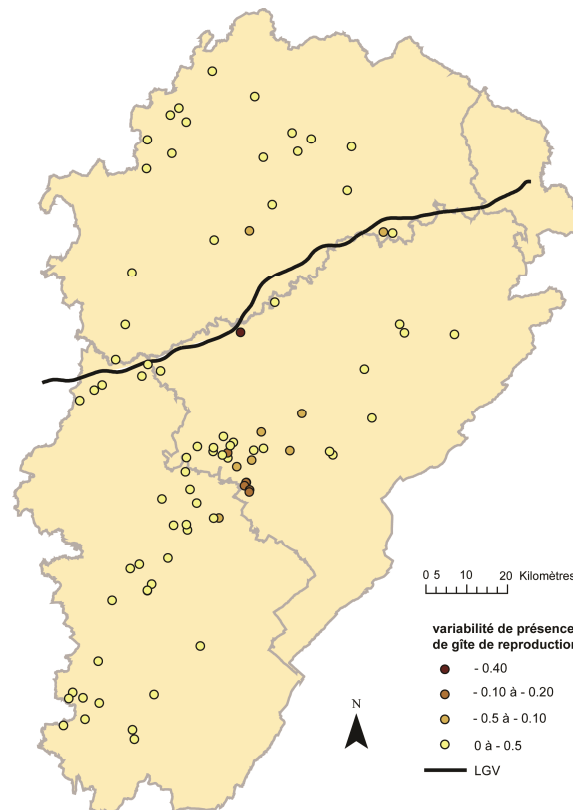


Figure 29 : Carte de la variabilité de la probabilité de présence de gîte de maternité après la mise en place de la LGV

3.3.2. Distance d'impact de la LGV sur la probabilité de présence de gîte

La distance d'impact de la LGV sur la probabilité de présence de gîte de maternité du petit rhinolophe est de 22 km lorsque l'on considère une perte minimale de probabilité de présence de 5% sur les 58 points de présence dont la probabilité de présence avant la mise en place de la LGV est d'au moins 50% (Figure 30).

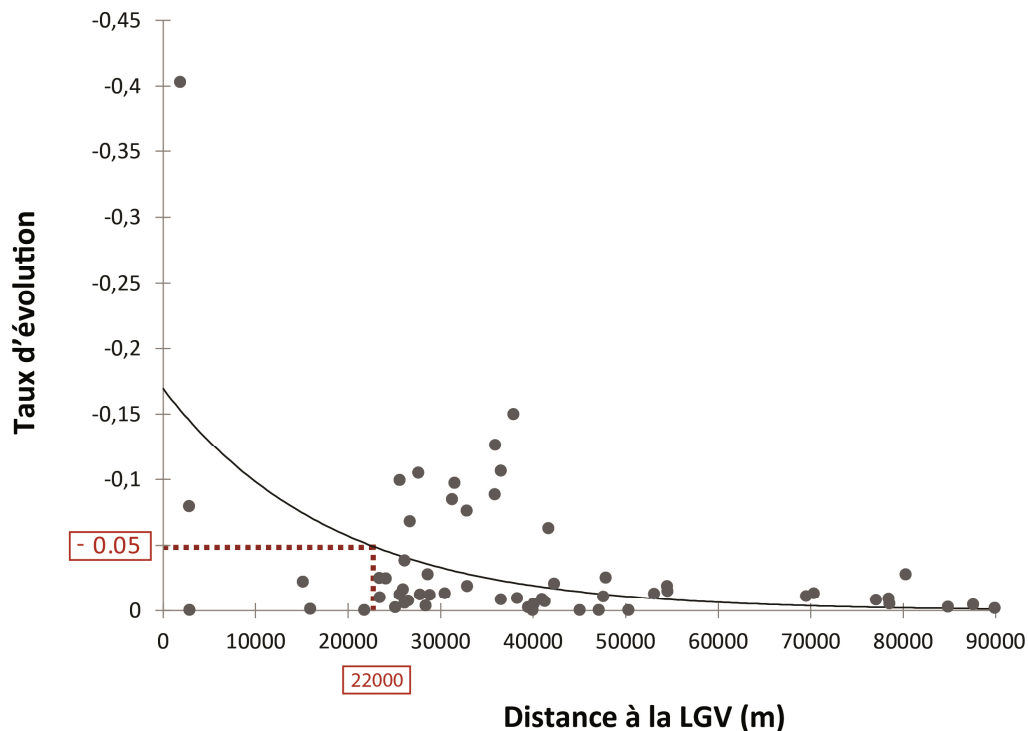


Figure 30 : Variabilité de la probabilité de présence de gîtes de maternité après la mise en place de la LGV en fonction de la distance à l'infrastructure (km)

3.4. Discussion

Du fait des difficultés liées à l'étude des chauves-souris (espèces nocturnes, grande variabilité de comportements de déplacements entre espèces etc), la connaissance de l'impact des infrastructures sur les chauves-souris reste limitée. Cependant les quelques études existantes montrent que la présence de lignes ferroviaires à grande vitesse entraîne la destruction des terrains de chasse, la suppression des éléments linéaires servant de corridors de déplacement aux chauves-souris (haies, alignement d'arbres) et l'augmentation de la mortalité due aux collisions (Nowicki *et al.* 2009). Dans ce contexte, les chauves-souris sont contraintes de trouver de nouvelles zones de chasse accessibles, ce qui oblige les individus à traverser des espaces ouverts défavorables où le risque de prédation est plus important (Ramovš *et al.* 2010; Schofield 1996). Bien qu'aucune étude n'ait quantifié le risque de mortalité lié au passage des trains, nous pouvons supposer que celui-ci augmente lorsque les individus sont contraints de

traverser l'infrastructure, comme cela a été démontré chez d'autres espèces de chauves-souris lors de la traversée de routes (Russell *et al.* 2009; Zurcher *et al.* 2010). Suivant ces différents constats, nous supposons que l'implantation de la LGV engendre une fragmentation des habitats de l'espèce et interrompt la connectivité entre les taches existantes en constituant de vastes zones ouvertes (CPEPESC Franche-Comté 2004).

L'approche utilisée dans cette étude permet d'évaluer l'impact potentiel de la mise en place de la LGV sur la présence de gîte de maternité du petit rhinolophe et de mesurer la distance d'impact de l'infrastructure. L'utilisation de la modélisation du réseau écologique de l'espèce par les graphes paysagers permet d'intégrer des estimations de la connectivité fonctionnelle dans l'analyse. Cette étude prospective est une application particulière de cette méthode par le fait que l'objet d'analyse est le gîte de maternité du petit rhinolophe. La combinaison de zones de chasse favorables et des gîtes d'hivernage situés à proximité des gîtes de maternité n'est donc pas prise en compte ici (Bontadina *et al.* 2001). Les résultats sont par conséquent limités au contexte des gîtes de maternité.

Malgré cette particularité, nos résultats indiquent un impact négatif potentiel de la mise en place de la LGV sur la probabilité de présence de gîte de maternité. La perte de probabilité de présence enregistrée varie de 0 à 16%, excepté pour un gîte situé en bordure de ligne pour lequel la perte de probabilité atteint 40%. Nous avons démontré dans l'analyse présentée précédemment que la présence de ces gîtes de maternité est liée à fois à la disponibilité de zones boisées à proximité des gîtes et à la surface en zones artificialisées, mais elle est également dépendante de l'intégration des gîtes dans un réseau connecté à large échelle spatiale (Tournant *et al.* 2013). Du fait de la construction de la ligne, la surface de zones artificialisées augmente tandis que la surface en éléments boisés diminue à proximité de l'infrastructure. Cet effet local de la ligne n'est pourtant pas visible dans ces résultats car les gîtes localisés à proximité de la ligne enregistrent une très faible perte de probabilité de présence, excepté pour le gîte dont la perte est de 40%. Ceci peut être dû à la définition de la métrique R qui correspond à la surface de forêt de feuillus calculée dans un rayon de 600 m, mesurée en distance euclidienne autour du gîte (Figure 21). Si ce rayon avait été mesuré en distance coût, la surface en forêt disponible de l'autre côté de la ligne n'aurait pas été pris en compte dans le calcul car la ligne est considérée comme infranchissable dans le modèle (avec un coût de 100 000).

Ce gîte mis à part, les plus fortes valeurs de perte de probabilité de présence dues à l'implantation de la ligne sont localisées à une grande distance de la ligne. En effet, l'impact de

la LGV se mesure jusqu'à 22 km de part et d'autre lorsque l'on considère une perte de probabilité de présence minimale de 5%. Cet impact à longue distance de la LGV peut être imputé à l'intégration de la variable de connectivité à large échelle T dans le modèle de distribution. La présence de gîte de maternité étant favorisée par la connexion au réseau d'habitat à longue distance, la modification de ce réseau entraînée par l'installation de la LGV pourrait agir sur des gîtes localisés à plusieurs dizaines de kilomètres de la ligne. D'autre part, les gîtes localisés au nord de la ligne sont moins affectés que les gîtes situés au sud. Cela peut notamment s'expliquer par le fait que le réseau écologique tel qu'il est modélisé par le graphe paysager est plus connecté au sud qu'au nord. Sur la figure 25 représentant l'ensemble du réseau de la zone d'étude, le nombre de composantes est plus important dans la partie nord de la zone, le réseau est plus dense dans la partie centrale, là où l'impact potentiel de la LGV est le plus important.

Cette analyse suggère que la portée spatiale des mesures d'impact incluses dans la législation (bilan LOTI) ne sont pas suffisantes dans le cadre de l'étude de l'impact d'une infrastructure sur la connectivité paysagère pour des espèces dispersant à plus de 800 mètres. D'après cette étude prospective, la mise en place de la LGV interrompt la connectivité paysagère dont l'impact peut avoir une répercussion à large échelle sur la présence de gîtes de maternité de l'espèce. A terme, cette rupture de la connectivité peut avoir des conséquences sur la distribution et la structuration spatiale des colonies de petits rhinolophes en isolant les individus.

Bien que cette méthode semble prometteuse pour quantifier l'impact de la mise en place d'une infrastructure de transport, elle reste néanmoins une approche modélisatrice prédictive et nécessite un suivi d'observation de terrain sur le long terme des populations potentiellement menacées afin d'être validée. Toutefois cette approche s'applique en amont de l'installation de ce type d'infrastructure et peut déjà mener à un diagnostic permettant de guider certaines mesures d'aménagement pour atténuer ces effets négatifs potentiels. Il a été démontré notamment dans le cadre d'aménagement routier que l'installation de tunnels souterrains permettait de favoriser le passage des chauves-souris à travers l'infrastructure et ainsi de réduire l'effet barrière (Bach *et al.* 2004; Boonman 2011).

4. Discussion de la première partie

4.1. Relations entre paysage et distribution des gîtes de maternité

Notre étude de l'influence de la connectivité paysagère sur la distribution de gîtes de maternité de petit rhinolophe montre que la composition ainsi que la structure du paysage entourant les gîtes jouent un rôle important pour prédire la présence de colonies de maternité à différentes échelles spatiales. A l'échelle locale, la surface de zones artificialisées (bâties, routes, voies ferrées) et la surface d'éléments boisés (forêts de feuillus et de conifères, haies, vergers) influencent la présence de ces gîtes lorsqu'ils sont localisés à proximité (dans un voisinage de 600 m). Cependant, l'étude sur l'impact de la mise en place de la LGV a également mis en évidence le rôle de la connectivité des habitats de cette espèce dans la distribution des gîtes de maternité à large échelle. En effet, ces gîtes sont intégrés dans un réseau à large échelle, reliant les zones potentiellement favorables à l'installation d'une colonie facilement accessibles par les individus.

L'importance de la présence d'éléments boisés à proximité des gîtes

Nos résultats confirment les études réalisées sur de nombreuses autres espèces de chauves-souris insectivores qui montrent que la présence des gîtes de maternité est positivement associée à la présence d'éléments boisés dans lesquels les individus trouvent leur nourriture. Cette caractéristique est observée dans différents contextes paysagers. Dans leur étude, Jaberg et Guisan (2001) indiquent que la présence de couvert végétal naturel (forêts, arbres isolés, haies) est une variable prédictive de la distribution de quatre espèces (*Vespertilio murinus*, *P. nathusii*, *Eptesicus nilssoni* et *Myotis myotis*) en Suisse. Boughey *et al.* (2011a) font le même constat sur la présence de gîte de six espèces au Royaume-Uni (*P. pipistrellus*, *P. pygmaeus*, *R. hipposideros*, *Plecotus auritus*, *E. serotinus* et *M. nattereri*). Les gîtes de ces espèces sont localisés dans des zones où la proportion de forêt est importante. Cette influence est également confirmée par Mehr *et al.* (2011) dont les travaux réalisés en Autriche montrent que sur 22 espèces étudiées, la présence de la moitié de ces espèces dépend positivement de la présence en éléments boisés définis par les forêts de feuillus, de conifères ou mixtes (*E. nilssonii*, *E. serotinus*, *M. bechsteinii*, *M. myotis*, *M. nattereri*, *N. leisleri*, *N. noctula*, *P. austriacus*, *P. nathusii*, *P. pipistrellus*). De plus, les auteurs montrent que la proportion, même minime (>5%) de forêt mixte ou de feuillus a une influence positive sur la richesse spécifique en chauves-souris.

Ainsi, pour les espèces de chauves-souris qui se nourrissent principalement en forêt, la fragmentation de cet habitat autour des gîtes est susceptible d'avoir d'importantes conséquences négatives sur leur comportement de chasse. En effet, la fragmentation des habitats diminue la surface disponible en habitat favorable et altère l'utilisation de l'espace par les organismes (Lindenmayer et Fischer 2006). Les individus doivent se déplacer sur de plus grandes distances pour trouver de la nourriture. Reiter *et al.* (2013) ont publié une étude sur l'influence de la fragmentation de l'habitat forestier chez le petit rhinolophe et comparent le comportement de chasse des individus dans un paysage fragmenté et un paysage non fragmenté. Les auteurs n'ont pas observé de différence dans la taille de la zone de chasse utilisée par un individu entre les deux types de paysage, fragmenté ou non. La surface de chasse des individus étant la même dans les deux milieux, les chauves-souris ne sont donc pas capables de compenser les conséquences de la réduction de l'habitat forestier en adaptant leur distance de vol. Les auteurs ont cependant mis en évidence une différence de taille de zone de chasse globale (sur l'ensemble des individus de la colonie) entre les deux zones d'étude. La surface en habitat forestier étant moins disponible dans le paysage fragmenté, les individus se répartissent sur un territoire de chasse plus large que dans le paysage non fragmenté où les zones de chasse des chauves-souris se chevauchent. Bien que les individus de la colonie en paysage fragmenté soient moins nombreux que les individus de la colonie en paysage non fragmenté, Reiter *et al.* (2013) observent que l'activité de chasse des individus est plus concentrée à certains endroits dans le paysage fragmenté car ils sont contraints d'exploiter les zones de chasse disponibles. Les auteurs soulignent de ce fait que la sélection de la localisation du gîte est décisive pour permettre à chaque individu de la colonie de pouvoir chasser. Nous avons montré dans notre étude que la taille de la colonie est dépendante de la surface en éléments boisés autour du gîte. Plus la surface est importante et plus le nombre d'individus dans la colonie est élevé. La fragmentation de l'habitat forestier entraînant une réduction de la surface favorable aux zones de chasse du petit rhinolophe a par conséquent probablement une incidence sur le nombre d'individus présents dans la colonie.

L'accès aux zones de chasse depuis le gîte

Outre la surface en forêt disponible, la distance à parcourir par les individus pour atteindre ces taches de forêt est également un élément non négligeable à prendre en compte pour prédire la présence de gîtes de maternité de petits rhinolophes et plus généralement d'espèces de chauves-souris insectivores installant leur gîte dans des structures anthropiques. Boughey *et al.*

(2011a) indiquent que sur les six espèces de chauves-souris observées, cinq espèces (dont le petit rhinolophe) sélectionnent des gîtes proches des forêts de feuillus, probablement pour maximiser l'efficacité de chasse. Malgré cette association, aucune des six espèces étudiées ne montre de relation entre la localisation du gîte et la taille des taches de forêt les plus proches. Les auteurs expliquent cette observation par le fait que les petites taches de forêt apportent suffisamment de ressources pour le nombre d'individus présents dans les colonies de chacune de ces espèces. Cet effet a été plus largement investigué chez des espèces tropicales en relation avec la déforestation (Gorresen *et al.* 2005; Klingbeil et Willig 2009; Loayza et Loiselle 2009). Gorresen et Willig (2004) montrent que l'abondance des espèces de chauves-souris et la structure des assemblages sont influencées par la taille et la densité des taches de forêt. En Europe, Lesinski *et al.* (2007) ont démontré que l'effet de la taille des taches de forêt sur la présence d'espèces de chauves-souris en Pologne varie en fonction de l'espèce considérée. Les espèces se logeant dans les troncs d'arbres sont plus affectées par la diminution des taches que les espèces résidant dans le bâti. En Ecosse, Fuentes-Montemayor *et al.* (2013) observent que l'activité de chasse est plus intense autour des petites taches fragmentées de forêt chez six espèces (*P. pygmaeus*, *P. pipistrellus*, *P. auritus*, *M. nattereri*, *M. daubentonii* et *M. mystacinus*). De la même façon que dans les travaux de Reiter *et al.* (2013), cette constatation reflète une utilisation plus intense des taches de forêt dans un paysage où cet habitat est rare. Chez les chauves-souris, le vol est l'une des activités les plus importantes en termes de dépenses énergétiques (Thomas et Suthers 1972). Les individus choisissent d'utiliser plus intensément les ressources à proximité plutôt que de se déplacer sur de longues distances pour atteindre les taches éloignées. Les résultats de notre étude confirment ces observations car le meilleur modèle sélectionné permettant de déterminer la présence de gîte de maternité considère la surface de forêt et de bâti dans un voisinage de 600 m autour du gîte.

Frey-Ehrenbold *et al.* (2013) ont testé s'il existait une différence dans l'activité de 26 espèces de chauves-souris en fonction de la forme (linéaire ou circulaire) des taches de forêt. Seule une espèce (*P. pipistrellus*) semble avoir un comportement de chasse différent selon la forme des taches de forêt. Les auteurs soulignent que la surface recouverte par les taches de forêt ainsi que l'accès à ces taches sont des éléments essentiels aux chauves-souris pour pouvoir exploiter les ressources qui leur sont nécessaires. En effet, ils montrent que l'activité de chasse des espèces ayant les mêmes caractéristiques d'émission d'ultrason que le petit rhinolophe diminue avec la perte de connectivité. De nombreuses espèces évitent de voler en espaces ouverts (Lumsden et Bennett 2005; Stone *et al.* 2009; Walsh et Harris 1996), ce que confirme

notre étude par l'impact négatif des espaces ouverts définis par les sols nus et prairies sur la présence de gîte. Ces auteurs observent également que l'activité des individus est deux fois plus importante autour des éléments paysagers (haies, lisières boisées, arbres isolés) que dans les habitats ouverts (prairies, cultures, bâti). Ces éléments linéaires boisés sont utilisés par les chauves-souris pour se repérer lors de leur déplacement (Limpens et Kapteyn 1991; Verboom et Huitema 1997), comme sources de proies, comme abris contre le vent et comme protection contre les prédateurs (Gruebler *et al.* 2008; Morris *et al.* 2010). La perte de ces éléments paysagers structurels influence l'abondance, la distribution et l'activité des chauves-souris (Boughey *et al.* 2011b).

Lookingbill *et al.* (2010) se sont intéressés à l'activité de chasse autour des points d'eau de 10 espèces de chauves-souris présentes dans l'est des Etats-Unis. De la même façon que dans notre analyse, les auteurs ont calculé la surface de quatre classes d'occupation du sol (urbain, forêt, eau et espaces ouverts) autour de chaque point d'enregistrement acoustique dans des voisinages de cinq rayons différents (de 100 à 500 m). Ils ont également quantifié le degré de connectivité de ces points d'eau à partir d'indices calculés à l'aide de graphes paysagers prenant en compte la distance euclidienne entre ces éléments et la taille de la zone de chasse de chaque espèce. Quatre espèces sont positivement associées à la présence de points d'eau et le degré de connectivité de ces éléments est également une variable explicative de la distribution de ces espèces. Cependant, si les points d'eau sont susceptibles d'être un déterminant important dans l'activité de chasse des espèces de chauves-souris à cause de la forte abondance en insectes, cette relation n'a pas été démontrée dans notre cas ce qui suggère que la présence et non la surface en eau est importante à considérer.

Ces différentes études sur les chauves-souris mettent en évidence l'importance de la prise en compte de la composition et de la configuration des éléments paysagers dans la présence des espèces de chauves-souris. Elles se limitent cependant à caractériser l'environnement local des colonies autour du gîte ou des éléments paysagers considérés (d'une centaine de mètres à quelques kilomètres). Ces études ont permis d'établir une relation significative des populations de chauves-souris au réseau de gîtes localisés dans l'environnement urbain (Carter et Feldhamer 2005; Fortuna *et al.* 2009; Rhodes *et al.* 2006). Cependant, pour déterminer les facteurs régissant la distribution des gîtes chez les chauves-souris, si les conditions locales sont importantes, l'environnement à plus large échelle doit également être pris en compte. C'est le constat que révèle notre analyse du réseau de gîtes de maternité par les graphes paysagers dans la mesure où meilleur modèle intègre à la fois des métriques de composition et de connectivité

locales (la métrique R quantifiant les terrains de chasse potentiels et la surface urbaine) mais également une métrique de connectivité qui représente le réseau reliant les gîtes à l'échelle régionale (la métrique T).

Les déplacements chez les chauves-souris

D'après des observations de terrain, il arrive que les petits rhinolopes quittent le gîte principal et utilisent des gîtes dits satellites temporairement pour une journée ou deux (Bontadina *et al.* 2002; Holzhaider *et al.* 2002). Ces gîtes sont généralement localisés à proximité des gîtes principaux, à quelques kilomètres. La fonction de ces gîtes n'est pas encore bien définie, certains auteurs supposent qu'ils permettent aux individus de pouvoir faire des pauses lors de leurs activités de chasse ou de se réfugier lorsque les conditions climatiques sont mauvaises (Bontadina *et al.* 2002). Leur accès depuis le gîte principal est donc un paramètre important pour les individus.

Une autre hypothèse pour expliquer l'importance du réseau de gîte chez le petit rhinolope est la dispersion. En effet, pour un nœud du graphe, la métrique T caractérise le potentiel d'une tache d'être traversée par un lien reliant d'autres taches intégrées dans le réseau. Ces liens représentant les déplacements des individus en fonction de leur capacité, un nœud caractérisé par une forte valeur pour cette métrique est supposé être traversé par un important flux d'individus provenant de l'ensemble du réseau. Ainsi l'intégration de la métrique de connectivité T dans le modèle de distribution indique que la présence de gîte de maternité dépend des flux d'individus s'effectuant à large échelle. Cependant, très peu d'informations existent sur le comportement de dispersion de cette espèce. Seule la fidélité des femelles à leur gîte de maternité a été observée (Schofield 1996). Des études de bagages et des analyses moléculaires ont mis en évidence chez d'autres espèces que seuls les mâles dispersent, les femelles sont philopatriques (*e.g.* *N. noctula* en Europe ; Petit *et al.* 2001; Petit et Mayer 2000). A l'inverse, Rivers *et al.* (2006) montrent que les mâles et femelles de *M. nattereri* sont philopatriques et donc que les événements de dispersion sont rares. Chez de nombreuses espèces quelques mois avant l'hibernation, les individus mâles et femelles se regroupent dans des sites souterrains (caves, mines etc.). C'est le comportement dit de « *swarming* » (Davis 1964) identifié comme un événement de reproduction permettant les flux de gènes entre individus provenant de colonies différentes (Kerth *et al.* 2003; Rivers *et al.* 2005; Veith *et al.* 2004). Ainsi pour les espèces qui dispersent pas ou peu, c'est le seul moment de l'année où les

individus se mélangent. L'accès à ces sites depuis plusieurs gîtes de maternité est donc primordial et pourrait également expliquer la distribution de ces gîtes le long d'un réseau connecté permettant aux individus de rejoindre ces sites.

4.2. Implications en conservation

Les chauves-souris font partie des espèces cibles en gestion de la conservation car elles fournissent d'importants services écosystémiques (détaillés dans l'introduction) et que l'ensemble des espèces dans le monde a décliné (O'Shea et Bogan 2003). Les chauves-souris ont besoin d'un paysage mixte leur fournissant des gîtes et des zones de chasse. D'après notre étude, la présence d'éléments paysagers favorables à l'activité de chasse des chauves-souris à proximité de leur gîte ainsi que l'intégration de ces gîtes à un réseau connecté à plus large échelle sont des paramètres importants pour comprendre la distribution du petit rhinolophe. La connaissance des conditions écologiques nécessaires à la présence de cette espèce permet de mettre en place des mesures de conservation et de protection plus efficaces.

Favoriser la connectivité paysagère

Nous pouvons donc supposer que la réduction et la fragmentation des éléments boisés aux alentours des gîtes impactent négativement les individus des colonies, comme cela a déjà été démontré chez d'autres espèces de chauves-souris. Le petit rhinolophe est une espèce ayant un faible taux de reproduction, les effets négatifs de la fragmentation de ces habitats favorables ne sont visibles qu'après plusieurs années (Reiter *et al.* 2013). De ce fait, les mesures de conservation et de minimisation des impacts négatifs sur cette espèce ainsi que le suivi des colonies doit prendre en compte les effets à long terme de la perte et la fragmentation de l'habitat forestier. Henry *et al.* (2010) confirment qu'une analyse sur le long terme est nécessaire pour mesurer l'étendue des effets de la fragmentation sur la richesse spécifique des chauves-souris en milieu tropical. Les modifications de la richesse spécifique en réponse à la fragmentation apparaissent de manière graduelle sur une période d'étude des assemblages de chauves-souris de plus de 10 ans.

Un grand nombre d'espèces de chauves-souris sont positivement associées à la présence de forêt de feuillus. La création d'éléments boisés et la gestion des forêts apparaît donc comme essentielles pour améliorer la qualité des habitats des chauves-souris. Boughey *et al.* (2011a)

ont observé que le plus grand impact de l'accroissement de la surface en forêt de feuillus sur l'activité des chauves-souris est enregistré dans les paysages où la proportion de forêt initiale variait entre 0 et 20%. Les espèces observées dans cette étude bénéficient de la création d'un réseau étendu de taches de forêt intégrant des petites taches dans des paysages où le couvert végétal est restreint.

Les mesures de conservation doivent être entreprises à proximité du gîte. Dans le cas du petit rhinolophe, nos résultats indiquent que ces efforts sont à réaliser dans un voisinage de 2,5 km autour du gîte. Ces recommandations sont en accord avec les études de Reiter *et al.* (2013) et de Bontadina *et al.* (2002) qui préconisent également des efforts de protection dans un rayon de 2,5 km autour du gîte, distance qui correspond à la distance moyenne parcourue quotidiennement par les individus pour chasser. Ces deux auteurs spécifient que la quantité de forêt doit être maintenue et de préférence augmentée dans un rayon de 600 m du gîte, distance pour laquelle notre modèle est le plus pertinent pour expliquer la distribution des gîtes de maternité chez cette espèce.

Le maintien des chauves-souris est également dépendant de la présence d'éléments paysagers structuraux tels que les haies, assurant la fonction de « *stepping stone* » entre taches de forêt ou entre le gîte et les zones de chasse. Bien que notre étude n'ait pas mis en évidence l'importance de ces éléments dans la distribution des gîtes, les chemins de moindre coût intégrés dans le graphe paysagers empruntent ces éléments considérés comme neutres (haies, vergers) ou favorables (lisières de forêts de feuillus et de conifères) aux déplacements des individus pour relier les gîtes potentiels entre eux. La conservation de ces éléments structuraux est donc essentielle au maintien de la connectivité des habitats du petit rhinolophe et de nouveaux éléments doivent être aménagés si possible afin d'améliorer cette connectivité. Ceci est particulièrement vrai dans un contexte agricole où la surface des espaces ouverts augmente du fait du remembrement des parcelles notamment. Frey-Ehrenbold *et al.* (2013) suggèrent que la réintroduction d'éléments structurels devrait être planifiée dans les plans agroenvironnementaux pour permettre d'indemniser les agriculteurs de la perte de revenus engendrés par la mise en place de mesures de protection de la biodiversité. La proximité au gîte des nouveaux éléments créés est également à prendre en compte afin de constituer des corridors et faciliter ainsi les déplacements des individus (Frey-Ehrenbold *et al.* 2013; Reiter *et al.* 2013).

Améliorer la qualité des habitats des gîtes de maternité

De nombreuses espèces de chauves-souris installent leur gîte de maternité dans du bâti, généralement dans les greniers ou caves (Altringham *et al.* 1996). Du fait de l'expansion de l'urbanisation, ces zones doivent également être prises en compte lors de la mise en place de stratégies de gestion des chauves-souris (Mehr *et al.* 2011). Les zones urbaines sont des habitats souvent négligés et des précautions doivent être prises lors de la restauration de certains bâtiments (Jaberg et Guisan 2001). Dans notre étude, bien que le petit rhinolophe s'installe dans des anciens bâtis, la surface urbaine joue un rôle négatif sur la présence de l'espèce. Cette observation peut s'expliquer par la rénovation des anciens bâtiments qui suppriment l'accès aux gîtes et par le fait que les nouvelles constructions qui ne sont pas propices à l'installation d'une colonie soient édifiées en périphérie des zones urbaines. Ce constat a également été réalisé par Hale *et al.* (2012) qui observent que l'augmentation de la densité urbaine influence négativement l'activité des espèces enregistrées. Les auteurs notent également que ces espèces sont sensibles à la composition et à la structure de la forme urbaine. De même, Threlfall *et al.* (2012) démontrent que l'activité des chauves-souris diminue avec l'accroissement de l'urbanisation. Ils rapportent également que les espèces sensibles à l'urbanisation ne sont pas détectées en milieu urbain lorsque la surface végétale recouvre moins de 10% de la surface totale considérée ce qui suggère que les individus ne se déplacent pas à travers les zones urbanisées même si des éléments boisés favorables sont présents mais isolés. Les auteurs recommandent donc de prévenir la perte d'éléments boisés en zone urbaine comme stratégie pour maintenir les espèces sensibles à l'urbanisation.

Analyser l'impact de grandes infrastructures

Notre étude prospective sur l'impact potentiel de la mise en place de la LGV laisse supposer que la mise en place de grandes infrastructures de transport joue un rôle négatif sur la probabilité de présence de gîte de maternité du petit rhinolophe. Cet effet est observé à large échelle, sur des colonies présentes à plusieurs dizaines de kilomètres de la ligne du fait de la rupture de la connectivité engendrée par l'installation de l'infrastructure. De tels aménagements modifient non seulement l'environnement local mais également les relations qui existent entre les différentes colonies. Ce type d'analyse prédictive est donc utile en amont de la mise en place de ces infrastructures pour modéliser l'impact potentiel sur la probabilité de présence d'espèce à une large échelle spatiale afin d'éviter d'isoler les populations. Dans le cas d'infrastructures

déjà présentes, ces analyses peuvent aider à la mise en œuvre de mesures d'atténuation de cet impact en essayant de reconnecter les populations (les colonies dans le cas des chauves-souris) par l'intermédiaire de passages à faune par exemple. Dans le cas présent, le modèle proposé devra néanmoins être validé en confrontant ses prédictions aux observations qui seront effectuées dans les années suivant la mise en place de l'infrastructure.

L'ensemble de ces recommandations repose à la fois sur les résultats que nous avons obtenus dans notre étude et également sur d'autres travaux relatifs à d'autres espèces de chauves-souris qui corroborent ces résultats. Ainsi ces directives peuvent s'appliquer non seulement à la conservation du petit rhinolophe mais également à d'autres espèces de chauves-souris insectivores dont le comportement est similaire à cette espèce.

4.3. Apport des graphes paysagers dans la modélisation de la connectivité paysagère

La connaissance approfondie de la distribution des espèces a un intérêt majeur en biologie de la conservation car elle permet de produire des cartes de distribution qui sont utilisées par les biologistes à la fois pour évaluer le statut de protection d'une espèce, pour constituer les listes rouges ou pour déterminer les zones à forte valeur biologique (Jaberg et Guisan 2001). Cependant déterminer la distribution des chauves-souris est un défi considérable : les études de populations de chauves-souris sont difficiles à mettre en place à cause de leur activité nocturne, de leur large domaine vital et des problèmes d'identification des espèces (Walsh et Harris 1996). Pour pallier ces difficultés, les relations espèces-habitat peuvent être modélisées pour prédire la distribution des espèces à partir de variables paysagère définies (Guisan et Zimmermann 2000). De telles approches ont été utilisées sur des problématiques de conservation à large échelle pour prédire la présence et l'absence d'espèce dans des zones difficiles d'accès, pour évaluer l'impact des changements climatiques ou d'aménagement du paysage et pour améliorer la compréhension des processus écologiques se produisant à large échelle (Franklin et Miller 2009). Nous montrons dans cette étude que dans le cadre de la mise en place d'infrastructure de transport, le modèle de distribution peut également être utilisé de façon diachronique pour évaluer l'impact de la modification du paysage sur la probabilité de présence d'une espèce par les graphes paysagers.

Modéliser un réseau paysager complexe

La théorie des graphes a largement été utilisée pour visualiser et étudier la structure et les propriétés de différents types de réseaux (Galpern *et al.* 2011; Luque *et al.* 2012; Urban *et al.* 2009). Plus particulièrement en écologie du paysage, les graphes paysagers fournissent un outil efficace et performant pour représenter le réseau écologique et estimer les relations entre la connectivité paysagère et la présence d'espèces dans un paysage hétérogène (Fall *et al.* 2007; Minor et Urban 2007; Saura et Pascual-Hortal 2007). Cependant, une étape de validation est nécessaire afin d'évaluer la pertinence du réseau modélisé par le graphe. Cette validation suppose que certaines propriétés du graphe soient mises en relation avec des données empiriques (Galpern et Manseau 2013). Cette validation peut être réalisée dans le cadre d'un modèle de distribution d'espèce pour lequel des données d'abondance des organismes ou de présence-absence sont utilisées pour valider des graphes (Andersson et Bodin 2009; Awade *et al.* 2012). L'objectif de ces validations étant de vérifier si la distribution de ces données est dépendante de la structure du graphe créé. Ainsi à partir de la construction de graphes paysagers basés sur la capacité de dispersion des individus, Awade et Metzger (2008) montrent que les variations de présence et d'abondance de deux espèces d'oiseaux forestiers (*Thamnophilus caerulescens* et *Basileuterus culicivorus*) sont mieux expliquées par des modèles tenant compte de la connectivité fonctionnelle, comparés à des modèles intégrant uniquement la taille des taches de forêt et la distance entre ces taches. Chez les chauves-souris, les études sur les variables paysagères déterminant la distribution des espèces se sont particulièrement intéressées à l'environnement local des gîtes de maternité en analysant l'impact de la présence d'éléments structurels pouvant servir de corridors de déplacements aux individus (Boughey *et al.* 2011b; Frey-Ehrenbold *et al.* 2013; Hale *et al.* 2012; Reiter *et al.* 2013). La modélisation du réseau écologique d'espèce par les graphes paysagers implique de prendre en compte les éléments du paysage influençant les déplacements des individus. Par conséquent, dans le cas des chauves-souris, les éléments de petite taille ou de forme linéaires (haies, routes, cours d'eau) doivent être intégrés dans ces modèles, ce qui impose l'utilisation de données cartographiques à haute résolution spatiale. Cependant des études soulignent l'importance de l'intégration des gîtes dans un réseau à large échelle pour le maintien des colonies (Fortuna *et al.* 2009; Rhodes *et al.* 2006) et concluent sur la nécessité de considérer de multiples échelles spatiales (Lundy *et al.* 2012). L'utilisation des graphes paysagers dans ce contexte semble donc être un bon compromis car cette méthode permet de modéliser le paysage à une large échelle et d'extraire des métriques

de connectivité représentant la connectivité à l'échelle des taches d'habitat, d'un groupe de taches et de l'ensemble du réseau de taches.

Le problème de la définition des nœuds pour les espèces utilisant plusieurs types d'habitats

L'utilisation des graphes paysagers repose également sur la capacité à définir les nœuds et les liens du graphe. Cela suppose d'une part de pouvoir délimiter les taches d'habitat puis de définir les connexions fonctionnelles entre ces taches. La délimitation des taches est aisée lorsque l'habitat considéré correspond à une occupation du sol spécifique, distribuée dans une matrice de nature différente. C'est le cas des amphibiens par exemple, pour lesquels les taches d'habitat sont définies par les mares et plans d'eau (Decout *et al.* 2012; Fortuna *et al.* 2006; Ribeiro *et al.* 2011). A l'inverse, la définition de l'habitat est beaucoup plus difficile lorsque les organismes utilisent plusieurs éléments paysagers pour leurs besoins quotidiens. Dans le cas de notre étude précisément, le petit rhinolophe nécessite à la fois du bâti pour l'installation des gîtes et des forêts de feuillus pour chasser. Cependant il a été également observé en train de chasser dans les forêts mixtes et autour des haies (Bontadina *et al.* 2002; Ramovš *et al.* 2010). De ce fait, les taches d'habitat ont ici une définition composite, associant un point au centre des agrégats de bâti et une surface boisée dans un voisinage de 600 m correspondant à la zone d'activité intensive des individus (Bontadina *et al.* 2002; Farcy *et al.* 2009).

La modularité du graphe paysager au travers de la définition des liens

La définition des liens du graphe passe tout d'abord par la définition de la typologie du graphe. Contrairement à un graphe complet dans lequel les relations fonctionnelles existent entre toutes les taches, l'utilisation d'un graphe planaire minimal suppose le fait que les organismes qui se déplacent à partir d'un nœud traversent le graphe via un chemin à travers les taches d'habitat voisines (Urban *et al.* 2009). A partir d'un graphe paysager représentant la connectivité potentielle entre les paires de taches en fonction de leur proximité spatiale, Lookingbill *et al.* (2010) ont mis en évidence l'importance de la prise en compte du degré de connectivité entre les zones humides où les chauves-souris chassent. Cependant, bien que les auteurs tiennent compte de la capacité de déplacement des espèces observées, l'hétérogénéité de la matrice n'est pas considérée dans cette étude car les liens reliant les nœuds sont représentés par des distances euclidiennes. L'utilisation de distances euclidiennes pour représenter les déplacements des organismes est justifiée lorsque l'on considère que la matrice entourant les

taches d'habitat est homogène. Or notre étude étant réalisée à l'échelle de la région Franche-Comté, l'utilisation de chemins de moindre coût pour représenter la résistance de certains éléments paysagers aux déplacements de petits rhinolophes paraît pertinente. Cependant, la définition de la valeur de ces coûts de déplacement en fonction des différents éléments présents dans le paysage est faite de manière arbitraire. Dans leur revue, Zeller *et al.* (2012) indiquent que les méthodes pour quantifier les coûts varient d'une étude à l'autre et qu'il n'existe pas de consensus sur le choix des données environnementales et des approches à utiliser pour les mettre en place. Les auteurs organisent cette variété de méthodes en trois groupes : le premier type d'approche, qui est le plus utilisé, concerne les études basées sur dire d'experts, dans lesquelles les valeurs de coût dérivent de choix en fonction des connaissances de terrain acquises sur le déplacement des organismes (c'est le cas dans notre étude) ; le second type d'approche se réfère aux études dans lesquelles un modèle statistique est confronté à des données biologiques afin de déterminer les valeurs de coût optimales. Il peut s'agir de données d'observations de terrain ou de données génétiques (Bergerot *et al.* 2013; Emaresi *et al.* 2011; Pullinger et Johnson 2010). Enfin, le troisième groupe comprend des études combinant des avis d'experts et/ou des données biologiques permettant de dériver des valeurs alternatives de coût, confrontées à un modèle de sélection pour définir les meilleures valeurs (Janin *et al.* 2009; Richard et Armstrong 2010).

Toutefois, l'utilisation des chemins de moindre coût a récemment été contestée dans la littérature. Etherington et Holland (2013) remettent notamment en cause l'utilisation de la longueur du chemin de moindre coût. Les auteurs montrent que cette mesure est fortement corrélée à la distance euclidienne et par conséquent qu'elle fournit une faible mesure de la connectivité contrairement au chemin calculé en coût cumulé qui tient compte à la fois de la distance et des coûts traversés. L'utilisation de chemins de moindre coût unique est également remise en question car elle ne considère qu'un seul chemin alors que plusieurs chemins ayant des coûts de déplacements similaires sont possibles en fonction de la configuration paysagère (Moilanen 2011; Sawyer *et al.* 2011). La modélisation du réseau paysager par les graphes peut donc ainsi être améliorée par une définition plus réaliste des liens, avec la prise en compte de la théorie des circuits (décrite en introduction ; McRae et Beier 2007) ou de chemins multiples. En effet, Pinto et Keitt (2009) montrent que bien que la longueur du chemin de moindre coût reste identique entre les taches d'habitat considérée, la fragmentation de cet habitat provoque l'apparition de chemins alternatifs et réduit la surface des corridors présents entre ces taches. En revanche cela entraîne des problèmes de temps de calcul lorsque le réseau est très important.

Classiquement les liens fonctionnels entre les taches d'habitat sont définis à partir de la distance de dispersion maximale en dessous de laquelle les nœuds sont considérés comme connectés, ce qui est le cas dans notre étude. D'autres études employant les graphes paysagers utilisent des matrices de probabilités de connectivité entre paires de nœuds construites à partir d'une fonction décroissante de la distance maximale de déplacement (Saura et Pascual-Hortal 2007; Urban et Keitt 2001). Comme toute approche de modélisation, les graphes paysagers reposent sur le réglage de plusieurs paramètres (définition des nœuds, construction des liens, typologie du graphe) qui peuvent influencer l'ensemble des résultats obtenus. Il est important de garder en mémoire que les graphes paysagers sont des modèles du paysage représentant de façon simplifiée les processus écologiques beaucoup plus complexes, observés dans la réalité (Urban *et al.* 2009). Il faut par conséquent prendre avec précaution les résultats issus de l'intégration de métriques de connectivité issues d'un graphe paysager dans un modèle de distribution pour estimer l'impact potentiel d'aménagement du paysage telle que la LGV Rhin-Rhône.

L'intérêt des graphes paysagers dans la compréhension de la structure des populations

Par ailleurs, l'utilisation des graphes paysagers permet de poser des hypothèses concernant la structure spatiale des populations. En effet, un graphe fortement connecté (avec peu de composantes) laisse à penser que le déplacement des individus entre les taches d'habitat n'est pas entravé et peut être ainsi assimilé à une population morcelée (*sensus* Harrison 1994). Tandis qu'un graphe constitué de nombreuses composantes peut traduire l'isolement des populations au sein des différentes taches d'habitats en contraignant fortement le déplacement des individus. Dans notre cas, nous observons 1193 composantes. Pourtant, seulement, quatre de ces composantes (ayant des surfaces variant de 70 à 9000 km²) représentent 80% de l'ensemble de la zone d'étude. Par conséquent, en Franche Comté, nous pouvons supposer que les populations de petits rhinolophes résidant au sein de ces 4 composantes peuvent être considérées comme bien connectées. En revanche, dans les 20% du territoire restant, nous pouvons supposer que la dispersion des individus va être fortement impactée par la structure paysagère. En effet, les nombreuses composantes (1189) traduisent un isolement des taches d'habitat. La caractérisation de la structure génétique des colonies de maternité est nécessaire afin de confirmer si le paysage Franc-Comtois est favorable aux déplacements des petits rhinolophes.

Deuxième partie

Caractérisation de la structure génétique
de colonies de petits rhinolophes et
relations avec la connectivité paysagère

1. Introduction

Le petit rhinolophe est une espèce non-migratrice (Hutterer *et al.* 2005; Schofield 1996) dont les gîtes de maternité et d'hivernage sont éloignés de seulement quelques dizaines de kilomètres en moyenne (Crucitti et Cavalletti 2002; Williams 2001). Les individus hibernent pendant l'hiver en regroupements mixtes dans des gîtes généralement localisés dans des caves ou des souterrains (Crucitti et Cavalletti 2002). Les femelles retournent chaque année à la fin du printemps dans leur gîte natal pour donner naissance à leur petit qu'elles élèvent pendant l'été. Dans de rares cas, certaines femelles hibernent et donnent naissance à leur petit au même endroit et restent donc dans le même gîte tout le long de l'année lorsque les conditions de température et d'hygrométrie le permettent. Les mâles vivent généralement isolés ou en petits groupes de quelques individus pendant l'année (Gaisler 1963). Le comportement de reproduction du petit rhinolophe n'est pas connu, les accouplements interviennent à la fin de l'automne en dehors des gîtes de maternité. La fidélité des femelles à leur gîte natal ainsi que la faible distance séparant les gîtes d'hiver et de reproduction suggèrent des flux de gènes entre colonies proches et par conséquent la présence d'une différenciation génétique entre colonies éloignées.

Nous avons montré dans l'étude précédente que la présence de gîtes de maternité dans du bâti dépend à la fois de l'environnement local du gîte et du réseau de gîtes potentiel à l'échelle régionale. La connectivité est essentielle au maintien des populations car elle permet les flux de gènes nécessaires à l'adaptation des organismes face à leur environnement (Frankham *et al.* 2004). Par conséquent nous présumons que la structure des habitats favorables à cette espèce influence les flux de gènes entre colonies et donc leur différenciation génétique.

L'utilisation de méthodes non-invasives d'échantillonnage génétique à partir du guano a permis d'améliorer les études génétiques sur les chauves-souris (Puechmaille *et al.* 2007; Taberlet *et al.* 1999). Cette alternative au prélèvement de tissus est particulièrement utile lorsque l'on étudie des espèces comme les chauves-souris qui sont sensibles aux perturbations et difficiles à capturer. De plus, les chauves-souris sont souvent présentes dans des endroits difficiles d'accès. Boston *et al.* (2012) ont montré que l'ADN extrait de guano et de tissus de deux espèces de chauves-souris donnent des résultats similaires sur les analyses de génétique des populations malgré la présence d'erreur de génotypage plus fréquente lorsque l'on utilise de l'ADN issu de guano. C'est la méthode que nous avons employé dans cette étude car elle est également plus facile à mettre en place, permet d'échantillonner plus d'individus, et perturbe

moins les individus que la capture. De plus, la méthode d'extraction de l'ADN à partir de guano de petit rhinolophe a précédemment été développée par Puechmaille *et al.* (2007).

2. Objectifs de la deuxième partie

L'objectif de la seconde partie de ce travail de thèse est d'étudier le rôle de la connectivité paysagère sur la structure génétique des colonies de maternité du petit rhinolophe. Dans un premier temps nous avons quantifié à l'aide de huit microsatellites la différenciation génétique de 11 colonies de maternité échantillonnées en 2010 afin de caractériser leur structure génétique. Le petit rhinolophe étant une espèce sédentaire, nous avons ensuite supposé qu'un isolement par la distance entre les colonies peut expliquer le patron de différenciation observé.

Dans un second temps, puisque nous avons montré sur les données acquises en 2010 que la structuration génétique observée n'est pas liée à un isolement par la distance, à partir de l'échantillonnage de 26 colonies de maternité en 2011 nous avons analysé les relations entre la structure génétique de ces colonies et la structure paysagère à travers différentes distances calculées à partir des distances coûts, de la théorie des circuits et des graphes paysagers, intégrant la connectivité des habitats favorables à l'espèce.

3. Genetic structure of a regional population of the lesser horseshoe bat at maternity roosts: female philopatry does not prevent low genetic differentiation

Pierline Tournant, Eve Afonso, Sébastien Roué, Pierre-Emmanuel Baurand, Jean-Christophe Foltête, Patrick Giraudoux

En révision à Journal of heredity

3.1. Abstract

Like many other bat species in Europe, the lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* used to be common throughout north-western Europe, but its numbers have declined dramatically since the 1960s across most of its distribution range. Smaller colonies and restricted gene flow among colonies due to the heterogeneous distribution of roosts may lead to genetic differentiation between distant colonies. Based on eight microsatellite loci, we examined the genetic differentiation and spatial structure of *R. hipposideros* on a regional scale (9000 km²). Bat droppings were collected from 11 maternity roosts harboring colonies composed essentially

by female bats and their offspring. Microsatellite genotyping was used to assign each dropping individually. Genetic differentiation among the maternity roosts was computed using classical methods of population genetics, and genetic structure was assessed by using Bayesian clustering analysis. Our results revealed that genetic variability was evenly distributed throughout the study area (low pairwise F_{ST} values) and emphasized a weak genetic structure within maternity colonies, organized into three spatial clusters. This structure was not concordant with a pattern of isolation by distance. However, despite strong female philopatry to the maternity roost and poor dispersal ability, our results suggest that genetic exchanges occurred between geographically close colonies, probably via male dispersal. Inter-colony gene flow might occur during mating in the fall when females and males meet up before joining their winter roosts.

Keywords: clustering analysis, microsatellite, chiroptera, gene flow

3.2. Introduction

Human activities such as the intensification of agriculture and industry, urban expansion and the development of transport facilities have drastically modified landscapes. Many animal species have declined in numbers and/or are now distributed in landscapes in which their optimal habitat is fragmented (Fahrig 2003). Bat species are particularly sensitive to human-induced changes to ecosystems (Jones *et al.* 2009). The populations of many European bat species have declined in the last 50 years, and most are currently considered to be vulnerable, endangered, or rare (IUCN 2012).

One of the main constraints of landscape disturbances on bats is that they limit the dispersal and foraging movements of individuals between patches of habitat. For example, Kerth and Petit (2005) showed that habitat loss impeded the colonization of empty patches by Bechstein's bats *M. bechsteinii* in Germany and Switzerland. Consequently, bat populations may be spatially fragmented, even to the point at which sub-groups heterogeneously distributed in the landscape become genetically isolated. Rossiter *et al.* (2000) showed that Welsh and English maternity colonies (*i.e.* group of individuals essentially made up of females and their offspring) of greater horseshoe bats *R. ferrumequinum* were genetically isolated from each other. Using mtDNA, Dragu and Borissov (2011) revealed that Romanian and Bulgarian maternity colonies of Mehely's horseshoe bat *R. mehelyi* differed genetically.

The lesser horseshoe bat *R. hipposideros* was once common throughout north-western Europe but has declined during the second half of the twentieth century in various countries including England and Wales, France, Switzerland, Poland, Germany and Belgium (IUCN 2012). This decline has been attributed to various causes such as the extensive use of pesticides, changes in the physical structure of habitats, or loss of roosts, and roost deterioration (Bontadina *et al.* 2001). However populations have been reported to have stabilized in some European countries to which roost conservation efforts have partly contributed (Warren and Witter 2002). This species was categorized as of least concern by the IUCN in 2004 in its European range (IUCN 2012).

R. hipposideros is recognized to be a sedentary species (Hutterer 2005), with winter and maternity roosts located just 5 to 10 kilometers apart (Crucitti and Cavalletti 2002; Hutterer 2005). Individuals hibernate during the winter in mixed-sex groups within roosts commonly located in caves (Crucitti and Cavalletti 2002). Then, females return annually at the end of spring to their natal roost in order to give birth and raise their single young throughout the summer. Males generally live isolated or gather in small groups of three or four individuals throughout the year (Gaisler 1963). Mating take place at the end of the fall in unknown locations. The high affinity that females exhibit for their natal roost, as well as the short distance between winter and maternity roosts, suggest that a genetic differentiation may occur between remote colonies. In this study, our aim was to assess the genetic differentiation among several maternity colonies of *R. hipposideros* scattered across the Franche-Comté region, and to characterize the spatial genetic structure at a regional scale. Taking advantage of the recent development of non-invasive genetic sampling, we collected droppings from 11 maternity roosts and genotyped samples by microsatellite analysis. This alternative to tissue sampling was developed to study animal species that may be sensitive to disturbance and/or difficult to capture (Taberlet *et al.* 1999; Puechmaille *et al.* 2007).

3.3. Material and methods

3.3.1. Dropping collection and storage

The study was conducted in June 2010, a period when most adult females were in maternity roosts, in the Franche-Comté region (47.11 °N, 6.24 °E), eastern France. Location data on maternity roosts were provided by a conservation association (CPEPESC Franche-Comté) which has regularly monitored the number of individuals within roosts in the region for

10 years. Droppings were collected from 11 roosts (Figure 31), all located in churches of small rural villages. Sampling consisted in placing plastic sheets on the ground beneath the main cluster of bats in the roost (Puechmaille *et al.* 2007; (Puechmaille *et al.* 2007; Puechmaille and Petit 2007)). The sheets were left for two weeks to maximize the number of individuals sampled. Forty droppings were randomly collected directly from the plastic sheets in each roost and were placed individually in 2 mL microtubes containing 90° alcohol and then stored at room temperature in a dry room.

The roosts were selected on the basis of their accessibility and the abundance of bats. They were classified into three categories, depending on the average number of individuals in the colony: small (< 20 individuals), medium (20–50 individuals), and large (51–100 individuals). In colonies with fewer than 20 individuals, droppings collection is difficult because individuals can be scattered in the roost and there is no area within the roost to place plastic sheets with the guarantee of collecting at least 40 droppings. Consequently, roosts with fewer than 20 bats were discarded.

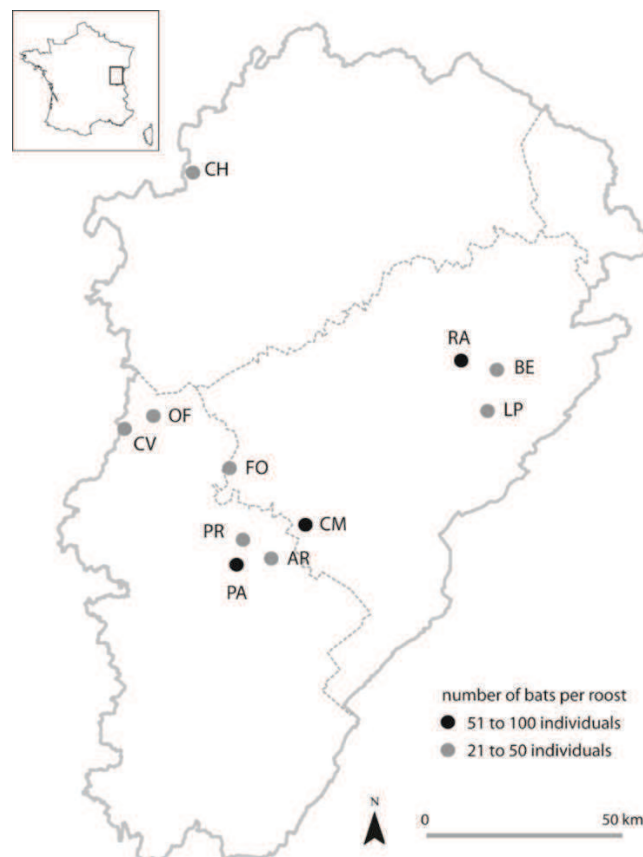


Figure 31 : Location of the 11 *R. hipposideros* maternity roosts

Aresches (AR), Bellerherbe (BE), Charmes Saint-Valbert (CH), Crouzet-Migette (CM), Chevigny (CV), Fourg (FO), Laval-Le-Prieuré (LP), Offlanges (OF), Les Planches-Près-Arbois (PA), Pretin (PR), and Randevilliers (RA).

3.3.2. DNA extraction

DNA was extracted from the bat droppings using the QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN), following the manufacturers' instructions, together with and modifications recommended by Puechmaille *et al.* (2007), and other modifications as described below (step numbers correspond to the QIAamp DNA Stool Mini Kit instruction handbook, pp. 22–25; ver. 04/2010). Samples were first incubated overnight at 56 °C in 1.6 mL of lysis buffer. Steps 3 and 4 were omitted. At step 6, the mixture was centrifuged at 13 200 rpm for six minutes. Steps 7, 8 and 9 were pooled: immediately after centrifugation, 600 µL of the supernatant was transferred into a new 2 mL microtube containing 25 µL Proteinase K. Incubation at step 11 lasted 15 minutes. From steps 13 to 15, centrifugations lasted 1 minute at 7200 rpm. Centrifugations in steps 16 and 17 lasted 1 minute at 10 000 and 14 000 rpm respectively. The last step (18) of DNA elution was modified by adding 80 µL of water at 60 °C in a 2 mL collection tube. The suspension was then incubated for 5 to 10 minutes at room temperature and centrifuged at 14 000 rpm for 2 minutes. A second elution step was introduced to maximize the amount of DNA collected; 40 µL of water at 60 °C was added to the suspension which was then incubated for 30 minutes at room temperature before a final centrifugation of 3 minutes at 14 000 rpm. Eluates were stored at -20 °C until DNA amplification.

3.3.3. Microsatellite genotyping

The eight tetra repeat loci recommended by Puechmaille *et al.* (2005; 2007) were used to genotype samples. DNA amplification was performed in three different multiplex reactions. Each reaction was performed in a mixture (14 µL) consisting of 3 µL of DNA extract, 1 x Multiplex PCR Master Mix (QIAGEN), and primer concentrations as reported in Table 6. The amplification program consisted of an activation step of 15 min at 95 °C followed by 45 cycles of denaturation at 94 °C for 45 s, annealing at 54 °C for 45 s, and primer extension at 68 °C for 1 min 30 s. A final extension was performed for 30 min at 72 °C. PCRs were performed on the Eppendorf Mastercycler DNA Engine. PCR products were then diluted in 24 µL of RNase-free water and then stored at -18 °C. Allele size was quantified using an Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer in a reaction containing 1 µL of the diluted PCR product, 0.25 µL of an internal lane standard (500-LIZ; Applied Biosystems) and 9.75 µL of deionized formamide. Genetic profiles were acquired using the program Genemapper version 3.7 (Applied Biosystems).

Table 6 : Microsatellites used for the genotyping of *R. hipposideros* from dropping samples: loci comprised in the three multiplex PCR with the fluoro-label used, primer concentration for multiplex PCR, and number of alleles.

Multiplex PCR mixture	Locus	Fluoro-label	Concentration in PCR mixture (μM)	Number of alleles
1	RHC108	FAM	0.28	5
	RHD2	NED	0.2	13
	RHD9	VIC	0.11	8
	RHD113	VIC	0.2	7
2	RHD103	NED	0.2	8
	RHD119	PET	0.1	5
3	RHD102	PET	0.4	9
	RHD111	NED	0.4	7

3.3.4. Genetic profile acquisition

Multilocus genotypes were determined using a comparative multiple-tubes approach to reduce genotyping errors, as recommended by Puechmaille & Petit (2007). Samples exhibiting inconsistencies between replicates or samples for which consensus genotypes were not complete (*i.e.* comprised less than eight loci) were discarded from the analysis. Two samples were considered to originate from a single individual when the two multilocus genotypes were identical for the entire set of loci investigated or when they differed by one or two alleles. Multiple comparisons among samples from the same individuals were performed in order to avoid mismatches using the ALLELEMATCH package (Galpern *et al.* 2012a) in the R 2.14.0 software (R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011. <http://www.R-project.org>). When mismatches were confirmed (*i.e.* allele size differed for several samples for the same locus), individual was removed from the dataset since it was not possible to correctly determine its genetic profile. To evaluate the DNA quality of samples, we estimated quality Indexes (QI) per sample and per locus as in Miquel *et al.* (2006). Samples with a QI score < 0.5 were excluded from the analysis. MICRO-CHECKER (Van Oosterhout *et al.* 2004) was used to check for the presence of null alleles, large allele dropout and possible scoring errors. Mean per-replicate probabilities of allelic dropout (ADO) and false allele (FA) were estimated at each locus and for the 8 loci together using GIMLET software 1.3.2 (Valière 2002). To confirm that

two individuals cannot have the same genetic profile, we calculated the expected probabilities of identity for unrelated individuals corrected for small samples ($P_{ID-unbiased}$) and full siblings ($P_{ID-siblings}$) and we estimated the minimum number of individuals that could be discriminated assuming full siblings. Finally, we calculated the expected number of false genotypes containing at least one error (E_T) and the expected number of false genotypes with exactly one or two errors (E_{1or2}) in our data set as in Puechmaille and Petit (2007).

3.3.5. Estimation of colony size

Bat colony size cannot readily be assessed by visual counting. The number of bats in the roost varies daily and individuals are often difficult to count when they are located in inaccessible places, or when they are flying within the roost. We estimated the size of each colony using the sequential Bayesian estimator (BE) method developed by Petit and Valière (2006). One of the assumptions of these models is that all individuals have an equal capture probability (Puechmaille & Petit 2007). To check this assumption, we performed a likelihood ratio test (LRT) which compares the two innate rates model (TIRM: a model assuming a population comprising two groups of individuals with distinct capture probabilities) with the even capture model using the CAPWIRE package (Pennell *et al.* 2013) in the R software. We also carried out the heterogeneity test developed by Puechmaille and Petit (2007) which makes no assumption about the distribution of capture heterogeneity among individuals. The BE method and heterogeneity test were performed using a script provided by Eric Petit in the R software. As the heterogeneity tests revealed that capture heterogeneity exists for some colonies, we performed TIRM according to Miller *et al.* (2005) implemented in the CAPWIRE package. The number of distinct individuals genotyped in each colony was compared to the estimate of colony size obtained by the BE and the TIRM estimators, in order to evaluate the sampling effort. These results were also compared to the size category of the colony independently recorded by CPEPESC.

3.3.6. Genetic variability of colonies

The genetic diversity was assessed first by estimating allelic richness per colony using a rarefaction procedure corrected by the number of individuals sampled per colony. Genetic variation was estimated over all loci within each colony by assessing the observed (HO) and expected (HE) heterozygotes. Deviations from the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) and from linkage equilibrium performed for each locus within each colony were estimated using the exact test based on a Monte Carlo Markov chain method (MCMC). All these analyses were performed using the R package HIERFSTAT (Goudet 2005). Correction for multiple tests was performed using the false discovery rate control (FDR) for p-values of the linkage disequilibrium tests and deviations from HWE with the R package FDRTOOL (Strimmer 2008). Deviations from the Hardy-Weinberg proportions were quantified by the unbiased Wright inbreeding coefficient F_{IS} , calculated according to Weir and Cockerham (1984) for each colony implemented in the R package HIERFSTAT.

3.3.7. Genetic differentiation of colonies

The genetic differentiation between colonies was quantified by computing Weir and Cockerham's (1984) estimator of F_{ST} . MCMC were applied to test for genotypic divergence among colonies over all loci and for all colony pairs using the R package ADEGENET (Jombart 2008). The significance of genetic differentiation was tested among colonies over all loci using the G-test (Goudet *et al.* 1996). Local specific F_{ST} values were estimated for each colony using the hierarchical Bayesian method implemented in GESTE 2.0 (Foll and Gaggiotti 2006). High local F_{ST} values mean a higher differentiation of a given colony compared to the others. We used 10 pilot runs of 5000 iterations to obtain the parameters of the proposal distributions used by the MCMC algorithm. An additional burn was also used in 5×10^4 iterations, and the estimates of F_{ST} local values were obtained using 25×10^4 additional iterations with a thinning interval of 20. Two independent runs with identical setting values were performed to check for consistency of the estimates. To assess whether geographical distance between colonies may explain genetic differentiation, isolation by distance (IBD) was analyzed by regressing pairwise genetic distance between colonies defined as $F_{ST} / (1 - F_{ST})$ against the logarithm of geographic distance between colonies (Rousset 1997). The Mantel test was used to measure the correlation between matrices of genetic distances and Euclidean distances between colonies using the R package ADEGENET. The significance of the Mantel test was assessed by a permutation test ($n = 999$).

3.3.8. Genetic clustering analysis

Complementary to the IBD model, that supposes a linear relationship between genetic and geographic distances, we used the individually-based spatially explicit model implemented in GENELAND software version 4.0.2 (Guillot *et al.* 2005b) to investigate the genetic structure revealed by the genetic differentiation analysis (see results). We hypothesized that this structure could be due to genetic clusters which gather colonies sharing the same genetic characteristics. As we wanted to detect genetic boundaries between colonies rather than infer individuals to populations, we affected the same coordinates to all the individuals sampled in each roost to assign colonies to a cluster. We ran the MCMC five times allowing K to vary, minimum K set to 1 and maximum K set to 11, as the number of sampled roosts. Probably because our data departed from the model assumptions (some colonies showed an excess of heterozygotes, see results), these five previous runs detected ghost clusters (*i.e.* clusters which contained no sampled individuals; Coulon *et al.* 2006) and generated inconsistent results. Consequently, we ran 10 independent runs by forcing K to vary between one and three potential clusters. The number of MCMC iterations was 100 000, with a thinning of 100. The maximum Poisson process rate was set to 100, and the maximum number of nuclei was 300. As the genetic differentiation among sampled colonies is low (see results), we used a Dirichlet model (*i.e.* correlated allele frequencies within the population) which allows determining the number and composition of genetically differentiated clusters in the case of a low genetic differentiation (Guillot 2008). Within each genetic cluster obtained using the spatial analysis, Deviations from the HWE with FDR correction were performed using the exact test.

3.4. Results

Of the 440 samples collected from the 11 sampled maternity roosts, 357 were completely genotyped at eight microsatellite loci at least twice. After removing samples with a low QI and/or confirmed mismatches, 255 samples were kept in the database for further analysis. Those 255 genotyped samples originated from 155 individuals (see Table 7 for details by colony). The number of droppings sampled per individual varied from 1 to 12 (mean 1.66, SD 1.54). Of the samples that were successfully genotyped, the average number of PCR reactions per sample was 2.47 to obtain a reliable multilocus genotype. No evidence was found for the presence of null alleles, allelic dropout or scoring errors due to stutter. For the 11 colonies, mean ADO rates over loci ranged from 0.003 to 0.0031 and mean FA ranged from 0 to 0.082 (Table 7; details by colony and by locus are provided in Appendix 2). Those rates were low, indicating that our

samples contained enough DNA of good quality to obtain reliable multilocus genotypes. This was confirmed by the low multilocus error rate (E_T) ranging from 0.046 in CV to 0.27 in FO. The probability of having a wrong genotype with exactly one or two errors (E_{1or2}) did not differ from the E_T . This indicates that the wrong genotypes may contain no more than two errors. The $P_{ID-unbiased}$ using all loci ranged from 4.579×10^{-11} at RA to 1.411×10^{-08} at CV for unrelated individuals ($P_{ID-unbiased}$) and to between 6.067×10^{-04} at LP and 2.633×10^{-03} at CV for full siblings ($P_{ID-siblings}$). The minimum number of individuals that could be discriminated assuming full siblings ranged between 380 at CV and 1658 at LP.

3.4.1. Estimation of *R.hipposideros* colony size

The number of individuals determined by genotyping varied from 9 to 24 among colonies (Table 8). Bayesian estimates of colony size were consistent with the colony size category reported by CPEPESC for AR, CH, CM, LP and OF and were smaller for BE, CV, FO, PA, PR and RA. Capture heterogeneity was detected in AR, BE, FO, PA and PR by the simulation test and for AR, BE, FO, OF PA, PR and RA by the LRT test. Compared to BE, TIRM overestimates the size of all colonies and was consistent with the size category for BE and FO.

Table 7 : Mean ADO and FA and quality index rates per colony, probability of a genotype being incorrect (containing at least one error; E_T) with in parenthesis the expected number of erroneous genotypes, probability of having a wrong genotype with exactly one or two errors (E_{1or2}) with in parenthesis the expected number of erroneous genotypes, probability of identity for unrelated individuals corrected for small samples ($P_{ID-unbiased}$) and for related individuals ($P_{ID-siblings}$), and the minimum number of individuals that could be discriminated assuming full siblings.

Colony	ADO	FA	QI	E_T	E_{1or2}	$E_T - E_{1or2}$	$P_{ID-unbiased}$	$P_{ID-siblings}$	1/ $P_{ID-siblings}$
AR	0.015	0.007	0.91	0.223 (7.4)	0.222 (7.3)	0.001	3.072×10^{-10}	7.679×10^{-04}	1302
BE	0.012	0.082	0.89	0.205 (5.8)	0.205 (5.7)	0	2.403×10^{-10}	8.966×10^{-04}	1115
CH	0.015	0.006	0.92	0.245 (5.9)	0.244 (5.8)	0.001	1.162×10^{-10}	6.110×10^{-04}	1637
CM	0.018	0.042	0.93	0.252 (6.8)	0.251 (6.8)	0.001	9.027×10^{-10}	6.931×10^{-04}	1443
CV	0.005	0	0.95	0.046 (0.6)	0.046 (0.6)	0	1.411×10^{-08}	2.633×10^{-03}	380
FO	0.018	0	0.93	0.270 (7.6)	0.269 (7.5)	0.001	5.435×10^{-10}	1.008×10^{-03}	992
LP	0.008	0.025	0.93	0.220 (5.5)	0.219 (5.5)	0.001	8.021×10^{-11}	6.067×10^{-04}	1658
OF	0.003	0	0.95	0.050 (0.7)	0.050 (0.7)	0	8.642×10^{-11}	1.090×10^{-03}	917
PA	0.031	0.002	0.87	0.240 (6.2)	0.239 (6.2)	0.001	7.659×10^{-11}	9.431×10^{-04}	1060
PR	0.008	0.026	0.94	0.126 (2.9)	0.126 (2.9)	0	1.752×10^{-09}	1.374×10^{-03}	728
RA	0.003	0	0.97	0.083 (1.9)	0.083 (1.9)	0	4.579×10^{-11}	6.182×10^{-04}	1618

Table 8 : Colony size category, number of distinct genotypes (*i.e.* individuals sampled), estimated number of individuals in the colony based on a sequential Bayesian estimator and a maximum likelihood estimator under TIRM with 95% highest posterior probability confidence interval in parenthesis, mean allelic richness corrected for samples size, observed heterozygosity (HO) with probability values for testing the Hardy-Weinberg (HW) equilibrium indicated by * (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$), expected heterozygosity (HE), intrapopulation fixation index (F_{IS}) with 95% highest posterior probability confidence interval in parenthesis, and local fixation index values (F_{ST}) in the 11 *R. hipposideros* colonies sampled in maternity roosts. Colony abbreviations as in Figure 31.

Colony	Size category	Number of sampled individuals	Bayesian estimation	ML estimation under TIRM	Allelic richness	HO	HE	F_{IS}	Local F_{ST}
AR	20-50	16	20 [17 ; 30]	27 [20 ; 46]	5.28	0.820 ^{NS}	0.758	-0.083 [-0.191 ; -0.013]	0.013
BE	20-50	13	16 [14 ; 24]	29 [22 ; 61]	5.16	0.856 ^{NS}	0.750	-0.142 [-0.215 ; -0.040]	0.014
CH	20-50	16	29 [18 ; 60]	37 [24 ; 85]	5.33	0.789 ^{NS}	0.775	-0.018 [-0.058 ; 0.032]	0.012
CM	51-100	24	100 [55 ; 100]	100 [55 ; 100]	5.30	0.797 ^{NS}	0.758	-0.052 [-0.141 ; 0.056]	0.010
CV	20-50	9	18	19	4.00	0.667 ^{NS}	0.680	0.019	0.093

Caractérisation de la structure génétique et relations avec la connectivité paysagère

			[10 ; 64]	[9 ; 79]				[-0.098 ; 0.146]	
FO	20-50	14	18	32	5.04	0.795 ^{NS}	0.738	-0.076	0.013
			[15 ; 28]	[23 ; 66]				[-0.146 ; 0.027]	
LP	20-50	15	23	30	5.43	0.817 ^{NS}	0.778	-0.049	0.016
			[17 ; 43]	[18 ; 65]				[-0.136 ; 0.049]	
OF	20-50	10	21	28	5.00	0.763 ^{NS}	0.747	-0.021	0.013
			[12 ; 72]	[13 ; 92]				[-0.137 ; 0.056]	
PA	51-100	13	17	28	5.41	0.712 ^{NS}	0.745	0.045	0.017
			[14 ; 27]	[21 ; 59]				[-0.056 ; 0.155]	
PR	20-50	10	12	18	4.72	0.888*	0.722	-0.230	0.017
			[11 ; 19]	[11 ; 29]				[-0.309 ; -0.126]	
RA	51-100	14	22	32	5.66	0.893*	0.777	-0.149	0.015
			[15 ; 43]	[21 ; 72]				[-0.210 ; -0.093]	

3.4.2. Colony genetic variability

The eight loci were variable, the number of alleles per locus over colonies being 5 to 13 (Table 6). Allelic richness per colony averaged over loci, and corrected for a standardized colony size, varied from 4 (SD 0.71) at CV to 5.66 (SD 1.38) at RA (Table 8). Of the 308 exact tests performed for genotypic disequilibria at each locus within each colony, 21 were significant at the 0.05 level. Only one test remained significant after correction using the FDR procedure. We concluded that the loci were independent. Global tests by locus and colony showed significant deviation from HWE for two colonies after FDR correction, the other colonies revealing no consistent significant deviation from HWE (Table 8). FIS values were negative in all 11 colonies except in CV and PA (ranging from -0.23 to 0.045). The 95% highest posterior probability confidence interval suggested a heterozygote excess for PR and RA (Table 8). When HWE was tested by a unilateral test (heterozygote excess hypothesis), those two colonies showed deviation from HWE ($P < 0.01$).

3.4.3. Colony genetic differentiation

The overall F_{ST} value was low (0.018, SD 0.003), but significant (G-test, $p = 0.010$), indicating a low genetic differentiation among the sampled colonies. Local F_{ST} values estimated with GESTE were all less than 0.05 (Table 8) except for CV which had the highest value (local $F_{ST} = 0.093$). Pairwise F_{ST} values estimated between colonies were consistently weak, ranging from 0 between OF and PR, OF and CH to 0.071 between PA and CV. The genetic differentiation between colonies was not explained by isolation by distance since no relation was observed between geographic and genetic distances (Mantel test, $P = 0.56$).

3.4.4. Genetic clustering analysis

When K was forced to vary between one and three potential clusters, GENELAND analyses consistently identified three spatial clusters across the 10 replicates (Figure 32). Individuals had a mean probability of belonging to the assigned cluster across runs ranging from 0.65 (SD 0.08) in OF to 0.96 (SD 0.11) to CV providing strong support for the clustering result. Cluster 1 gathered seven colonies (AR, CM, PR, PA, FO, OF and CH) about 90 km apart, cluster 2 grouped geographically close colonies (RA, BE and LP) whereas cluster 3 was only constituted by CV which was geographically close to OF. Deviations from HWE were significant after FDR correction for the clusters 1 and 2 (HWE exact test, $P = 0.030$ and $P = 0.021$).

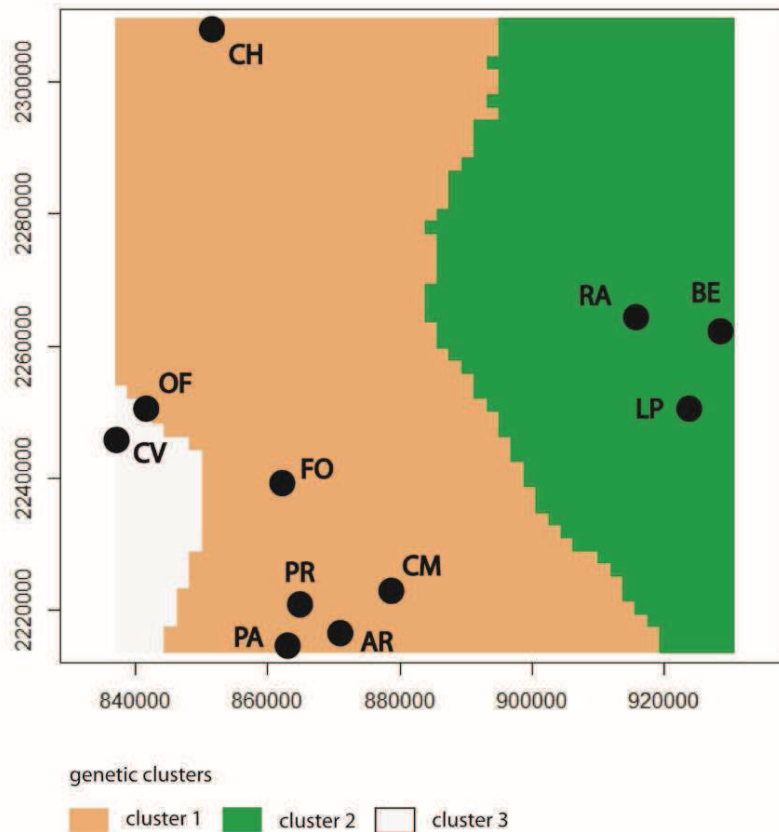


Figure 32 : Spatial genetic clusters according to GENELAND

3.5. Discussion

Based on non-invasive genetic tools, this study showed that maternity colonies of the lesser horseshoe bat located in Franche-Comté exhibit a low genetic differentiation. The dropping collection method, preservation until molecular analysis, and DNA amplification appeared here sufficient to allow the study of the genetic variability between different colonies without resorting to capturing individuals (*i.e.* collecting tissue). This method has the advantage of allowing a large-scale study, 11 maternity roosts were sampled over an area of about 9000 km² and over one month. It also meant colony size could be estimated in one field session without resorting to visual counting. QI values observed in the present study were lower than in Puechmaille *et al.* (2007): QI per sample ranged from 0.6 to 1.00 and the mean QI per colony ranged from 0.87 to 0.97. This could be explained by the low amplification success in some roosts (see Appendix 1), suggesting that the quality of samples depends on local conditions within the roost (temperature, humidity) which might affect DNA conservation. Moreover, we also observed that amplification success considerably decreased several months after DNA

extraction. Due to technical hitches DNA extracts (stored at -20°C) unfortunately undergone repeated freeze-thawing cycles that could have led to DNA degradation. Boston *et al.* (2012) reported that they did not observe DNA degradation in DNA extracts after two years of storage at 4°C in double distilled water. We thus recommend to store the newly extracted DNA at 4°C during the genotyping analyses to avoid repeated freeze-thawing cycles and then to store the extracts at -20°C for a longer conservation.

The observed heterozygosity of the eight loci was high for all 11 maternity colonies studied here, ranging from 0.667 to 0.893. These values were consistent with those reported by Puechmaille and Petit (2007) for the three Brittany (France) colonies (0.69–0.78), and showed a significant deviation from the HWE for two colonies. Negative F_{IS} values were observed in nine maternity colonies. Although we did not find evidence for the presence of null alleles, we cannot formally exclude that the departures from HWE that we observe in two colonies, as well as negative F_{IS} values, are due to improper sampling or genotyping errors. However, ADO and FA error rates are in the magnitude of those reported in other studies on mammal species ($< 10\%$; Broquet and Petit 2004), which suggests the absence of a strong bias due to allele loss or false allele. E_T and $E_{1\text{ or }2}$ were also comparable to the study of Puechmaille and Petit (2007) and were not correlated to the negative F_{IS} values suggesting that the possible genotyping errors inherent to laboratory analysis or profile readings do not explain departures from HWE. The negative F_{IS} values could also be explained by the choice of microsatellites markers: the eight DNA microsatellites loci used in this study could be highly polymorphic by chance and their combination in genetic profiles would increase the probability to observe heterozygotes. However, Puechmaille and Petit (2007) did not report heterozygote excess in the only genetic study of maternity colonies of *R. hipposideros* that also used the same microsatellite set than in the present study. Droppings containing bad quality DNA and the presence of juveniles could also influence the heterozygote rate. Samples with low QI (< 0.5) were discarded and we assumed that a few droppings from juveniles were present since the samples were collected before birth in majority.

Assuming that our conclusions about HWE are reliable, heterozygotes excess is generally related to the size of populations, social structure, or a recent bottleneck (Chesser 1991). Balloux (2004) showed that heterozygote excess can be observed when the number of breeders is small, especially in small and isolated populations. However, the sampled colonies were not isolated from each other according to the weak genetic differentiation (low pairwise F_{ST}). Moreover, the presence of a winter roost in the center of the region, harboring a quarter of the

total of lesser horseshoe bats of the area (CPEPESC, unpublished) indicates that an important number of breeders from several roosts might gathered for reproduction before winter. Heterozygote excess can also be explained by the social structure and the mating system of the species. Negative F_{IS} values have been described within social groups of mammal species that present polygynous mating system, such as the Alpine marmot *Marmota marmota* (Goossens *et al.*, 2001), the black-tailed prairie dog *Cynomys ludovicianus* (Dobson *et al.* 1997), the African elephant *Loxodonta africana* (Nyakaana and Arctander 1999) or the gray wolf *Canis lupus* (Jedrzejewski *et al.* 2005). Maternity colonies of *R. hipposideros* harbored females exhibiting strong philopatric behavior (Schofield 1996). This female philopatry results in social groups located in maternity roosts, comprising a reduced nonrandom fraction of the gene pool of adult females (Storz 1999). As is commonly observed in polygynous mating mammal species living in separate sex-groups, family units are probably matrilineal, breeding females from a roost being generated by ancestral females from the same roost, as in the greater horseshoe bat (Rossiter *et al.* 2000a; 2002), or in Schreiber's bat *Miniopterus schreibersii* (Pereira *et al.* 2009). Although the reproduction behavior of *R. hipposideros* is still unknown, we can hypothesized that mature females originated from several maternity colonies meet solitary males or males from different colonies for mating before joining winter roosts. Matings may occur between immigrant males derived from one matriline and multiple females from a separate matriline (Storz 1999). Several authors report that in such a mating system characterized by male dispersal and female philopatry, heterozygote excess can be explained by nonrandom mates to avoid inbreeding (Foltz and Hoogland 1983; Melnick *et al.* 1984; Storz 1999). Chesser (1991) highlighted that heterozygosity within social groups can be maximized when single males mate exclusively within the same female matriline across multiple generations. The grouping of colonies of *R. hipposideros* into spatial genetic clusters suggests that females from a same cluster are related, and thus might result from matings with a reduced number of males. Finally, as the European populations of *R. hipposideros* underwent a significant reduction of size during the second half of the twentieth century, we can hypothesize that a recent bottleneck may explain this heterozygote excess by the loss of rare alleles leading to reduced expectations of heterozygosity under HWE. However, population bottlenecks should be confirmed with a larger number of polymorphic loci, and a representative sample of the whole population (Cornuet and Luikart 1996).

Considering the recent decline of the species, which might have tended to isolate colonies, and its sedentary behavior (female philopatry, non-migratory species), we expected to observe

strong differentiation between distant colonies. Genetic differentiation has been observed between maternity colonies of other non-migratory Rhinolophid species at a larger spatial scale: in the greater horseshoe bat from colonies 150 km apart (Rossiter *et al.* 2000b); in Mehely's horseshoe bat from colonies 200 km apart based on mtDNA (Dragu and Borissov 2011). However, the genetic differentiation among colonies was low ($F_{ST} = 0.018$). It may be explained by occasional inter-colony transfer of females or by gene exchange via male dispersal. However, no information about the dispersal behavior of *R. hipposideros* is currently available. In many European bat species for which low genetic differentiation has been observed among maternity colonies, males are the key dispersing gender. This has been shown for several bat species such as the greater mouse-eared bat *M. myotis* (Ruedi and Castella 2003), Bechstein's bat (Kerth *et al.* 2002; Kerth and Petit 2005), Schreiber's bat (Pereira *et al.* 2009), and the brown long-eared bat *P. auritus* (Veith *et al.* 2004). Behavioral traits of *R. hipposideros* such as female philopatry and the relatively low number of inter-colony female exchanges observed in our study suggest that inter-colony gene flow occurs mainly via mating rather than by the physical transfer of bats between colonies, as was observed for the greater horseshoe bat (Rossiter *et al.* 2000). Female bats gather with males at unknown locations for breeding, before reaching the winter roost. As most of the matings involve females and unrelated males, this swarming behavior promotes genetic diversity and low differentiation observed between geographically close colonies, as suggested for Natterer's bat *M. nattereri* (Rivers *et al.* 2006) and for Daubenton's bat *M. daubentonii* (Atterby *et al.* 2010). The winter roost which harbors a quarter of the total of lesser horseshoe bats of the area enhances this assumption. The low genetic differentiation could also be explained by the favorable local environment around the maternity roosts. The Franche-Comté region is mostly covered by forests and its specific karstic context provides abundant caves for winter roosts. Numerous old farm buildings still remain, offering potential roosting sites. This presumably favors reproduction between individuals from different colonies and promotes the homogenization of allele frequencies.

Although the overall value of F_{ST} was low, it indicated a statistically significant genetic differentiation between colonies, therefore suggesting the presence of an overall genetic structure. This structure was not consistent with a pattern of isolation by distance and was not explained by the differentiation of one particular colony compared to the others according to the values of local F_{ST} . We performed a genetic clustering analysis as we assumed that the observed genetic differentiation could be explained by the gathering of colonies defined by common genetic characteristics. One cluster grouped neighboring colonies a maximum distance

of about 25 km apart (cluster 2 with RA, BE and LP). The cluster 1 comprised colonies approximately 90 km apart (between PA and CH). However, CV which was geographically closer to OF was not included in the same cluster. Although this analysis was performed with few colonies heterogeneously distributed within a large area, the mean assignment probability of individuals to their genetic cluster across runs was high, showing that this analysis was valuable. The presence of genetic boundaries revealed by this analysis suggests that there are some limitations to genetic exchange via bats reproduction or dispersal between colonies from different clusters. Genetic boundaries may be due to landscape connectivity reduction which affects the bats' movements and limits reproduction between some colonies. In the same study area, we showed that the spatial integration of maternity roosts in a connected network at regional scale plays an important role in the presence of maternity roosts (Tournant *et al.* 2013). Thus, we hypothesize that here habitat connectivity is an important determinant for the genetic structure of the population. Further landscape analysis should be undertaken in order to assess the effect of habitat connectivity on gene flow, *e.g.* by comparing our results with areas where a high degree of habitat loss and fragmentation are more likely to influence the genetic structure, or by performing multiscale analysis using landscape graphs for identifying landscape features influencing gene flow more finely (Galpern *et al.* 2012b).

Funding

This work was supported by the Région Franche-Comté; the Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité (FRB); the Observatory of Earth Sciences “Terre Homme Environnement Temps Astronomie” (OSU THETA, Bourgogne-Franche-Comté), and the French Ministry of Ecology, Energy, Sustainable Development, and the Sea (ITTECOP program) as part of the Graphab project managed by the USR 3124 MSHE Ledoux.

Acknowledgements

The authors thank the three anonymous referees for their constructive comments and questions. We also thank Sébastien Puechmaille and Fabrice Poncet for their helpful comments during the molecular analysis processes, Eric Petit for providing us with the R script, and Jean François Cosson and Karine Berthier for their advice about statistical analysis.

References

- Atterby H, Aegerter JN, Smith GC, Conyers CM, Allnutt TR, Ruedi M, MacNicol AD. 2010. Population genetic structure of the Daubenton's bat (*Myotis daubentonii*) in western Europe and the associated occurrence of rabies. *Eur. J. Wildl. Res.* 56:67-81.
- Balloux, F., 2004. Heterozygote excess in small populations and the heterozygote-excess effective population size. *Evolution* 58, 1891-1900.
- Bontadina F, Arlettaz R, Fankhauser T, Lutz M, Mühlethaler E, Theiler A, Zingg P. 2001. The lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* in Switzerland: present status and research recommendations. *Le Rhinolophe.* 14:69-83.
- Boston E.S.M, Puechmaille S.J, Scott D.D, Buckley D.J, Lundy M.G, Montgomery I.W, Prodohl P.A, Teeling E.C. 2012. Empirical assessment of non-invasive population genetics in bats: comparison of DNA quality from faecal and tissue samples. *Acta Chiropterologica.* 14:45-52.
- Coulon A, Guillot G, Cosson JF, Angibault JMA, Aulagnier S, Cargnelutti B, Galan M, Hewison AJM. 2006. Genetic structure is influenced by landscape features: empirical evidence from a roe deer population. *Mol. Ecol.* 15:1669-1679.
- Crucitti P, Cavalletti L. 2002. Size, dynamics and structure of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) winter aggregations in central Italy. *Hystrix.* 13:29-40.
- Chesser RK. 1991. Gene diversity and female philopatry. *Genetics.* 127: 437-447.
- Cornuet JM, Luikart G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics.* 144:2001-2014.
- Dobson FS, Chesser RK, Hoogland JL, Sugg DW, Foltz DW. 1997. Do black-tailed prairie dogs minimize inbreeding? *Evolution.* 51: 970-978.
- Dragu A, Borissov I. 2011. Low genetic variability of *Rhinolophus mehelyi* (Mehely's horseshoe bat) in Romania. *Acta Theriol.* 56:383-387.

- Eggert LS, Eggert JA, Woodruff DS. 2003. Estimating population sizes for elusive animals: the forest elephants of Kakum National Park, Ghana. *Mol. Ecol.* 12:1389-1402.
- Fahrig L. 2003. Effect of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 34:487-515.
- Farcy O, Le Rouxel A, Queau S. 2009. Activité et terrains de chasse du Petit rhinolophe (*Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800) en Bretagne, France. *Arvicola.* 19:12-20.
- Foll M, Gaggiotti O. 2006. Identifying the environmental factors that determine the genetic structure of populations. *Genetics.* 174:875-891.
- Frantz AC, Roper TJ. 2006. Simulations to assess the performance of different rarefaction methods in estimating population size using small datasets. *Conserv. Genet.* 7:315-318.
- Gaisler J. 1963. The ecology of lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800) in Czechoslovakia, part I. *Vestn Cesk Spol Zool.* 27:211-233.
- Galpern P, Manseau M, Hettinga P, Smith K, Wilson P. 2012a. ALLELEMATCH: an R package for identifying unique multilocus genotypes where genotyping error and missing data may be present. *Mol. Ecol. Resour.* 12 :771-778.
- Galpern P, Manseau M, Wilson P. 2012b. Grains of connectivity: analysis at multiple spatial scales in landscape genetics. *Mol. Ecol.* 21:3996-4009.
- Goudet J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices ver. 2.9.3. Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet J. 1995. FSTAT v-1.2. A computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* 86:485-486.
- Goudet J, Raymond M, deMeeus T, Rousset F. 1996. Testing differentiation in diploid populations. *Genetics.* 144:1933-1940.
- Guillot G, Mortier F, Estoup A. 2005. GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Mol. Ecol. Notes.* 5:712-715.
- Guillot G. 2008. Inference of structure in subdivided populations at low levels of genetic differentiation-the correlated allele frequencies model revisited. *Bioinformatics.* 24:2222-2228.
- Goossens, B., Chikhi, L., Taberlet, P., Waits, L.P., Allaine, D., 2001. Microsatellite analysis of genetic variation among and within Alpine marmot populations in the French Alps. *Molecular Ecology* 10, 41-52.
- Goudet, J. 2005. HIERFSTAT, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Mol Ecol Notes.* 5:184-186.
- Hutterer R, Ivanova T, Meyer-Cords C, Rodrigues L. 2005. Bat migrations in Europe: a review of banding data and literature. Bundesamt für Naturschutz, Bonn.

IUCN. 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.1. Available from: <http://www.iucnredlist.org>, last accessed November 9, 2012.

Jedrzejewski W, Branicki W, Veit C, Medugorac I, Pilot M, Bunevich AN, Jedrzejewska B, Schmidt K, Theuerkauf J, Oyarma H, Gula R, Szymura L, Forster M. 2005. Genetic diversity and relatedness within packs in an intensely hunted population of wolves *Canis lupus*. *Acta Theriol.* 50:3-22.

Jombart T. 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics.* 24:1403-1405.

Jones G, Jacobs DS, Kunz TH, Willig MR, Racey PA. 2009. Carpe noctem: the importance of bats as bioindicators. *Endanger Species Res.* 8:93-115.

Kerth G, Mayer F, Petit E. 2002. Extreme sex-biased dispersal in the communally breeding, nonmigratory Bechstein's bat (*Myotis bechsteinii*). *Mol. Ecol.* 11:1491-1498.

Kerth G, Petit E. 2005. Colonization and dispersal in a social species, the Bechstein's bat (*Myotis bechsteinii*). *Mol. Ecol.* 14:3943-3950.

Kohn MH, York EC, Kamradt DA, Haugt G, Sauvajot RM, Wayne RK. 1999. Estimating population size by genotyping faeces. *Proc. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 266:657-663.

Nyakaana S, Arctander P. 1999. Population genetic structure of the African elephant in Uganda based on variation at mitochondrial and nuclear loci: evidence for male-biased gene flow. *Mol. Ecol.* 8:1105-1115.

Pennell MW, Stansbury CR, Waits LP, Miller CR. 2013. Capwire: a R package for estimating population census size from non-invasive genetic sampling. *Mol Ecol Resour.* 13:154-157.

Pereira MJR, Salgueiro P, Rodrigues L, Coelho MM, Palmeirim JM. 2009. Population Structure of a Cave-Dwelling Bat, *Miniopterus schreibersii*: Does It Reflect History and Social Organization? *J. Hered.* 100:533-544.

Petit E, Valiere N, 2006. Estimating population size with noninvasive capture-mark-recapture data. *Conserv Biol.* 20:1062-1073.

Puechmaille S, Mathy G, Petit E. 2005. Characterization of 14 polymorphic microsatellite loci for the lesser horseshoe bat, *Rhinolophus hipposideros* (Rhinolophidae, Chiroptera). *Mol. Ecol. Notes.* 5:941-944.

Puechmaille SJ, Mathy G, Petit EJ. 2007. Good DNA from bat droppings. *Acta Chiropt.* 9:269-276.

Puechmaille SJ, Petit EJ. 2007. Empirical evaluation of non-invasive capture-mark-recapture estimation of population size based on a single sampling session. *J Appl Ecol.* 44:843-852.

- Rivers NM, Butlin RK, Altringham JD. 2006. Autumn swarming behaviour of Natterer's bats in the UK: Population size, catchment area and dispersal. *Biol. Conserv.* 127:215-226.
- Rossiter SJ, Jones G, Ransome R, Barratt EM. 2006. Causes and consequences of genetic structure in the greater horseshoe bat *Rhinolophus ferrumequinum*. In: Zubaid A, McCracken GF, Thomas H. Kunz .editors. *Functional and Evolutionary Ecology of Bats*. Oxford: University Press; p. 213-226.
- Rossiter SJ, Jones G, Ransome RD, Barratt EM. 2000. Genetic variation and population structure in the endangered greater horseshoe bat *Rhinolophus ferrumequinum*. *Mol. Ecol.* 9:1131-1135.
- Rousset F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics.* 145:1219-1228.
- Rousset F. 2008. GENEPOP '007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour.* 8:103-106.
- Ruedi M, Castella V. 2003. Genetic consequences of the ice ages on nurseries of the bat *Myotis myotis*: a mitochondrial and nuclear survey. *Mol. Ecol.* 12:1527-1540.
- Storz JF. 1999. Genetic consequences of mammalian social structure. *J. Mammal.* 80:553-569.
- Strimmer K. 2008. fdrtool: a versatile R package for estimating local and tail area-based false discovery rates. *Bioinformatics.* 24:1461-1462.
- Taberlet P, Waits LP, Luikart G. 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends Ecol. Evol.* 14:323-327.
- Tournant P, Afonso E, Roué S, Giraudoux P, Foltête J-C. 2013. Evaluating the effect of habitat connectivity on the distribution of the lesser horseshoe bat maternity roost using landscape graphs. *Biol Conserv.* 164:39-49.
- Valiere N . 2002. GIMLET: a computer program for analysing genetic individual identification data. *Mol Ecol Notes.* 2: 377-379.
- Van Oosterhout C, Hutchinson W.F, Wills D.P.M, Shipley P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes.* 4:535-538.
- Veith M, Beer N, Kiefer A, Johannesen J, Seitz A. 2004. The role of swarming sites for maintaining gene flow in the brown long-eared bat (*Plecotus auritus*). *Heredity.* 93:342-349.
- Wang J. 2007. Triadic IBD coefficients and applications to estimating pairwise relatedness. *Genet Res.* 89:135-153.

Wang JL. 2011. COANCESTRY: a program for simulating, estimating and analysing relatedness and inbreeding coefficients. *Mol Ecol Resour.* 11:141-145.

Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating the F-statistics for the analysis of population-structure. *Evolution.* 38:1358-1370.

Appendix 1. Number of successfully genotyped samples among the 40 collected in each colony and the number of sampled individuals which it corresponds.

Colony	Number of collected samples	Number of successfully genotyped samples	Number of sampled individuals
AR	40	32	16
BE	40	27	13
CH	40	23	16
CM	40	26	24
CV	40	12	9
FO	40	28	14
LP	40	22	15
OF	40	14	10
PA	40	24	13
PR	40	23	10
RA	40	23	14

Appendix 2. ADO and FA rates per colony and per locus.

Colony Loci	AR		BE		CH		CM		CV		FO		LP		OF		PA		PR		RA		
	ADO	FA	ADO	FA	ADO	FA	ADO	FA	ADO	FA	ADO	FA	ADO	FA	ADO	FA	ADO	FA	ADO	FA	ADO	FA	
RHC108	0.021	0	0.019	0.074	0	0	0	0	0	0	0.028	0	0	0	0	0	0.133	0.018	0.024	0.056	0	0	
RHD102	0.018	0	0	0	0	0	0.018	0	0	0	0.02	0	0	0.067	0	0	0.014	0	0	0	0	0	0
RHD103	0.021	0	0	0.25	0.031	0	0	0	0.042	0	0.045	0	0.028	0.083	0	0	0.033	0	0	0.048	0	0	0
RHD111	0	0	0.031	0	0.017	0	0	0	0	0	0	0	0.016	0	0	0	0.015	0	0.014	0	0	0	0
RHD113	0.011	0	0.019	0.333	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.014	0	0.014	0	0	0	0
RHD119	0	0	0	0	0	0.05	0.038	0	0	0	0	0	0	0.048	0	0	0	0	0.014	0	0	0	0
RHD2	0.012	0	0	0	0.044	0	0.04	0.333	0	0	0.049	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1	0.023	0	0
RHD9	0.038	0.056	0.025	0	0.025	0	0.044	0	0.044	0	0	0	0	0	0.023	0	0.026	0	0.038	0	0	0	0

4. Etude de la relation entre la connectivité paysagère et la différenciation génétique des colonies de maternité

4.1. Introduction

La génétique du paysage implique l'identification de patrons génétiques spatiaux (*e.g.* clines, isolement par la distance, barrière aux flux de gènes etc.) et leur mise en relation avec des variables paysagères (Manel *et al.* 2003). Cette discipline procède généralement en deux étapes : la première permet de détecter des discontinuités génétiques à l'aide d'outils moléculaires, la seconde étape estime la corrélation entre ces discontinuités génétiques avec la structure paysagère. Les récentes études en génétique du paysage mettent en relation des modèles de distance coût avec des distances génétiques (Stevens *et al.* 2006), comparent des chemins de dispersion potentielle à des modèles de distances euclidiennes (Spear *et al.* 2005) ou combinent plusieurs approches (*e.g.* barrière, isolement par la distance, effet du paysage (Cushman *et al.* 2006). Pour la plupart, ces approches testent les effets barrières telles que les chaînes de montagne ou l'altitude (Funk *et al.* 2005), l'effet de l'activité agricole (Johansson *et al.* 2005) ou de la pression d'urbanisation (Hitchings et Beebe 1997) sur la différenciation génétique.

En paysage fragmenté, la présence de colonie de maternité du petit rhinolophe dépend de la présence de taches de forêt à proximité du gîte et également de l'accessibilité de ces taches par les individus (Ramovš *et al.* 2010; Reiter *et al.* 2013). La connectivité entre les colonies dépend donc de la structure paysagère mais également du comportement de déplacement des individus. Cependant, peu d'informations sont disponibles sur le comportement de dispersion du petit rhinolophe. Les femelles sont fidèles à leur gîte de naissance et y retournent chaque année pour donner naissance à leur petit (Schofield 1996). Les individus se déplacent dans un rayon d'environ 5 km autour du gîte pour aller chasser (Bontadina *et al.* 2002; Farcy *et al.* 2009; Holzhaider *et al.* 2002; Motte et Libois 2002; Schofield *et al.* 2002; Zahn *et al.* 2008) et privilégient les déplacements le long des éléments boisés en évitant les espaces ouverts (Schofield 1996). Les gîtes de maternité et d'hivernage sont éloignés de seulement quelques dizaines de kilomètres en moyenne (Crucitti et Cavalletti 2002; Williams 2001).

Nous avons précédemment montré que la structuration génétique observée entre les colonies de petits rhinolophes n'est pas liée à un isolement par la distance comme le suggérerait son comportement sédentaire. Une des hypothèses envisagée est que dans un paysage hétérogène, la distance géographique mesurée doit prendre en compte la structure du paysage

et donc la connectivité entre les colonies. C'est pourquoi dans cette étude nous avons utilisé les approches de génétique du paysage pour évaluer l'impact de la connectivité paysagère sur la différenciation génétique entre colonies de maternité du petit rhinolophe.

Suivant le même protocole utilisé précédemment sur les données de 2010, nous avons procédé à un échantillonnage non-invasif de guano à plus large échelle dans 26 colonies de maternité de petit rhinolophe. Cet échantillonnage a été effectué afin d'estimer dans un premier temps la différenciation génétique de colonies de maternité à l'aide de l'analyse de huit microsatellites. Dans un second temps, dans la mesure où les variables environnementales déterminant les flux de gènes entre populations sont peu connues chez les chauves-souris (Moussy *et al.* 2013), nous avons testé le rôle potentiel de certaines caractéristiques de connectivité des habitats sur la différenciation génétique observée entre les colonies de maternité. Nous avons analysé la relation entre la distance génétique pour chaque paire de colonies et quatre types de distances paysagères basées sur les valeurs des coûts de déplacement pour chaque élément paysager, suivant la théorie des circuits, suivant les graphes paysagers et suivant la combinaison de ces deux approches. Nous supposons que la distance paysagère combinant à la fois la théorie des circuits et les graphes paysagers est la distance permettant de mieux décrire la différenciation génétique observée entre colonies car elle prend en compte à la fois les chemins multiples de déplacement et le réseau de connectivité du graphe paysager.

4.2. Matériel et Méthodes

4.2.1. Collecte d'échantillons

La collecte de guano de petits rhinolophes a été effectuée en juin et juillet 2011 en Franche-Comté, dans les trois départements de la Haute-Saône, du Doubs et du Jura (Figure 33). A partir des localisations fournies par la CPEPESC, 57 gîtes de maternité ont été prospectés dans des églises et des greniers ou caves de particuliers. Aucun petit rhinolophe n'a été observé dans 14 de ces gîtes. Seuls 26 de ces gîtes ont pu être correctement échantillonnés (40 guanos prélevés pour les analyses de génotypage), les autres gîtes (17) n'ayant pas permis de collecter suffisamment de guano. Comme pour la session de terrain de 2010, les gîtes ont été visités une première fois pour poser une bâche en plastique au sol sous les individus lorsqu'ils étaient présents puis une seconde fois deux semaines plus tard pour prélever individuellement les guanos sur la bâche (*cf.* page 106). La taille des colonies estimée par la CPEPESC est donnée dans la table 9.

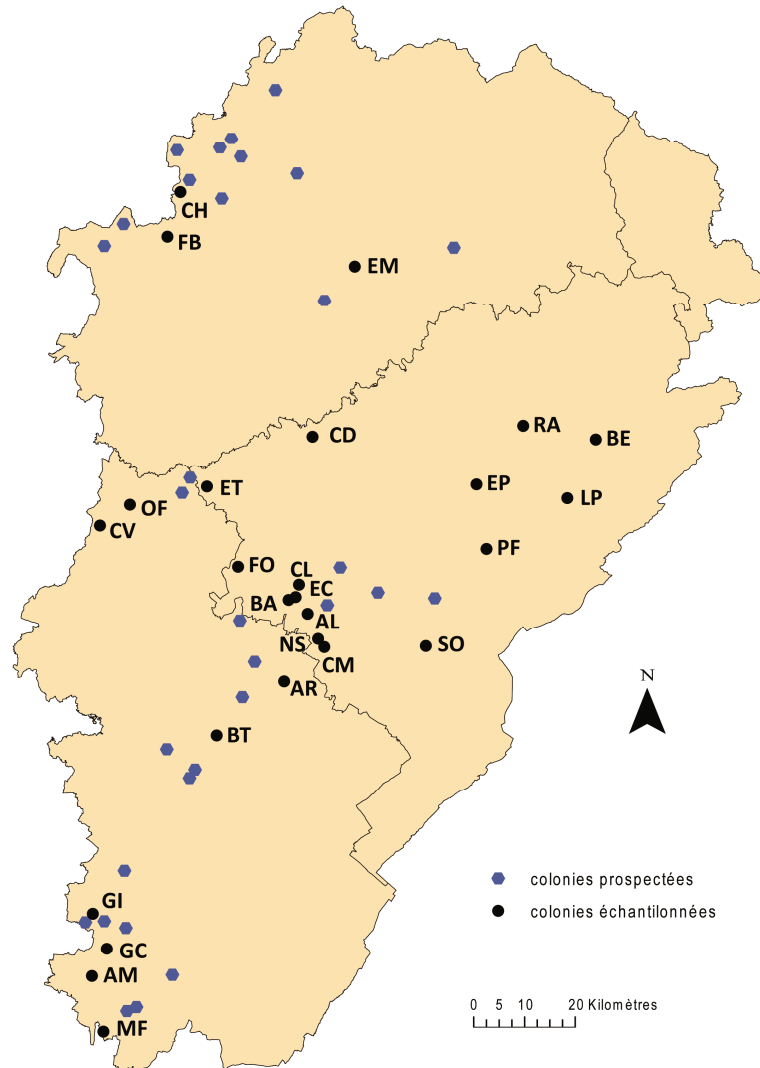


Figure 33 : Gîtes de maternité prospectés et échantillonnés en 2011

Alaise (AL), Andelot-Morval (AM), Aresches (AR), Bartherans (BA), Bellerherbe (BE), Barretaine (BT), Châtillon-le-Duc (CD), Charmes Saint-Valbert (CH), Cussey-sur-Lison, Crouzet-Migette (CM), Chevigny (CV), Echay (EC), Échenoz-la-Méline (EM), Epenouse (EP), Etrabonne (ET), Fouvent-le-Bas (FB), Fourg (FO), Graye-et-Charnay (GC), Gizia (GI), Laval-Le-Prieuré (LP), Montfleur (MF), Nans-sous-Sainte-Anne (NS), Offlanges (OF), Passonfontaine (PF), Randevilliers (RA) et Sombacour (SO).

4.2.2. De l'extraction de l'ADN à l'acquisition des profils des individus

Les protocoles d'extraction et d'amplification de l'ADN ainsi que l'acquisition des profils génétiques et la procédure pour différencier les individus étant identiques à l'étude précédente (*cf.* page 106), ils ne sont pas re-détaillés ici. Afin de ne pas biaiser les analyses avec des échantillons de mauvaise qualité, cinq colonies ont été écartées des analyses du fait de la difficulté d'amplifier les huit microsattellites pour de nombreux échantillons (BT, EM, NS, PF

et SO). Tous les profils des échantillons appartenant au même individu ont été comparé entre eux afin d'éliminer les discordances. Un simple tri visuel a été effectué en retirant les échantillons du jeu de données lorsque ces discordances ont été confirmées. Une analyse de la similarité entre les profils génétiques des individus obtenus en 2010 et 2011 a été effectuée afin de déterminer si des individus d'un même gîte ont été échantillonnés lors de ces deux sessions de terrain. Cette analyse a été réalisée à l'aide du package ALLELEMATCH (Galpern *et al.* 2012) implémenté dans le logiciel R 2.14.0 (<http://www.R-project.org>).

4.2.3. Variabilité et différenciation génétique des colonies

La variabilité et la différenciation génétique des colonies échantillonnées pour cette étude ont été évaluées à l'aide des mêmes tests statistiques que dans l'étude précédente (*cf.* page 111). Pour rappel, la diversité génétique a été évaluée à l'aide de la richesse allélique moyenne estimée pour chaque colonie. La variation génétique a été estimée en calculant les taux d'hétérozygotie observée et attendue (H_O et H_E). La déviation à l'équilibre d'Hardy Weinberg et le déséquilibre de liaison ont été testés pour chaque locus dans chaque colonie et des corrections FDR (*false discovery rate control*) ont été appliquées. La déviation à l'équilibre d'Hardy-Weinberg a été quantifiée à l'aide du coefficient F_{IS} pour chaque colonie. La différenciation génétique globale des colonies a été quantifiée par l'estimateur F_{ST} et testée à l'aide du test G. La distance génétique entre chaque colonie a été calculée en linéarisant les F_{ST} par paire de colonies, définie par $F_{ST} / (1 - F_{ST})$.

4.2.4. Matrices de distances paysagères

Cinq matrices de distances paysagères ont été calculées entre chaque paire de colonies. La première matrice permet de tester un isolement par la distance en calculant la distance euclidienne (en mètres) entre les paires de colonies. Cependant nous supposons que la distance génétique est mieux expliquée par une distance paysagère intégrant la structure et la connectivité de l'habitat du petit rhinolophe. La seconde distance paysagère (distance *coût*) est basée sur le calcul des chemins de moindre coût entre les colonies, mesuré en coûts cumulés le long du chemin de moindre coût. Par rapport à la distance euclidienne, cette distance prend en compte la structure du paysage et suppose le déplacement des individus à travers les éléments paysagers favorables à ces déplacements. Cependant cette distance considère un chemin unique et suggère un paysage continu entre les colonies. Nous supposons que plusieurs chemins de déplacement sont possibles entre les colonies. De fait, une matrice de distance basée sur la

théorie des circuits (*cf.* page 8) a été créée en calculant la somme des résistances entre deux colonies. Cette distance *circuit* prend également en compte la structure du paysage et considère l'ensemble des chemins de moindre coût possibles entre deux colonies.

La distance génétique observée entre paire de colonies représentant les flux de gènes et par conséquent les flux d'individus, nous supposons que ces flux d'individus ont lieu de proche en proche par l'intermédiaire de gîtes de maternité potentiels. Ainsi une autre distance paysagère (distance *graphe*), basée sur un graphe paysager est calculée entre paire de colonies. A la différence de la matrice de distance *coût*, les chemins de moindre coût passent par les nœuds du graphe (gîtes potentiels) prenant ainsi en compte la structure du paysage et le réseau de gîtes de maternité tel qu'il est défini par la construction du graphe. Une dernière distance paysagère (distance *circuit-graphe*) est calculée et combine à la fois l'approche par la théorie des circuits et celle des graphes paysagers. La distance entre deux colonies est estimée par l'ensemble des chemins de moindre coût possibles passant par les nœuds du graphe. Nous supposons que la distance paysagère *circuit-graphe* permet de mieux expliquer la distance génétique entre paire de colonies que les autres distances paysagère car elle intègre la structure du paysage, les chemins de déplacement multiples et la traversée des chemins par les nœuds du graphe.

Les matrices de distances paysagères *coût*, *circuit*, *graphe* et *circuit-graphe* ont été calculées à partir de la cartographie l'occupation du sol réalisée pour les analyses en première partie de ce travail de thèse (*cf.* page 56). Les mêmes valeurs de coût ont été attribuées aux 12 classes d'occupation de la cartographie (1 aux éléments favorables, 50 aux éléments neutres et 100 aux éléments défavorables). Le même graphe paysager a été utilisé (*cf.* page 61), excepté que les liens n'ont pas été seuillés à la distance de déplacement moyenne de l'espèce. En effet, la dispersion étant un processus écologique se déroulant sur plusieurs générations, nous considérons que cette dispersion a lieu de proche en proche par l'intermédiaire de gîtes de maternité potentiels, représentés dans le graphe par les nœuds. Par conséquent le graphe planaire non seuillé peut être assimilé au réseau de dispersion potentiel de l'espèce à l'échelle régionale.

La matrice de distance euclidienne a été calculée à partir des coordonnées des colonies dans ArcGIS version 10.1. Les valeurs de distances *coût*, *graphe* et *circuit-graphe* ont été calculées à l'aide du logiciel GRAPHAB (Foltête *et al.* 2012). Les valeurs de distances *circuit* ont été calculées avec le logiciel CIRCUITSCAPE (Shah et McRae 2008). Du fait de la

délimitation de la cartographie de la zone d'étude (Figure 23), 3 colonies étant localisées en dehors ne seront pas prises en compte dans le calcul des différentes distances (AM, FB et MF).

4.2.5. Relations entre distances génétiques et paysagères

Afin de déterminer quel modèle de distance paysagère explique le mieux la différenciation génétique entre les colonies échantillonnées, nous avons comparé la corrélation entre la matrice de distances génétiques et les matrices de distances paysagères. La corrélation entre la distance génétique et le logarithme des différentes distances paysagères (Rousset 1997) été évaluée à l'aide de tests de Mantel exécutés avec le package VEGAN (Oksanen *et al.* 2013) implémenté dans le logiciel R. La significativité de ces tests de Mantel a été évaluée à l'aide d'une procédure de permutation (n = 10 000).

4.3. Résultats

Les 11 colonies étudiées en 2010 ont de nouveau été prospectées en 2011 et seules les colonies de Les Planches-près-Arbois et Pretin n'ont pas pu être échantillonnées (pas de guano sur la bâche et absence de rhinolophe respectivement). L'analyse de similarité a révélé que 15 individus ont été échantillonnés à la fois en 2010 et 2011. Ces individus ont tous été ré-échantillonnés dans le même gîte les deux années : 2 individus à AR, 1 à BE, 2 à CM, 3 à CV, 2 à FO, 1 à LP, 3 à OF et 1 à RA.

Sur les 26 colonies échantillonnées en 2011, 1040 échantillons de guanos ont été récoltés. A ce jour, 766 échantillons ont été analysés dont 554 ont été génotypés avec succès sur les huit microsatellites. Cinq gîtes ont été écartés à cause de la mauvaise qualité des échantillons. Les 840 échantillons restant correspondent à 309 individus distincts. Après avoir effectué la comparaison des discordances entre échantillons appartenant au même individu, 89 échantillons ont été écartés du jeu de données. Par conséquent, les analyses suivantes ont été réalisées sur 296 individus (voir table 9 pour le détail par colonie). Les individus ont été échantillonnés de 1 à 6 fois (moyenne 1,26 ; SD 0,65). Le nombre moyen de PCR par individu pour obtenir un profil complet est de 3,20 (SD 1,18).

4.3.1. Variabilité et différenciation génétique des colonies

La richesse allélique moyenne par colonie varie de 3,76 dans la colonie CV à 4,57 pour la colonie RA (Table 9). Sur les 588 tests de déséquilibre de liaison réalisés à chaque locus pour chaque colonie, aucun test n'est significatif après la correction FDR. Les loci sont donc indépendants. Les tests exacts de la déviation à l'équilibre d'Hardy Weinberg sont significatifs pour 4 colonies après la correction FDR (AL, CL, EC, et EP). Les valeurs de F_{IS} sont négatives pour 19 colonies variant de -0,215 à CL jusqu'à -0,062 à OF, seules CM et FO ont des valeurs de F_{IS} positives (0,017 et 0,025 respectivement). L'intervalle de confiance des valeurs de F_{IS} suggère un excès d'hétérozygotes pour 10 colonies (AR, AL, EC, LP, CL, ET, GC, EP, AM et BA). Malgré la valeur faible de F_{ST} global (0,033 ; SD 0.002), la différenciation génétique varie significativement entre colonies (tests G, $p = 0,01$).

Table 9 : Récapitulatif pour les 21 colonies analysées (abréviations décrites Figure 33) de la taille de la colonie estimée par la CPEPESC, du nombre d'échantillons et d'individus génotypés après comparaison des discordances, de la richesse allélique moyenne corrigée par le nombre d'individus génotypés, de l'hétérozygotie observée (HO) avec la valeur de la probabilité du test exact de la déviation à l'écart d'Hardy-Weinberg (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$), l'hétérozygotie attendue (HE), l'indice de fixation F_{IS} [\pm SD], l'indice de fixation local F_{ST} .

Colonies	Taille de la colonie	Nombre d'échantillons génotypés	Nombre d'individus génotypés	Richesse allélique	HO	HE	F_{IS}
AL	30	30	30	4,54	0,879*	0,777	-0,132 [-0,1949 ; -0,0742]
AM	50	17	10	4,01	0,850	0,726	-0,171 [-0,3062 ; -0,0549]
AR	10	18	15	4,23	0,817	0,757	-0,079 [-0,1716 ; -0,0015]
BA	30	12	11	3,82	0,830	0,704	-0,178 [-0,333 ; -0,0416]
BE	10	23	20	4,41	0,831	0,746	-0,115 [-0,2374 ; 0,0714]
CD	30	12	7	4,20	0,768	0,713	-0,077 [-0,266 ; 0,1106]
CH	50	20	12	4,50	0,833	0,784	-0,063 [-0,1974 ; 0,0305]
CL	30	23	17	4,43	0,919**	0,756	-0,215 [-0,2672 ; -0,1661]
CM	10	19	13	4,36	0,750	0,763	0,017 [-0,0913 ; 0,1188]
CV	20	16	11	3,76	0,739	0,685	-0,078

Caractérisation de la structure génétique et relations avec la connectivité paysagère

								[-0,2689 ; 0,0912]
EC	100	29	24	4,18	0,865*	0,739	-0,170	[-0,2578 ; -0,091]
EP	50	15	13	4,23	0,904*	0,746	-0,211	[-0,3 ; -0,1259]
ET	50	18	10	4,36	0,875	0,749	-0,169	[-0,2932 ; -0,0606]
FB	100	17	13	4,12	0,808	0,726	-0,113	[-0,2623 ; 0,0175]
FO	20	16	14	4,51	0,732	0,751	0,025	[-0,0857 ; 0,1062]
GC	10	14	11	3,90	0,852	0,712	-0,196	[-0,2983 ; -0,0998]
GI	40	14	10	3,79	0,775	0,680	-0,140	[-0,3024 ; 0,049]
LP	10	20	16	4,44	0,875	0,768	-0,139	[-0,2592 ; -0,028]
MF	30	17	13	3,83	0,769	0,716	-0,074	[-0,1415 ; 0,0107]
OF	10	16	14	3,99	0,777	0,731	-0,062	[-0,1461 ; 0,0305]
RA	20	14	12	4,57	0,823	0,759	-0,084	[-0,2008 ; 0,0199]

4.3.2. Corrélations entre distances génétiques et distances paysagères

Les tests de Mantel ne révèlent aucune corrélation significative entre les distances génétiques et les distances paysagères (Figure 34).

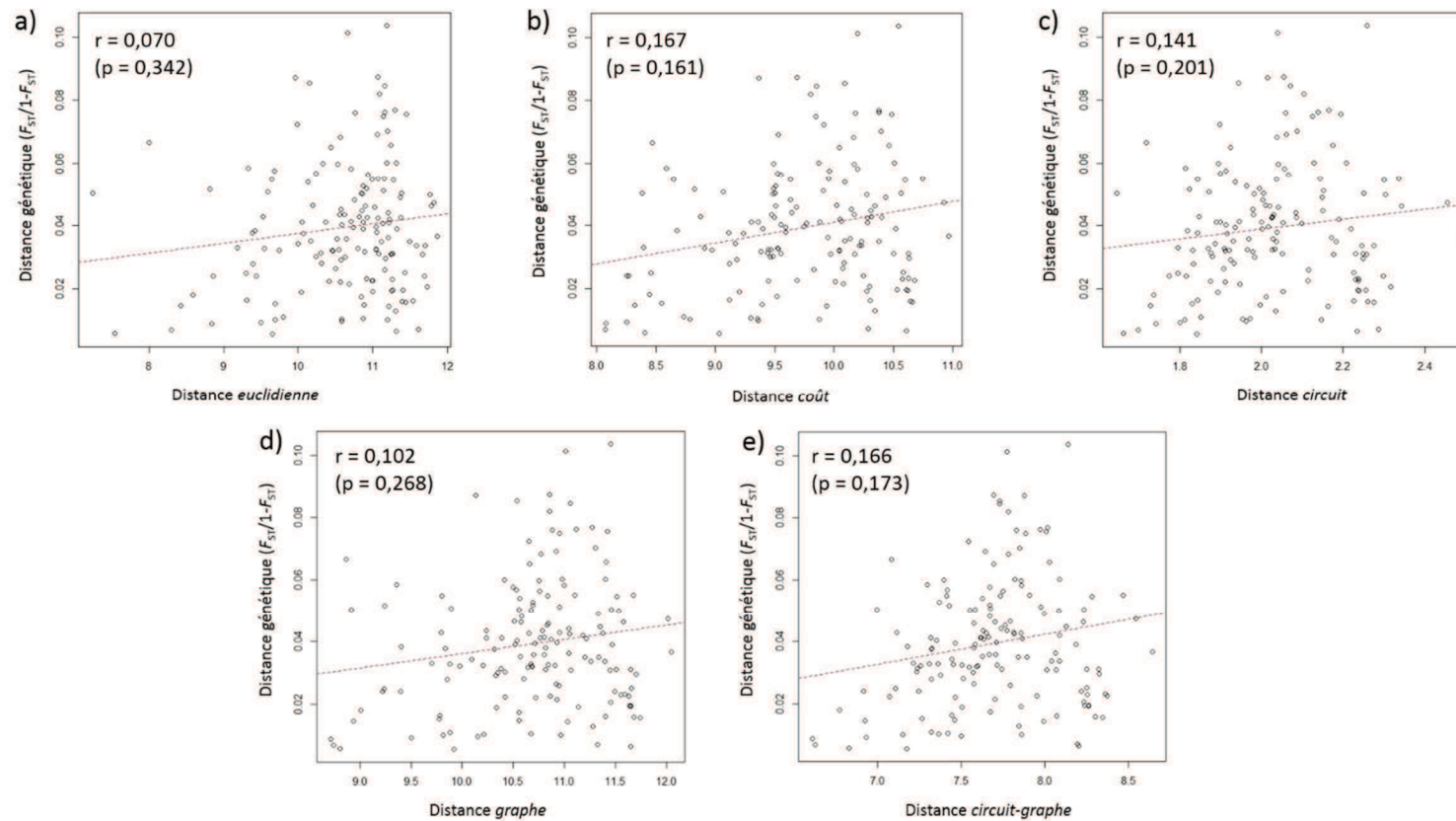


Figure 34 : Représentations des corrélations entre la distance génétique et les distances paysagères entre les colonies

Entre la distance génétique et (a) la distance euclidienne, (b) la distance coût, (c) la distance circuit, (d) la distance graphe et (e) la distance circuit-graphe. La valeur de la corrélation entre la distance génétique et le logarithme des distances paysagères est donnée par le r calculé à l'aide des tests de Mantel et sont présentées avec la probabilité entre parenthèses calculées pour 10000 permutations.

4.4. Discussion

Avec un plus grand nombre de colonies de maternité échantillonnées en 2011 par rapport à 2010, nous retrouvons les mêmes patrons génétiques. Un excès d'hétérozygotes significatif est également observé pour 2011 dans quatre colonies, indiqué par les valeurs de F_{IS} négatives. Cependant, un nettoyage approfondi de la base de données est indispensable avant de conclure sur cet excès. En effet, un premier tri a été effectué en retirant les échantillons appartenant au même individu pour lesquels les discordances ont été confirmées. La relecture de ces profils génétiques est donc nécessaire afin d'éliminer ces discordances et d'éviter d'écartier un grand nombre d'échantillons. Il convient également de vérifier la présence potentielle d'allèle nul et de calculer les taux d'erreur ADO et FA, l'indice de qualité ainsi que le nombre de faux génotypes afin de s'assurer que cet excès d'hétérozygote n'est pas dû à des erreurs de lecture de profil.

Les résultats issus des données collectées en 2011 indiquent une différenciation génétique significative entre les colonies de maternité (tests G, $p = 0,01$). Tout comme sur les données issues de l'échantillonnage de 2010, les analyses confirment le fait que l'isolement par la distance n'est pas un facteur explicatif de cette différenciation génétique observée. Plusieurs autres hypothèses peuvent être émises pour expliquer cette différenciation. La première envisagée dans le cadre de cette étude est que dans un paysage hétérogène, la distance géographique mesurée doit prendre en compte la structure du paysage et non pas uniquement une distance euclidienne. Cependant nos résultats ne montrent pas de corrélation entre la distance génétique et les différentes distances paysagères calculées. Ces résultats suggèrent donc l'absence de barrière aux flux de gènes dans la zone d'étude. En effet, les fortes corrélations entre les matrices de distance euclidienne et les matrices de distances *coût* (Mantel $r = 0,776$; $p < 0,001$), *circuit* (Mantel $r = 0,930$; $p < 0,001$), *graphe* (Mantel $r = 0,921$; $p < 0,001$) et *circuit-graphe* (Mantel $r = 0,854$; $p < 0,001$) indiquent que dans notre cas, les matrices de distances de connectivité sont étroitement corrélées à la matrice de distance euclidienne. Dans le cas où la distance génétique serait significativement corrélée à une distance paysagère (comme la distance *cout* ou *graphe* par exemple), les tests de Mantel ont été récemment critiqués, notamment par Guillot et Rousset (2013). En effet, ils leur reprochent d'être fortement biaisés lorsque la présence d'autocorrélation spatiale est avérée entre la distance génétique et la distance paysagère mesurées (ce qui n'est pas le cas dans cette étude). Du fait de la non-indépendance de la variable réponse (la distance génétique) et des variables explicatives (la distance paysagère) le nombre de degré de liberté serait difficile à estimer. Cela

empêcherait donc l'utilisation de méthodes classiques de sélection du meilleur modèle telles que le coefficient de détermination R^2 ou du critère d'information d'Akaike (AIC ; Manel et Holderegger 2013). Une alternative proposée par Van Strien *et al.* (2012) est d'utiliser des modèles à effets mixtes qui intègrent la covariance des fréquences alléliques.

Les différentes distances paysagères ne permettant pas d'expliquer la différenciation génétique observée, d'autres hypothèses sont à envisager. L'échantillonnage d'ADN d'individus provenant de colonies de maternité implique principalement des femelles. Leur importante fidélité au gîte de maternité suggère qu'elles ne dispersent pas ou très peu (Schofield 1996). Si peu d'études ont évalué directement la fidélité des femelles à leur colonie de maternité, des recaptures annuelles de femelles dans la même colonie de maternité chez différentes espèces ayant des exigences écologiques différentes (*M. bechsteinii*, *R. ferrumequinum*, *P. pipistrellus*) suggèrent une importante philopatrie des femelles à leur colonie natale (Kerth *et al.* 2002; Rossiter *et al.* 2002; Rydell 1989; Thompson 1992). Dans notre étude, bien que le nombre d'individus ré-échantillonnés entre 2010 et 2011 soit faible (15 individus), cette observation va dans le sens d'une fidélité des individus à la colonie de maternité puisqu'ils ont été observés dans le même gîte les deux années consécutives.

Ainsi, si les femelles ne dispersent pas ou peu, nous pouvons supposer que les flux de gènes engendrés par la dispersion des mâles pourraient être à l'origine de la faible différenciation observée chez les femelles. Cependant, si chez certaines espèces de chauves-souris le degré de dispersion et les distances parcourues par les mâles ont été estimés à partir d'études de génétique des populations mettant en relation l'estimation des flux de gènes avec des distances géographiques (Castella *et al.* 2001; Ngamprasertwong *et al.* 2008; Petit *et al.* 2001; Petit et Mayer 1999), chez le petit rhinolophe, aucune étude à notre connaissance n'a permis de caractériser et de quantifier le comportement de dispersion des mâles.

D'autre part, certains comportements observés chez plusieurs espèces de chauves-souris font état de regroupements d'individus (*swarming*) pendant l'automne dans lesquels se déroule la reproduction. Ces regroupements interviennent donc sur des sites spécifiques différents des gîtes de maternité, parfois même directement dans les gîtes d'hivernage et permettent l'accouplement d'individus provenant de différentes colonies (Kerth *et al.* 2002; Kerth et Morf 2004). Afin de caractériser au mieux la structure génétique des populations de petits rhinolophes, il sera donc intéressant de pouvoir échantillonner les individus présents dans les gîtes d'hivernage lors du rassemblement de différentes colonies. Cet échantillonnage

permettrait d'analyser les relations entre les différentes distances paysagères et la différenciation génétique des individus entre les gîtes d'hibernation et ainsi obtenir plus d'information sur le brassage génétique intervenant entre colonies et sur les caractéristiques de dispersion des mâles.

5. Discussion de la deuxième partie

5.1. Apport de l'approche moléculaire dans l'étude des chauves-souris

La réalisation d'études sur la connectivité paysagère est limitée par la difficulté de mesurer directement les mouvements des organismes. Des méthodes indirectes impliquant des analyses génétiques fournissent un outil complémentaire à l'étude des relations entre les organismes et leur environnement (Broquet *et al.* 2006). Les chauves-souris étant des organismes nocturnes et difficiles à étudier à l'aide de méthodes écologiques traditionnelles (observations directes, radio-pistage, capture-marquage-recapture), de nombreuses études portant sur la biologie des populations de ces espèces ont été réalisées à partir d'analyses moléculaires (Burland et Wilmer 2001; Gunnell et Simmons 2012). L'approche moléculaire a largement contribué à l'apport de connaissances sur la biologie des espèces de chauves-souris et notamment sur la compréhension de l'organisation sociale des espèces et sur la caractérisation de la structure génétique de leurs populations.

L'utilisation combinée de marqueurs nucléaires (microsatellites) et de marqueurs liés au sexe (mitochondrial) permet l'identification de patrons génétiques liés à la différence de comportement de dispersion entre mâles et femelles. Par exemple, Petit et Mayer (1999) ont observé chez la noctule commune (*N. noctula*) une forte différenciation génétique entre colonies à partir de l'utilisation d'ADN mitochondrial et une faible différenciation à partir de l'utilisation des microsatellites. Ces informations révèlent une différence de comportement de dispersion entre les deux sexes. Le choix des marqueurs moléculaires à utiliser est donc très dépendant de l'objectif de l'étude (Freeland 2005). L'utilisation des microsatellites dans les études de génétique du paysage se justifie par le fait que ces marqueurs moléculaires ont un fort taux de mutation et permettent de détecter de récentes différenciations génétiques (Spear *et al.* 2005). Dans le cas de cette étude, ces outils moléculaires précédemment développés sur le petit rhinolophe par Puechmaille *et al.* (2005; 2007) ont été utilisés. Cependant, nous avons montré que dans le cas où les flux de gènes seraient assurés par la dispersion des mâles, l'ADN mitochondrial serait plus efficace pour déterminer la structure génétique entre femelles.

L'étude de la structure des populations nécessite également un échantillonnage à large échelle des populations à travers l'ensemble de la zone d'étude, avec un minimum de 10 à 20 individus analysés par population (Burland et Wilmer 2001), d'où l'intérêt d'un échantillonnage non-invasif permettant d'échantillonner suffisamment d'individus sans les capturer. Nos analyses confirment les études de Puechmaile et Petit (2007), montrant que l'acquisition de données génétiques à partir de l'échantillonnage de guano de chauves-souris permet d'identifier les individus par leur profil génétique, et fournit des estimations fiables de tailles de colonie à partir d'une seule session d'échantillonnage lorsque l'on compare ces estimations avec celles fournies par la CPEPESC. Cependant, si cette méthode est efficace, une phase de mise au point des analyses génétiques a tout de même été nécessaire pour obtenir des extraits d'ADN de bonne qualité et pour pouvoir les amplifier convenablement à l'aide de ces amorces spécifiques.

La fiabilité de ces analyses a également été abordée par Boston *et al.* (2012) qui ont démontré que l'extraction d'ADN issu de guano analysé à la fois par des microsatellites (et par l'ADN mitochondrial) fournit des résultats comparables à ceux obtenus à partir de tissus. Toutefois, un plus faible succès d'amplification de l'ADN est cependant observé pour des échantillons de guano. L'ADN issu d'échantillons non-invasifs nécessite d'être amplifié et génotypé plusieurs fois pour s'assurer de la qualité des données (nombre moyen de PCR par échantillon de 2,47 en 2010 et 3,20 en 2011). Cet inconvénient a notamment pour conséquence d'augmenter les coûts liés aux consommables de laboratoire et le temps d'analyse.

Boston *et al.* 2012 montrent également que les taux d'erreur (ADO et FA) sont relativement faibles et l'indice de qualité important. Cela concorde avec nos résultats de l'échantillonnage de 2010 et reste à confirmer sur celui de 2011 par le calcul de ces taux d'erreur. Ces observations montrent que l'ADN issu de ce type d'échantillonnage est de bonne qualité à condition de conserver les échantillons de guano à l'abri de l'humidité (dans du silicagel ou de l'éthanol) et les extraits d'ADN dans de l'eau ultra pure à 4°C. La diminution du succès d'amplification des extraits d'ADN observé dans nos analyses plusieurs mois après l'extraction suggèrent une mauvaise conservation des échantillons, probablement dû au fait que nous avons choisi de les conserver directement à -20°C et que les échantillons ont subi des cycles de congélation-décongélation trop fréquents lors des analyses en laboratoire.

5.2. Comportement de dispersion et de reproduction du petit rhinolophe

Dans cette seconde partie de thèse, nous avons montré l'existence d'une faible différenciation génétique entre les colonies de maternité échantillonnées. Or cette différenciation n'est ni expliquée par un isolement par la distance, ni corrélée aux différentes distances paysagères prenant en compte la connectivité des habitats de cette espèce.

Ces résultats nous ont amené à poser des hypothèses sur le comportement de dispersion et de reproduction du petit rhinolophe pour expliquer cette faible différenciation à l'échelle régionale. Comme nous l'avons discuté précédemment, la philopatrie des femelles de petit rhinolophe à la colonie de naissance ainsi que la dispersion potentielle des mâles de leur colonie natale peuvent expliquer ce patron génétique observé. Pour valider ces hypothèses, des études plus approfondies sur le comportement de fidélité des femelles et de dispersion des mâles seraient donc nécessaires. Cependant, la dispersion des mâles est difficile à mettre en évidence puisqu'ils gîtent en dehors de la colonie de maternité et leur comportement est aujourd'hui encore méconnu. Certaines études sur la dispersion des mâles ont tout de même été réalisées chez d'autres espèces à l'aide d'études de baguage et d'analyses moléculaires chez la noctule commune (Petit *et al.* 2001; Petit et Mayer 1999), ou chez le grand murin (*M. myotis* ; Castella *et al.* 2001).

Afin de valider ces hypothèses et de comprendre plus précisément le comportement des mâles, il serait nécessaire de localiser les sites utilisés par les petits rhinolophes lors de la reproduction où des individus de différentes colonies se rencontrent, pour analyser la différenciation génétique des individus présents. Seules quelques études sur d'autres espèces ont pu mettre en évidence directement ce comportement par des recaptures d'individus provenant de colonies de maternité différentes dans ces sites de reproduction (Parsons et Jones 2003), les autres études se basant principalement sur des analyses moléculaires (Kerth *et al.* 2003; Veith *et al.* 2004). Ces lieux privilégiés de rencontre entre les mâles et les femelles pour la reproduction semblent donc favoriser les flux de gènes entre les chauves-souris provenant de différentes colonies et permet ainsi d'éviter la consanguinité. En effet, une plus grande diversité génétique dans des sites de reproduction (par rapport aux colonies de maternité) a été observée chez le murin de Bechstein et chez l'oreillard roux (*P. auritus*) (Burland *et al.* 1999; Burland *et al.* 2001; Kerth *et al.* 2003; Kerth et Morf 2004; Veith *et al.* 2004). Par ailleurs, d'important flux de gènes ont été observés entre colonies géographiquement isolées de deux espèces ayant un comportement de *swarming*, le murin de Natterer (*M. nattereri*) et le murin de Daubenton (*M. daubentoni*) (Atterby *et al.* 2010; Ngamprasertwong *et al.* 2008; Rivers *et al.* 2005). La

localisation de ces sites de reproduction nécessitent cependant de suivre les mouvements automnaux des individus, peu connus en milieu tempéré (Moussy *et al.* 2013) et en particulier chez le petit rhinolophe. En effet, les mouvements des mâles et des femelles pour l'accouplement n'est pas un comportement commun chez les mammifères (Greenwood 1980) et l'observation d'accouplement d'individus provenant de différentes colonies est limitée. Par ailleurs, le comportement spécifique de reproduction du petit rhinolophe, associé à un faible nombre d'individus reproducteurs peut être à l'origine de l'excès d'hétérozygotie observé dans nos analyses de 2010 (ces résultats restent à confirmer pour 2011).

Bien que ce comportement de reproduction permettent les flux de gènes entre différentes colonies, la faible connectivité des habitats des chauves-souris peut restreindre ces flux comme cela a été suggéré pour le murin de Bechstein (Kerth et Petit 2005). Cependant, notre analyse n'a révélé aucun isolement par la distance, ni de corrélation entre la distance génétique entre les colonies et les distances paysagères intégrant la connectivité. Koen *et al.* (2012) montrent une corrélation positive entre la distance paysagère calculée à partir des valeurs de résistance du circuit et la distance génétique de populations de martres d'Amérique (*Martes americana*) mais ils montrent également qu'un isolement par la distance explique mieux la différenciation génétique observée entre les populations. Les auteurs concluent donc que l'habitat de l'espèce dans la zone d'étude considérée est suffisamment bien connecté pour que la structure paysagère n'entrave pas les flux de gènes entre populations. Cette observation est confirmée par Cushman *et al.* (2013) qui montrent à l'aide de modèles de simulations que les effets de la structure paysagère sur la structure génétique n'est pas mise en évidence lorsque l'habitat considéré est bien connecté. Ainsi d'après nos résultats, l'absence de relation entre la distance génétique mesurée entre les colonies de maternité du petit rhinolophe et les distances paysagères intégrant la connectivité des habitats favorables à l'espèce suggère un bon degré de connectivité en Franche-Comté pour permettre les flux de gènes entre colonies.

Synthèse et perspectives

Ce travail de thèse a pour objectif de caractériser le fonctionnement spatial des colonies de maternité du petit rhinolophe en Franche-Comté.

La première partie porte sur l'analyse de l'influence de la connectivité fonctionnelle des habitats du petit rhinolophe sur la distribution spatiale des gîtes de maternité. La connectivité est mesurée à l'aide de métriques issues de la méthode des graphes paysagers et intégrée à un modèle de distribution d'espèce. Les résultats indiquent que la composition et la structure des éléments paysagers entourant les gîtes permettent de prédire la présence de colonie de maternité. Bien que les gîtes de maternité soient installés dans des anciennes structures telles que des greniers, granges et clochers d'église, l'augmentation de la surface de bâti et de routes influence négativement la présence des colonies. Plusieurs explications peuvent être soumise, dont le fait que les nouveaux bâtis construits en périphérie ne soient pas favorables à l'installation de gîte de maternité mais également la destruction et la fragmentation des habitats de chasse du petit rhinolophe. En effet, notre analyse révèle que la surface en éléments boisés définis par les forêts de feuillus, de conifères, les haies et les vergers influencent la présence de ces gîtes de maternité lorsqu'ils sont localisés dans un voisinage de 600 m. Les analyses mettent en évidence, par l'intermédiaire de métriques de connectivité issue du graphe paysager, le rôle de la connectivité des habitats de cette espèce dans la distribution des gîtes de maternité. Ces gîtes sont donc intégrés dans un réseau à large échelle, reliant les zones potentiellement favorables à l'installation d'une colonie, facilement accessibles par les individus.

Ce réseau à large échelle a notamment pu être mis en évidence dans la réalisation d'un modèle de distribution des gîtes de maternité appliqué à un cas d'étude particulier, la mise en place de la LGV Rhin-Rhône. En effet, nous avons mesuré l'impact potentiel de la mise en place de cette grande infrastructure de transport sur la probabilité de présence de gîte de maternité de l'espèce. Nos résultats indiquent effectivement un effet de la LGV Rhin-Rhône sur la probabilité de présence de ces gîtes, mesuré à plusieurs dizaines de kilomètres de la ligne.

La seconde partie de cette thèse porte sur la caractérisation de la structure génétique des colonies de maternité et de sa mise en relation avec la connectivité paysagère. La différenciation génétique est évaluée à l'aide de marqueurs moléculaires à partir de l'échantillonnage de guano dans les colonies de maternité. Les distances génétiques établies entre colonies sont alors mises en relation avec différentes distances paysagères intégrant la connectivité. Ces analyses génétiques montrent qu'il existe une différenciation significative entre les colonies de maternité échantillonnées, bien qu'elle soit faible. Du fait de la fidélité avérée des femelles de petits

rhinolophes à leur colonie de maternité, l'observation de cette différenciation génétique suggère que les échanges de gènes se produisent entre colonies proches probablement via la dispersion des mâles. Ces résultats impliquent également que les flux de gènes entre colonies interviennent en automne lorsque les mâles et femelles se regroupent pour l'accouplement dans des sites de reproduction avant de rejoindre le gîte d'hivernage.

Les analyses montrent que la structure génétique n'est pas expliquée par un isolement par la distance et n'est pas corrélée aux distances paysagères. Cette absence de relation amène à penser que les habitats favorables aux petits rhinolophes étant bien connectés dans la région Franche-Comté, les individus de différentes colonies se regroupent au moment de la période d'accouplement sur des sites de reproduction facilement accessibles. Ceci permet ainsi d'importants flux de gènes entre les colonies et la faible différenciation génétique observée.

Ces travaux de thèse montrent que pour comprendre la structuration et la dynamique spatiale du petit rhinolophe, il est nécessaire d'intégrer plusieurs échelles d'analyses. Il convient de considérer à la fois l'environnement local des colonies de maternité de petits rhinolophes aux travers des zones de chasse mais également de prendre en compte une échelle spatiale plus large intégrant les sites de reproduction et les gîtes d'hivernage.

La prise en compte de plusieurs échelles spatiales pour expliquer le fonctionnement des espèces au sein d'un paysage hétérogène est un défi en écologie du paysage. L'intégration de ces multiples échelles dans une approche modélisatrice a mené Zetterberg *et al.* (2010) à construire un graphe paysager constitué de « méta-taches » tenant compte des différentes ressources nécessaires à la réalisation du cycle de vie d'une espèce, distribuées à travers un paysage hétérogène. Dans le cas du petit rhinolophe, une méta-tache reviendrait à considérer les taches d'habitat intégrant les gîtes de maternité, de reproduction et également d'hivernage. L'application de cette approche à la modélisation du fonctionnement spatial du petit rhinolophe permettrait ainsi de tenir compte à la fois de l'environnement des colonies de maternité mais également des déplacements des individus entre les gîtes de maternité et d'hivernage et des flux de gènes entre les différentes colonies à l'échelle régionale. Dans leur récente étude basée également sur la méthode des graphes paysagers, Galpern *et al.* (2012) montrent que la prise en compte de multiples échelles est essentielle pour identifier les éléments paysagers influençant les flux de gènes. Cette approche prometteuse permettrait dans notre cas d'intégrer les différentes échelles spatiales mais également temporelles régissant les processus démographiques et génétiques des espèces.

Pour caractériser au mieux la structure génétique des colonies, il serait intéressant de localiser et de mener des études génétiques sur les gîtes d'hivernage afin d'échantillonner une plus large proportion de la population et de mesurer la différenciation génétique d'individus mâles et femelles provenant de plusieurs colonies de maternité.

Bibliographie

- Abbott, I.M., Harrison, S., Butler, F., 2012. Clutter-adaptation of bat species predicts their use of under-motorway passageways of contrasting sizes - a natural experiment. *Journal of Zoology* 287, 124-132.
- Adriaensen, F., Chardon, J.P., De Blust, G., Swinnen, E., Villalba, S., Gulinck, H., Matthysen, E., 2003. The application of 'least-cost' modelling as a functional landscape model. *Landscape and Urban Planning* 64, 233-247.
- Agosta, S.J., 2002. Habitat use, diet and roost selection by the Big Brown Bat (*Eptesicus fuscus*) in North America: a case for conserving an abundant species. *Mammal Review* 32, 179-198.
- Albers, S., Duriscoe, D., 2001. Modeling light pollution from population data and implications for National Park Service lands, In George Wright Forum. pp. 56-68.
- Altringham, J.D., McOwat, T., Hammond, L., 1996. *Bats: Biology and Behaviour*. Oxford University Press.
- Andersson, E., Bodin, O., 2009. Practical tool for landscape planning? An empirical investigation of network based models of habitat fragmentation. *Ecography* 32, 123-132.
- Angelone, S., Kienast, F., Holderegger, R., 2011. Where movement happens: scale-dependent landscape effects on genetic differentiation in the European tree frog. *Ecography* 34, 714-722.
- Arlettaz, R., Godat, S., Meyer, H., 2000. Competition for food by expanding pipistrelle bat populations (*Pipistrellus pipistrellus*) might contribute to the decline of lesser horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*). *Biological Conservation* 93, 55-60.
- Arthur, L., Lemaire, M., 2009. *Les Chauves-souris de France, Belgique, Luxembourg et Suisse*. Biotope.
- Asher, C., 2009. Patterns of genetic diversity in populations of two bat species (*Sturnira ludovici* and *Artibeus toltecus*) in Cusuco National Park, Honduras. *Bioscience Horizons* 2, 147-154.
- Atterby, H., Aegerter, J.N., Smith, G.C., Conyers, C.M., Allnutt, T.R., Ruedi, M., MacNicoll, A.D., 2010. Population genetic structure of the Daubenton's bat (*Myotis daubentonii*) in western Europe and the associated occurrence of rabies. *European Journal of Wildlife Research* 56, 67-81.
- Awise, J.C., Helfman, G.S., Saunders, N.C., Hales, L.S., 1986. Mitochondrial DNA differentiation in North Atlantic eels: population genetic consequences of an unusual life history pattern. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83, 4350-4354.
- Awade, M., Boscolo, D., Metzger, J.P., 2012. Using binary and probabilistic habitat availability indices derived from graph theory to model bird occurrence in fragmented forests. *Landscape Ecology* 27, 185-198.

- Awade, M., Metzger, J.P., 2008. Using gap-crossing capacity to evaluate functional connectivity of two Atlantic rainforest birds and their response to fragmentation. *Austral Ecology* 33, 863-871.
- Bach, L., Burkhardt, P., Limpens, H., 2004. Tunnels as a possibility to connect bat habitats. *Mammalia* 68, 411-420.
- Baguette, M., 2004. The classical metapopulation theory and the real, natural world: a critical appraisal. *Basic and Applied Ecology* 5, 213-224.
- Baguette, M., Blanchet, S., Legrand, D., Stevens, V.M., Turlure, C., 2013. Individual dispersal, landscape connectivity and ecological networks. *Biological Reviews* 88, 310-326.
- Baguette, M., Mennechez, G., 2004. Resource and habitat patches, landscape ecology and metapopulation biology: a consensual viewpoint. *Oikos* 106, 399-403.
- Baguette, M., Van Dyck, H., 2007. Landscape connectivity and animal behavior: functional grain as a key determinant for dispersal. *Landscape Ecology* 22, 1117-1129.
- Balkenhol, N., Waits, L.P., 2009. Molecular road ecology: exploring the potential of genetics for investigating transportation impacts on wildlife. *Molecular Ecology* 18, 4151-4164.
- Balkenhol, N., Waits, L.P., Dezzani, R.J., 2009. Statistical approaches in landscape genetics: an evaluation of methods for linking landscape and genetic data. *Ecography* 32, 818-830.
- Belisle, M., Desrochers, A., 2002. Gap-crossing decisions by forest birds: an empirical basis for parameterizing spatially-explicit, individual-based models. *Landscape Ecology* 17, 219-231.
- Bergerot, B., Tournant, P., Moussus, J.P., Stevens, V.M., Julliard, R., Baguette, M., Foltete, J.C., 2013. Coupling inter-patch movement models and landscape graph to assess functional connectivity. *Population Ecology* 55, 193-203.
- Berthinussen, A., Altringham, J., 2012. The effect of a major road on bat activity and diversity. *Journal of Applied Ecology* 49, 82-89.
- Blehert, D.S., Hicks, A.C., Behr, M., Meteyer, C.U., Berlowski-Zier, B.M., Buckles, E.L., Coleman, J.T.H., Darling, S.R., Gargas, A., Niver, R., Okoniewski, J.C., Rudd, R.J., Stone, W.B., 2009. Bat White-Nose Syndrome: An Emerging Fungal Pathogen? *Science* 323, 227-227.
- Boldogh, S., Dobrosi, D., Samu, P., 2007. The effects of the illumination of buildings on house-dwelling bats and its conservation consequences. *Acta Chiropterologica* 9, 527-534.
- Bontadina, F., Arlettaz, R., Fankhauser, T., Lutz, M., Mühlethaler, E., Theiler, A., Zingg, P., 2001. The lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* in Switzerland: present status and research recommendations. *Le Rhinolophe* 14, 69-83.

- Bontadina, F., Schmied, S.F., Beck, A., Arlettaz, R., 2008. Changes in prey abundance unlikely to explain the demography of a critically endangered Central European bat. *Journal of Applied Ecology* 45, 641-648.
- Bontadina, F., Schofield, H., Naef-Daenzer, B., 2002. Radio-tracking reveals that lesser horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*) forage in woodland. *Journal of Zoology* 258, 281-290.
- Boonman, M., 2011. Factors determining the use of culverts underneath highways and railway tracks by bats in lowland areas. *Lutra* 54, 3-16.
- Boston, E.S.M., Puechmaille, S.J., Scott, D.D., Buckley, D.J., Lundy, M.G., Montgomery, I.W., Prodohl, P.A., Teeling, E.C., 2012. Empirical assessment of non-invasive population genetics in bats: comparison of DNA quality from faecal and tissue samples. *Acta Chiropterologica* 14, 45-52.
- Boughey, K.L., Lake, I.R., Haysom, K.A., Dolman, P.M., 2011a. Effects of landscape-scale broadleaved woodland configuration and extent on roost location for six bat species across the UK. *Biological Conservation* 144, 2300-2310.
- Boughey, K.L., Lake, I.R., Haysom, K.A., Dolman, P.M., 2011b. Improving the biodiversity benefits of hedgerows: How physical characteristics and the proximity of foraging habitat affect the use of linear features by bats. *Biological Conservation* 144, 1790-1798.
- Boyles, J.G., Cryan, P.M., McCracken, G.F., Kunz, T.H., 2011. Economic Importance of Bats in Agriculture. *Science* 332, 41-42.
- Brooks, C.P., 2006. Quantifying population substructure: extending the graph-theoretic approach. *Ecology* 87, 864-872.
- Brooks, T.M., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., Rylands, A.B., Konstant, W.R., Flick, P., Pilgrim, J., Oldfield, S., Magin, G., Hilton-Taylor, C., 2002. Habitat loss and extinction in the hotspots of biodiversity. *Conservation Biology* 16, 909-923.
- Broquet, T., Menard, N., Petit, E., 2007. Noninvasive population genetics: a review of sample source, diet, fragment length and microsatellite motif effects on amplification success and genotyping error rates. *Conservation Genetics* 8, 249-260.
- Broquet, T., Petit, E.J., 2009. Molecular Estimation of Dispersal for Ecology and Population Genetics. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 40, 193-216.
- Broquet, T., Ray, N., Petit, E., Fryxell, J.M., Burel, F., 2006. Genetic isolation by distance and landscape connectivity in the American marten (*Martes americana*). *Landscape Ecology* 21, 877-889.
- Bunn, A.G., Urban, D.L., Keitt, T.H., 2000. Landscape connectivity: A conservation application of graph theory. *Journal of Environmental Management* 59, 265-278.

- Burland, T.M., Barratt, E.M., Beaumont, M.A., Racey, P.A., 1999. Population genetic structure and gene flow in a gleaning bat, *Plecotus auritus*. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences 266, 975-980.
- Burland, T.M., Barratt, E.M., Nichols, R.A., Racey, P.A., 2001. Mating patterns, relatedness and the basis of natal philopatry in the brown long-eared bat, *Plecotus auritus*. Molecular Ecology 10, 1309-1321.
- Burland, T.M., Wilmer, J.W., 2001. Seeing in the dark: molecular approaches to the study of bat populations. Biological Reviews 76, 389-409.
- Calabrese, J.M., Fagan, W.F., 2004. A comparison-shopper's guide to connectivity metrics. Frontiers in Ecology and the Environment 2, 529-536.
- Carravieri, A., Scheifler, R., 2012. Effets des substances chimiques sur les Chiroptères: état des connaissances. Université de Franche-Comté.
- Carter, T.C., Feldhamer, G.A., 2005. Roost tree use by maternity colonies of Indiana bats and northern long-eared bats in southern Illinois. Forest Ecology and Management 219, 259-268.
- Castella, V., Ruedi, M., Excoffier, L., 2001. Contrasted patterns of mitochondrial and nuclear structure among nursery colonies of the bat *Myotis myotis*. Journal of Evolutionary Biology 14, 708-720.
- Cegelski, C.C., Waits, L.P., Anderson, N.J., 2003. Assessing population structure and gene flow in Montana wolverines (*Gulo gulo*) using assignment-based approaches. Molecular Ecology 12, 2907-2918.
- Chen, C., Durand, E., Forbes, F., Francois, O., 2007. Bayesian clustering algorithms ascertaining spatial population structure: a new computer program and a comparison study. Molecular Ecology Notes 7, 747-756.
- Chen, I.C., Hill, J.K., Ohlemuller, R., Roy, D.B., Thomas, C.D., 2011. Rapid Range Shifts of Species Associated with High Levels of Climate Warming. Science 333, 1024-1026.
- Clauzel, C., Girardet, X., Foltête, J.-C., 2013. Impact assessment of a high-speed railway line on species distribution: Application to the European tree frog (*Hyla arborea*) in Franche-Comté. Journal of environmental management 127, 125-134.
- Clobert, J., Danchin, E., Dhondt, A.A., Nichols, J.D., 2001. Dispersal. Oxford University Press, New York.
- Cornuet, J.M., Luikart, G., 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. Genetics 144, 2001-2014.

- Coulon, A., Guillot, G., Cosson, J.F., Angibault, J.M.A., Aulagnier, S., Cargnelutti, B., Galan, M., Hewison, A.J.M., 2006. Genetic structure is influenced by landscape features: empirical evidence from a roe deer population. *Molecular Ecology* 15, 1669-1679.
- Crooks, K.R., Sanjayan, M., 2006. *Connectivity conservation*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Crucitti, P., Cavalletti, L., 2002. Size, dynamics and structure of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) winter aggregations in central Italy. *Hystrix*, 29-40.
- Cushman, S.A., 2006. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biological Conservation* 128, 231-240.
- Cushman, S.A., McKelvey, K.S., Hayden, J., Schwartz, M.K., 2006. Gene flow in complex landscapes: Testing multiple hypotheses with causal modeling. *American Naturalist* 168, 486-499.
- Cushman, S.A., McKelvey, K.S., Schwartz, M.K., 2009. Use of Empirically Derived Source-Destination Models to Map Regional Conservation Corridors. *Conservation Biology* 23, 368-376.
- Cushman, S.A., Shirk, A.J., Landguth, E.L., 2013. Landscape genetics and limiting factors. *Conservation Genetics* 14, 263-274.
- Dale, M.R.T., Fortin, M.J., 2010. From Graphs to Spatial Graphs. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 41.
- Dale, V.H., 2003. *Ecological modeling for resource management*. Springer.
- Davis, W., 1964. Fall swarming of bats at Dixon Cave, Kentucky. *National Speleological Society Bulletin* 26, 32-33.
- Decout, S., Manel, S., Miaud, C., Luque, S., 2012. Integrative approach for landscape-based graph connectivity analysis: a case study with the common frog (*Rana temporaria*) in human-dominated landscapes. *Landscape Ecology* 27, 267-279.
- Dietz, C., von Helversen, O., Nill, D., Dubourg-Savage, M.-J., Jourde, P., 2009. *L'encyclopédie des chauves-souris d'Europe et d'Afrique du Nord: biologie, caractéristiques, protection*. Delachaux et Niestlé.
- Dominguez-Dominguez, O., Boto, L., Alda, F., De Leon, G.P.P., 2007. Human impacts on drainages of the Mesa Central, Mexico, and its genetic effects on an endangered fish, *Zoogoneticus quitzeoensis*. *Conservation Biology* 21, 168-180.
- Dragu, A., Borissov, I., 2011. Low genetic variability of *Rhinolophus mehelyi* (Mehely's horseshoe bat) in Romania. *Acta Theriologica* 56, 383-387.

- Dupanloup, I., Schneider, S., Excoffier, L., 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11, 2571-2581.
- Emaresi, G., Pellet, J., Dubey, S., Hirzel, A.H., Fumagalli, L., 2011. Landscape genetics of the Alpine newt (*Mesotriton alpestris*) inferred from a strip-based approach. *Conservation Genetics* 12, 41-50.
- Epperson, B.K., McRae, B.H., Scribner, K., Cushman, S.A., Rosenberg, M.S., Fortin, M.J., James, P.M.A., Murphy, M., Manel, S., Legendre, P., Dale, M.R.T., 2010. Utility of computer simulations in landscape genetics. *Molecular Ecology* 19, 3549-3564.
- Epps, C.W., Palsboll, P.J., Wehausen, J.D., Roderick, G.K., Ramey, R.R., McCullough, D.R., 2005. Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecology Letters* 8, 1029-1038.
- Epps, C.W., Wehausen, J.D., Bleich, V.C., Torres, S.G., Brashares, J.S., 2007. Optimizing dispersal and corridor models using landscape genetics. *Journal of Applied Ecology* 44, 714-724.
- Estrada, E., Bodin, O., 2008. Using network centrality measures to manage landscape connectivity. *Ecological Applications* 18, 1810-1825.
- Etherington, T.R., Holland, E.P., 2013. Least-cost path length versus accumulated-cost as connectivity measures. *Landscape Ecology* 28, 1223-1229.
- Excoffier, L., Smouse, P.E., Quattro, J.M., 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes - Application to human mitochondrial-DNA restriction data. *Genetics* 131, 479-491.
- Fagan, W.F., 2002. Connectivity, fragmentation, and extinction risk in dendritic metapopulations. *Ecology* 83, 3243-3249.
- Fahrig, L., 1997. Relative effects of habitat loss and fragmentation on population extinction. *Journal of Wildlife Management* 61, 603-610.
- Fahrig, L., 2001. How much habitat is enough? *Biological Conservation* 100, 65-74.
- Fahrig, L., 2002. Effect of habitat fragmentation on the extinction threshold: A synthesis. *Ecological Applications* 12, 346-353.
- Fahrig, L., 2003. Effect of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34, 487-515.
- Fahrig, L., Merriam, G., 1985. Habitat Patch Connectivity and Population Survival. *Ecology* 66, 1762-1768.

- Fall, A., Fortin, M.J., Manseau, M., O'Brien, D., 2007. Spatial graphs: Principles and applications for habitat connectivity. *Ecosystems* 10, 448-461.
- Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J.K., 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164, 1567-1587.
- Farcy, O., Le Rouxel, A., Queau, S., 2009. Activité et terrains de chasse du Petit rhinolophe (*Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800) en Bretagne, France. *Arvicola* 19.
- Fischer, J., Lindenmayer, D.B., 2007. Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Global Ecology and Biogeography* 16, 265-280.
- Foley, J.E., Queen, E.V., Sacks, B., Foley, P., 2005. GIS-facilitated spatial epidemiology of tick-borne diseases in coyotes (*Canis latrans*) in northern and coastal California. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases* 28, 197-212.
- Foll, M., Gaggiotti, O., 2006. Identifying the environmental factors that determine the genetic structure of Populations. *Genetics* 174, 875-891.
- Foltete, J.C., Clauzel, C., Vuidel, G., Tournant, P., 2012. Integrating graph-based connectivity metrics into species distribution models. *Landscape Ecology* 27, 557-569.
- Foltête, J.-C., Clauzel, C., Vuidel, G., 2012. A software tool dedicated to the modelling of landscape networks. *Environmental Modelling and Software* 38, 316-327.
- Forman, R.T.T., 2000. Estimate of the area affected ecologically by the road system in the United States. *Conservation Biology* 14, 31-35.
- Forman, R.T.T., Alexander, L.E., 1998. Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29, 207- 218.
- Fortin, M.-J., James, P.M.A., MacKenzie, A., Melles, S.J., Rayfield, B., 2012. Spatial statistics, spatial regression, and graph theory in ecology. *Spatial Statistics* 1, 100-109.
- Fortuna, M.A., Garcia, C., Guimaraes, P.R., Bascompte, J., 2008. Spatial mating networks in insect-pollinated plants. *Ecology Letters* 11, 490-498.
- Fortuna, M.A., Gomez-Rodriguez, C., Bascompte, J., 2006. Spatial network structure and amphibian persistence in stochastic environments. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 273, 1429-1434.
- Fortuna, M.A., Popa-Lisseanu, G., Ibanez, C., Bascompte, J., 2009. The roosting spatial network of a bird-predator bat. *Ecology* 90, 934-944.
- Franche-Comté, CPEPESC. 2004. Etude d'incidence de la LGV Rhin-Rhône sur le site Natura 2000 "Mine D'Ougney", In Rapport final s'inscrivant dans l'APD du projet. p. 52.

- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A., 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A., 2004. A primer of conservation genetics. Cambridge University Press.
- Franklin, J., Miller, J.A., 2009. Mapping species distributions: spatial inference and prediction. Cambridge University Press.
- Frantz, A.C., Bertouille, S., Eloy, M.C., Licoppe, A., Chaumont, F., Flamand, M.C., 2012. Comparative landscape genetic analyses show a Belgian motorway to be a gene flow barrier for red deer (*Cervus elaphus*), but not wild boars (*Sus scrofa*). *Molecular Ecology* 21, 3445-3457.
- Freeland, J.R., 2005. Molecular ecology. John Wiley & Sons, Chichester.
- Frey-Ehrenbold, A., Bontadina, F., Arlettaz, R., Obrist, M.K., 2013. Landscape connectivity, habitat structure and activity of bat guilds in farmland-dominated matrices. *Journal of Applied Ecology* 50, 252-261.
- Fu, W., Liu, S., Degloria, S.D., Dong, S., Beazley, R., 2010. Characterizing the "fragmentation-barrier" effect of road networks on landscape connectivity: A case study in Xishuangbanna, Southwest China. *Landscape and Urban Planning* 95, 122-129.
- Fuentes-Montemayor, E., Goulson, D., Cavin, L., Wallace, J.M., Park, K.J., 2013. Fragmented woodlands in agricultural landscapes: The influence of woodland character and landscape context on bats and their insect prey. *Agriculture Ecosystems & Environment* 172, 6-15.
- Fuller, T., Munguia, M., Mayfield, M., Sanchez-Cordero, V., Sarkar, S., 2006. Incorporating connectivity into conservation planning: A multi-criteria case study from central Mexico. *Biological Conservation* 133, 131-142.
- Funk, W.C., Blouin, M.S., Corn, P.S., Maxell, B.A., Pilliod, D.S., Amish, S., Allendorf, F.W., 2005. Population structure of Columbia spotted frogs (*Rana luteiventris*) is strongly affected by the landscape. *Molecular Ecology* 14, 483-496.
- Gaisler, J., 1963. The ecology of lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800) in Czechoslovakia, part I. *Vestn. Cesk. Spol. Zool* 27, 211-233.
- Galpern, P., Manseau, M., 2013. Modelling the influence of landscape connectivity on animal distribution: a functional grain approach. *Ecography*.
- Galpern, P., Manseau, M., Fall, A., 2011. Patch-based graphs of landscape connectivity: A guide to construction, analysis and application for conservation. *Biological Conservation* 144, 44-55.

- Galpern, P., Manseau, M., Wilson, P., 2012. Grains of connectivity: analysis at multiple spatial scales in landscape genetics. *Molecular Ecology* 21, 3996-4009.
- Garroway, C.J., Bowman, J., Wilson, P.J., 2011. Using a genetic network to parameterize a landscape resistance surface for fishers, *Martes pennanti*. *Molecular Ecology* 20, 3978-3988.
- Girardet, X., Foltete, J.C., Clauzel, C., 2013. Designing a graph-based approach to landscape ecological assessment of linear infrastructures. *Environmental Impact Assessment Review* 42, 10-17.
- Goetz, S.J., Jantz, P., Jantz, C.A., 2009. Connectivity of core habitat in the Northeastern United States: Parks and protected areas in a landscape context. *Remote Sensing of Environment* 113, 1421-1429.
- Goodwin, B.J., Fahrig, L., 2002. How does landscape structure influence landscape connectivity? *Oikos* 99, 552-570.
- Gorresen, P.M., Willig, M.R., 2004. Landscape responses of bats to habitat fragmentation in Atlantic forest of Paraguay. *Journal of Mammalogy* 85, 688-697.
- Gorresen, P.M., Willig, M.R., Strauss, R.E., 2005. Multivariate analysis of scale-dependent associations between bats and landscape structure. *Ecological Applications* 15, 2126-2136.
- Grant, E.H.C., Lowe, W.H., Fagan, W.F., 2007. Living in the branches: population dynamics and ecological processes in dendritic networks. *Ecology Letters* 10, 165-175.
- Greenwood, P.J., 1980. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour* 28, 1140-1162.
- Gruebler, M.U., Morand, M., Naef-Daenzer, B., 2008. A predictive model of the density of airborne insects in agricultural environments. *Agriculture Ecosystems & Environment* 123, 75-80.
- Guillot, G., Estoup, A., Mortier, F., Cosson, J.F., 2005a. A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics* 170, 1261-1280.
- Guillot, G., Mortier, F., Estoup, A., 2005b. GENELAND: a computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* 5, 712-715.
- Guisan, A., Zimmermann, N.E., 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling* 135, 147-186.
- Guivier, E., Galan, M., Chaval, Y., Xuereb, A., Salvador, A.R., Poulle, M.L., Voutilainen, L., Henttonen, H., Charbonnel, N., Cosson, J.F., 2011. Landscape genetics highlights the role of bank vole metapopulation dynamics in the epidemiology of Puumala hantavirus. *Molecular Ecology* 20, 3569-3583.

- Gunnell, G.F., Simmons, N.B., 2012. Evolutionary History of Bats: Fossils, Molecules and Morphology. Cambridge University Press.
- Gustafson, E.J., Gardner, R.H., 1996. The effect of landscape heterogeneity on the probability of patch colonization. *Ecology* 77, 94-107.
- Hale, J.D., Fairbrass, A.J., Matthews, T.J., Sadler, J.P., 2012. Habitat Composition and Connectivity Predicts Bat Presence and Activity at Foraging Sites in a Large UK Conurbation. *Plos One* 7, 12.
- Hall, C.J., Jordaan, A., Frisk, M.G., 2011. The historic influence of dams on diadromous fish habitat with a focus on river herring and hydrologic longitudinal connectivity. *Landscape Ecology* 26, 95-107.
- Hanks, E.M., Hooten, M.B., 2013. Circuit Theory and Model-Based Inference for Landscape Connectivity. *Journal of the American Statistical Association* 108, 22-33.
- Hansen, A.J., Urban, D.L., 1992. Avian response to landscape pattern : The role of species' life histories. *Landscape Ecology* 7, 163-180.
- Hanski, I., Alho, J., Moilanen, A., 2000. Estimating the parameters of survival and migration of individuals in metapopulations. *Ecology* 81, 239-251.
- Hanski, I., Gilpin, M.E., 1997. *Metapopulation Biology: Ecology, Genetics, and Evolution*. Academic Press, San Diego.
- Hanski, I.A., 1999. *Metapopulation ecology*. Oxford University Press, Oxford.
- Hanski, I.A., Gaggiotti, O.E., 2004. *Ecology, genetics and evolution of metapopulations*. Academic Press.
- Harrison, S., 1994. Metapopulations and conservation. *Large-scale ecology and conservation biology*, 111-128.
- Harrison, S., Hastings, A., 1996. Genetic and evolutionary consequences of metapopulation structure. *Trends in Ecology & Evolution* 11, 180-183.
- Henry, M., Cosson, J.F., Pons, J.M., 2010. Modelling multi-scale spatial variation in species richness from abundance data in a complex neotropical bat assemblage. *Ecological Modelling* 221, 2018-2027.
- Hitchings, S.P., Beebee, T.J.C., 1997. Genetic substructuring as a result of barriers to gene flow in urban *Rana temporaria* (common frog) populations: implications for biodiversity conservation. *Heredity* 79, 117-127.

- Hodgkison, R., Balding, S.T., Zubald, A., Kunz, T.H., 2003. Fruit bats (Chiroptera : Pteropodidae) as seed dispersers and pollinators in a lowland Malaysian rain forest. *Biotropica* 35, 491-502.
- Holderegger, R., Wagner, H.H., 2008. Landscape genetics. *Bioscience* 58, 199-207.
- Holzhaider, J., Kriner, E., Rudolph, B.U., Zahn, A., 2002. Radio-tracking a Lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) in Bavaria: an experiment to locate roosts and foraging sites. *Myotis* 40, 47-54.
- Hutterer, R., Ivanova, T., Meyer-Cords, C., Rodrigues, L., 2005. Bat migrations in Europe: a review of banding data and literature. Bundesamt für Naturschutz, Bonn.
- IUCN, 2012. IUCN Red List of Threatened Species. www.iucnredlist.org. Downloaded on 09 November 2012.
- Jaberg, C., Guisan, A., 2001. Modelling the distribution of bats in relation to landscape structure in a temperate mountain environment. *Journal of Applied Ecology* 38, 1169-1181.
- Jacobs, D., Cotterill, F.P.D., Taylor, P.J., Aulagnier, S., Juste, J., Spitzenberger, F., Hutson, A.M., 2008. *Rhinolophus hipposideros*. In: IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. www.iucnredlist.org.
- Janin, A., Lena, J.P., Ray, N., Delacourt, C., Allemand, P., Joly, P., 2009. Assessing landscape connectivity with calibrated cost-distance modelling: predicting common toad distribution in a context of spreading agriculture. *Journal of Applied Ecology* 46, 833-841.
- Janssens, X., Fontaine, M.C., Michaux, J.R., Libois, R., de Kermabon, J., Defourny, P., Baret, P.V., 2008. Genetic pattern of the recent recovery of European otters in southern France. *Ecography* 31, 176-186.
- Johansson, M., Primmer, C.R., Sahlsten, J., Merila, J., 2005. The influence of landscape structure on occurrence, abundance and genetic diversity of the common frog, *Rana temporaria*. *Global Change Biology* 11, 1664-1679.
- Jones, G., Jacobs, D.S., Kunz, T.H., Willig, M.R., Racey, P.A., 2009. Carpe noctem: the importance of bats as bioindicators. *Endangered Species Research* 8, 93-115.
- Jordan, F., 2003. Quantifying landscape connectivity: key patches and key corridors. *Ecosystems and Sustainable Development* Iv, Vols 1 and 2 18-19, 883-891.
- Karamanlidis, A.A., Straka, M., Drosopoulou, E., Hernando, M.D., Kocijan, I., Paule, L., Scouras, Z., 2012. Genetic diversity, structure, and size of an endangered brown bear population threatened by highway construction in the Pindos Mountains, Greece. *European Journal of Wildlife Research* 58, 511-522.

- Keitt, T.H., Urban, D.L., B.T, M., 1997. Detecting critical scales in fragmented landscapes. *Conservation ecology* 1, 4.
- Keller, L.F., Waller, D.M., 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution* 17, 230-241.
- Kerth, G., Kiefer, A., Trappmann, C., Weishaar, M., 2003. High gene diversity at swarming sites suggest hot spots for gene flow in the endangered Bechstein's bat. *Conservation Genetics* 4, 491-499.
- Kerth, G., Mayer, F., Petit, E., 2002. Extreme sex-biased dispersal in the communally breeding, nonmigratory Bechstein's bat (*Myotis bechsteinii*). *Molecular Ecology* 11, 1491-1498.
- Kerth, G., Melber, M., 2009. Species-specific barrier effects of a motorway on the habitat use of two threatened forest-living bat species. *Biological Conservation* 142, 270-279.
- Kerth, G., Morf, L., 2004. Behavioural and genetic data suggest that Bechstein's bats predominantly mate outside the breeding habitat. *Ethology* 110, 987-999.
- Kerth, G., Petit, E., 2005. Colonization and dispersal in a social species, the Bechstein's bat (*Myotis bechsteinii*). *Molecular Ecology* 14, 3943-3950.
- Kindlmann, P., Burel, F., 2008. Connectivity measures: a review. *Landscape Ecology* 23, 879-890.
- Klingbeil, B.T., Willig, M.R., 2009. Guild-specific responses of bats to landscape composition and configuration in fragmented Amazonian rainforest. *Journal of Applied Ecology* 46, 203-213.
- Koen, E.L., Bowman, J., Garroway, C.J., Mills, S.C., Wilson, P.J., 2012. Landscape resistance and American marten gene flow. *Landscape Ecology* 27, 29-43.
- Kokurewicz, T., 1990. The decrease in abundance of the Lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800 (Chiroptera: Rhinolophidae) in winter quarters in Poland. *Myotis* 28, 109-118.
- Kraaijeveld-Smit, F.J.L., Beebee, T.J.C., Griffiths, R.A., Moore, R.D., Schley, L., 2005. Low gene flow but high genetic diversity in the threatened Mallorcan midwife toad *Alytes muletensis*. *Molecular Ecology* 14, 3307-3315.
- Kunz, T.H., de Torrez, E.B., Bauer, D., Lobova, T., Fleming, T.H., 2011. Ecosystem services provided by bats. *Year in Ecology and Conservation Biology* 1223, 1-38.
- Kunz, T.H., Pierson, E.D., 1994. Bats of the world: an introduction, In Walker's *Bats of the World*. ed. R.M. Nowak, pp. 1-46. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD.

- Laita, A., Kotiaho, J.S., Monkkonen, M., 2011. Graph-theoretic connectivity measures: what do they tell us about connectivity? *Landscape Ecology* 26, 951-967.
- Lande, R., 1987. Extinction Thresholds in Demographic-Models of Territorial Populations. *American Naturalist* 130, 624-635.
- Lebreton, J.D., Burnham, K.P., Clobert, J., Anderson, D.R., 1992. Modeling survival and testing biological hypotheses using marked animals - a unified approach with case-studies. *Ecological Monographs* 62, 67-118.
- Lecis, R., Ferrando, A., Ruiz-Olmo, I., Manas, S., Domingo-Roura, X., 2008. Population genetic structure and distribution of introduced American mink (*Mustela vison*) in Spain, based on microsatellite variation. *Conservation Genetics* 9, 1149-1161.
- Lesinski, G., 2008. Linear landscape elements and bat casualties on roads - an example. *Annales Zoologici Fennici* 45, 277-280.
- Lesinski, G., Kowalski, M., Wojtowicz, B., Gulatowska, J., Lisowska, A., 2007. Bats on forest islands of different size in an agricultural landscape. *Folia Zoologica* 56, 153-161.
- Lesinski, G., Sikora, A., Olszewski, A., 2011. Bat casualties on a road crossing a mosaic landscape. *European Journal of Wildlife Research* 57, 217-223.
- Levins, R., 1969. Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bulletin of the ESA* 15, 237-240.
- Limpens, H., Kapteyn, K., 1991. Bats, their behaviour and linear landscape elements. *Myotis* 29, 39-48.
- Lindenmayer, D., Fischer, J., 2006. Habitat fragmentation and landscape change: an ecological and conservation synthesis. Island Press.
- Loayza, A.P., Loiselle, B.A., 2009. Composition and distribution of a bat assemblage during the dry season in a naturally fragmented landscape in bolivia. *Journal of Mammalogy* 90, 732-742.
- Lookingbill, T.R., Elmore, A.J., Engelhardt, K.A.M., Churchill, J.B., Gates, J.E., Johnson, J.B., 2010. Influence of wetland networks on bat activity in mixed-use landscapes. *Biological Conservation* 143, 974-983.
- Lowe, W.H., Allendorf, F.W., 2010. What can genetics tell us about population connectivity? *Molecular Ecology* 19, 3038-3051.
- Lumsden, L.F., Bennett, A.F., 2005. Scattered trees in rural landscapes: foraging habitat for insectivorous bats in south-eastern Australia. *Biological Conservation* 122, 205-222.

- Lundy, M.G., Buckley, D.J., Boston, E.S.M., Scott, D.D., Prodohl, P.A., Marnell, F., Teeling, E.C., Montgomery, W.I., 2012. Behavioural context of multi-scale species distribution models assessed by radio-tracking. *Basic and Applied Ecology* 13, 188-195.
- Luque, S., Saura, S., Fortin, M.J., 2012. Landscape connectivity analysis for conservation: insights from combining new methods with ecological and genetic data. *Landscape Ecology* 27, 153-157.
- MacArthur, R.H., Wilson, E.O., 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton University Press.
- Manel, S., Gaggiotti, O.E., Waples, R.S., 2005. Assignment methods: matching biological questions techniques with appropriate. *Trends in Ecology & Evolution* 20, 136-142.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G., Taberlet, P., 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution* 18, 189-197.
- Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer research* 27, 209-220.
- Margosian, M.L., Garrett, K.A., Hutchinson, J.M.S., With, K.A., 2009. Connectivity of the American Agricultural Landscape: Assessing the National Risk of Crop Pest and Disease Spread. *Bioscience* 59, 141-151.
- Martinez-Solano, I., Gonzalez, E.G., 2008. Patterns of gene flow and source-sink dynamics in high altitude populations of the common toad *Bufo bufo* (Anura: Bufonidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 95, 824-839.
- May, R.M., 2006. Network structure and the biology of populations. *Trends in Ecology & Evolution* 21, 394-399.
- McAney, C.M., Fairley, J.S., 1988. Activity patterns of the lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* at summer roosts. *Journal of Zoology* 216, 325-338.
- McRae, B.H., 2006. Isolation by resistance. *Evolution* 60, 1551-1561.
- McRae, B.H., Beier, P., 2007. Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 19885-19890.
- McRae, B.H., Dickson, B.G., Keitt, T.H., Shah, V.B., 2008. Using Circuit Theory to Model Connectivity in Ecology, Evolution, and Conservation. *Ecology* 89, 2712-2724.
- Mehr, M., Brandl, R., Hothorn, T., Dziock, F., Forster, B., Muller, J., 2011. Land use is more important than climate for species richness and composition of bat assemblages on a regional scale. *Mammalian Biology* 76, 451-460.

- Merriam, G., 1984. Connectivity: a fundamental ecological characteristic of landscape pattern. *Proceedings of the International Association for Landscape Ecology* 1, 5-15.
- Meyer, C.F.J., Frund, J., Lizano, W.P., Kalko, E.K.V., 2008. Ecological correlates of vulnerability to fragmentation in Neotropical bats. *Journal of Applied Ecology* 45, 381-391.
- Meyer, C.F.J., Kalko, E.K.V., 2008. Assemblage-level responses of phyllostomid bats to tropical forest fragmentation: land-bridge islands as a model system. *Journal of Biogeography* 35, 1711-1726.
- Meyer, C.F.J., Kalko, E.K.V., Kerth, G., 2009. Small-Scale Fragmentation Effects on Local Genetic Diversity in Two Phyllostomid Bats with Different Dispersal Abilities in Panama. *Biotropica* 41, 95-102.
- Mickleburgh, S.P., Hutson, A.M., Racey, P.A., 2002. A review of the global conservation status of bats (vol 36, pg 18, 2002). *Oryx* 36, 206-211.
- Millsbaugh, J., Marzluff, J.M., 2001. Radio tracking and animal populations. Academic Press.
- Minor, E.S., Urban, D.L., 2007. Graph theory as a proxy for spatially explicit population models in conservation planning. *Ecological Applications* 17, 1771-1782.
- Minor, E.S., Urban, D.L., 2008. A graph-theory framework for evaluating landscape connectivity and conservation planning. *Conservation Biology* 22, 297-307.
- Moilanen, A., 2011. On the limitations of graph-theoretic connectivity in spatial ecology and conservation. *Journal of Applied Ecology* 48, 1543-1547.
- Moilanen, A., Hanski, I., 1998. Metapopulation dynamics: Effects of habitat quality and landscape structure. *Ecology* 79, 2503-2515.
- Moilanen, A., Hanski, I., 2001. On the use of connectivity measures in spatial ecology. *Oikos* 95, 147-151.
- Moilanen, A., Nieminen, M., 2002. Simple connectivity measures in spatial ecology. *Ecology* 83, 1131-1145.
- Monmonier, M.S., 1973. Maximum-Difference Barriers: An Alternative Numerical Regionalization Method. *Geographical Analysis* 5, 245-261.
- Morris, A.D., Miller, D.A., Kalcounis-Rueppell, M.C., 2010. Use of forest edges by bats in a managed pine forest landscape. *Journal of Wildlife Management* 74, 26-34.
- Morrison, M.L., Hall, L.S., 2002. Standard terminology: Toward a common language to advance ecological understanding and application. *Predicting Species Occurrences: Issues of Accuracy and Scale*, 43-52.

- Motte, G., Libois, R., 2002. Conservation of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800) (Mammalia : Chiroptera) in Belgium. A case study of feeding habitat requirements. *Belgian Journal of Zoology* 132, 49-54.
- Moussy, C., Hosken, D.J., Mathews, F., Smith, G.C., Aegerter, J.N., Bearhop, S., 2013. Migration and dispersal patterns of bats and their influence on genetic structure. *Mammal Review* 43, 183-195.
- Neel, M.C., 2008. Patch connectivity and genetic diversity conservation in the federally endangered and narrowly endemnic plant species *Astragalms albens* (Fabaceae). *Biological Conservation* 141, 938-955.
- Newman, M.E.J., 2003. The structure and function of complex networks. *Siam Review* 45, 167-256.
- Ngamprasertwong, T., Mackie, I.J., Racey, P.A., Piertney, S.B., 2008. Spatial distribution of mitochondrial and microsatellite DNA variation in Daubenton's bat within Scotland. *Molecular Ecology* 17, 3243-3258.
- Nowicki, F., Dadu, L., Carsignol, J., Bretaud, J.-F., Bielsa, S., 2009. Chiroptères et infrastructures de transports terrestres : menaces et actions de préservation, In *Economie Environnement Conception*. ed. SETRA, p. 22.
- O'Brien, D., Manseau, M., Fall, A., Fortin, M.J., 2006. Testing the importance of spatial configuration of winter habitat for woodland caribou: An application of graph theory. *Biological Conservation* 130, 70-83.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O'Hara, R., Simpson, G.L., Oksanen, M.J., Suggests, M., 2013. Package 'vegan'.
- Opdam, P., van Apeldoorn, R., Schotman, A., Kalkhoven, J., 1993. Population responses to landscape fragmentation, In *Landscape ecology of a stressed environment*. pp. 147-171. Springer.
- Orsini, L., Corander, J., Alasentie, A., Hanski, I., 2008. Genetic spatial structure in a butterfly metapopulation correlates better with past than present demographic structure. *Molecular Ecology* 17, 2629-2642.
- O'Shea, T.J., Bogan, M.A., 2003. Monitoring trends in bat populations of the United States and territories: problems and prospects. DTIC Document.
- O'Shea, T.J., Johnson, J.J., 2009. Environmental contaminants and bats: investigating exposure and effects, In *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. eds T.H. Kunz, S. Parsons, pp. 500–528. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I., Strobeck, C., 1995. Microsatellite analysis of population-structure in canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4, 347-354.

- Parsons, K.N., Jones, G., 2003. Dispersion and habitat use by *Myotis daubentonii* and *Myotis nattereri* during the swarming season: implications for conservation. *Animal Conservation* 6, 283-290.
- Pascual-Hortal, L., Saura, S., 2006. Comparison and development of new graph-based landscape connectivity indices: towards the prioritization of habitat patches and corridors for conservation. *Landscape Ecology* 21, 959-967.
- Pascual-Hortal, L., Saura, S., 2007. Impact of spatial scale on the identification of critical habitat patches for the maintenance of landscape connectivity. *Landscape and Urban Planning* 83, 176-186.
- Petit, E., Balloux, F., Goudet, J., 2001. Sex-biased dispersal in a migratory bat: A characterization using sex-specific demographic parameters. *Evolution* 55, 635-640.
- Petit, E., Mayer, F., 1999. Male dispersal in the noctule bat (*Nyctalus noctula*): where are the limits? *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 266, 1717-1722.
- Petit, E., Mayer, F., 2000. A population genetic analysis of migration: the case of the noctule bat (*Nyctalus noctula*). *Molecular Ecology* 9, 683-690.
- Pinto, N., Keitt, T.H., 2009. Beyond the least-cost path: evaluating corridor redundancy using a graph-theoretic approach. *Landscape Ecology* 24, 253-266.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-959.
- Proulx, S.R., Promislow, D.E.L., Phillips, P.C., 2005. Network thinking in ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution* 20, 345-353.
- Puechmaille, S., Mathy, G., Petit, E., 2005. Characterization of 14 polymorphic microsatellite loci for the lesser horseshoe bat, *Rhinolophus hipposideros* (Rhinolophidae, Chiroptera). *Molecular Ecology Notes* 5, 941-944.
- Puechmaille, S.J., Mathy, G., Petit, E.J., 2007. Good DNA from bat droppings. *Acta Chiropterologica* 9, 269-276.
- Puechmaille, S.J., Petit, E.J., 2007. Empirical evaluation of non-invasive capture-mark-recapture estimation of population size based on a single sampling session. *Journal of Applied Ecology* 44, 843-852.
- Pullinger, M.G., Johnson, C.J., 2010. Maintaining or restoring connectivity of modified landscapes: evaluating the least-cost path model with multiple sources of ecological information. *Landscape Ecology*, 1-14.

- Ramovš, V., Zidar, S., Zagamajster, M., 2010. Emergence and flight routes of the lesser horseshoe bats *Rhinolophus hipposideros* (Bechstein, 1800) from a church at Ljubljansko barje, central Slovenia. *Natura Sloveniae* 12, 35-53.
- Ray, N., Lehmann, A., Joly, P., 2002. Modeling spatial distribution of amphibian populations: a GIS approach based on habitat matrix permeability. *Biodiversity and Conservation* 11, 2143-2165.
- Rayfield, B., Fortin, M.J., Fall, A., 2010. The sensitivity of least-cost habitat graphs to relative cost surface values. *Landscape Ecology* 25, 519-532.
- Rayfield, B., Fortin, M.J., Fall, A., 2011. Connectivity for conservation: a framework to classify network measures. *Ecology* 92, 847-858.
- Reiter, G., Pölzer, E., Mixanig, H., Bontadina, F., Hüttmeir, U., 2013. Impact of landscape fragmentation on a specialised woodland bat, *Rhinolophus hipposideros*. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* 78, 283-289.
- Rhodes, M., Wardell-Johnson, G.W., Rhodes, M.P., Raymond, B., 2006. Applying network analysis to the conservation of habitat trees in urban environments: a case study from Brisbane, Australia. *Conservation Biology* 20, 861-870.
- Ribeiro, R., Carretero, M.A., Sillero, N., Alarcos, G., Ortiz-Santaliestra, M., Lizana, M., Llorente, G.A., 2011. The pond network: can structural connectivity reflect on (amphibian) biodiversity patterns? *Landscape Ecology* 26, 673-682.
- Richard, Y., Armstrong, D.P., 2010. The importance of integrating landscape ecology in habitat models: isolation-driven occurrence of north island robins in a fragmented landscape. *Landscape Ecology* 25, 1363-1374.
- Ricketts, T.H., 2001. The matrix matters: Effective isolation in fragmented landscapes. *American Naturalist* 158, 87-99.
- Rivers, N.M., Butlin, R.K., Altringham, J.D., 2005. Genetic population structure of Natterer's bats explained by mating at swarming sites and philopatry. *Molecular Ecology* 14, 4299-4312.
- Rivers, N.M., Butlin, R.K., Altringham, J.D., 2006. Autumn swarming behaviour of Natterer's bats in the UK: Population size, catchment area and dispersal. *Biological Conservation* 127, 215-226.
- Rossiter, S.J., Jones, G., Ransome, R.D., Barratt, E.M., 2002. Relatedness structure and kin-biased foraging in the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 51, 510-518.
- Rossiter, S.J., Ransome, R.D., Faulkes, C.G., Le Comber, S.C., Jones, G., 2005. Mate fidelity and intra-lineage polygyny in greater horseshoe bats. *Nature* 437, 408-411.

- Rousset, F., 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* 145, 1219-1228.
- Rousset, F., 2000. Genetic differentiation between individuals. *Journal of Evolutionary Biology* 13, 58-62.
- Roué, S., 2011. Plan régional d'action pour les chiroptères. Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement de Franche-Comté.
- Rudnick, D.A., Beier, P., Cushman, S., Dieffenbach, F., Epps, C., 2012. The role of landscape connectivity in planning and implementing conservation and restoration priorities. *Issues Ecol.*
- Russell, A.L., Butchkoski, C.M., Saidak, L., McCracken, G.F., 2009. Road-killed bats, highway design, and the commuting ecology of bats. *Endangered Species Research* 8, 49-60.
- Rydell, J., 1989. Site fidelity in the northern bat (*Eptesicus nilssoni*) during pregnancy and lactation. *Journal of mammalogy* 70, 614-617.
- Sachanowicz, K., Wower, A., Bashta, A.T., 2006. Further range extension of *Pipistrellus kuhlii* (Kuhl, 1817) in central and eastern Europe. *Acta Chiropterologica* 8, 543-548.
- Saunders, D.A., Hobbs, R.J., Margules, C.R., 1991. Biological Consequences of Ecosystem Fragmentation - a Review. *Conservation Biology* 5, 18-32.
- Saura, S., Pascual-Hortal, L., 2007. A new habitat availability index to integrate connectivity in landscape conservation planning: Comparison with existing indices and application to a case study. *Landscape and Urban Planning* 83, 91-103.
- Saura, S., Rubio, L., 2010. A common currency for the different ways in which patches and links can contribute to habitat availability and connectivity in the landscape. *Ecography* 33, 523-537.
- Saura, S., Torne, J., 2009. Conefor Sensinode 2.2: A software package for quantifying the importance of habitat patches for landscape connectivity. *Environmental Modelling & Software* 24, 135-139.
- Sawyer, S.C., Epps, C.W., Brashares, J.S., 2011. Placing linkages among fragmented habitats: do least-cost models reflect how animals use landscapes? *Journal of Applied Ecology* 48, 668-678.
- Schick, R.S., Lindley, S.T., 2007. Directed connectivity among fish populations in a riverine network. *Journal of Applied Ecology* 44, 1116-1126.
- Schofield, H.W., 1996. The ecology and conservation biology of *Rhinolophus hipposideros*, the lesser horseshoe bat, In Unpublished PhD thesis. University of Aberdeen.

- Schofield, H.W., Messenger, J., Birks, J., Jermyn, D., 2002. Foraging and roosting behaviour of lesser horseshoe bats at the Ciliau, Radnor. Vincent Wildlife Trust, Ledbury, United Kingdom.
- Segelbacher, G., Cushman, S.A., Epperson, B.K., Fortin, M.J., Francois, O., Hardy, O.J., Holderegger, R., Taberlet, P., Waits, L.P., Manel, S., 2010. Applications of landscape genetics in conservation biology: concepts and challenges. *Conservation Genetics* 11, 375-385.
- Segelbacher, G., Manel, S., Tomiuk, J., 2008. Temporal and spatial analyses disclose consequences of habitat fragmentation on the genetic diversity in capercaillie (*Tetrao urogallus*). *Molecular Ecology* 17, 2356-2367.
- Selkoe, K.A., Toonen, R.J., 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9, 615-629.
- Shah, V., McRae, B., 2008. Circuitscape: a tool for landscape ecology, In *Proceedings of the 7th Python in Science Conference*. pp. 62-66.
- Shepard, D.B., Kuhns, A.R., Dreslik, M.J., Phillips, C.A., 2008. Roads as barriers to animal movement in fragmented landscapes. *Animal Conservation* 11, 288-296.
- Shields, W.M., 1987. Dispersal and mating systems: investigating their causal connections. *Mammalian dispersal patterns: The effects of social structure on population genetics*, 3-24.
- Simmons, N., 2005. Order Chiroptera, In *Mammal species of the world*. eds D. Wilson, D. Reeder, pp. 312–529. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Smith, M.A., Green, D.M., 2005. Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* 28, 110-128.
- Smouse, P.E., Long, J.C., Sokal, R.R., 1986. Multiple-regression and correlation extensions of the mantel test of matrix correspondence. *Systematic Zoology* 35, 627-632.
- Spear, S.F., Balkenhol, N., Fortin, M.J., McRae, B.H., Scribner, K., 2010. Use of resistance surfaces for landscape genetic studies: considerations for parameterization and analysis. *Molecular Ecology* 19, 3576-3591.
- Spear, S.F., Peterson, C.R., Matocq, M.D., Storfer, A., 2005. Landscape genetics of the blotched tiger salamander (*Ambystoma tigrinum melanostictum*). *Molecular Ecology* 14, 2553-2564.
- Spear, S.F., Storfer, A., 2008. Landscape genetic structure of coastal tailed frogs (*Ascaphus truei*) in protected vs. managed forests. *Molecular Ecology* 17, 4642-4656.
- Stebbing, R.E., 1988. *The conservation of European bats*. Christopher Helm London.

- Stevens, V.M., Turlure, C., Baguette, M., 2010. A meta-analysis of dispersal in butterflies. *Biological Reviews* 85, 625-642.
- Stevens, V.M., Verkenne, C., Vandewoestijne, S., Wesselingh, R.A., Baguette, M., 2006. Gene flow and functional connectivity in the natterjack toad. *Molecular Ecology* 15, 2333-2344.
- Stone, E.L., Jones, G., Harris, S., 2009. Street lighting disturbs commuting bats. *Current Biology* 19, 1123-1127.
- Storfer, A., Murphy, M.A., Evans, J.S., Goldberg, C.S., Robinson, S., Spear, S.F., Dezzani, R., Delmelle, E., Vierling, L., Waits, L.P., 2007. Putting the 'landscape' in landscape genetics. *Heredity* 98, 128-142.
- Storfer, A., Murphy, M.A., Spear, S.F., Holderegger, R., Waits, L.P., 2010. Landscape genetics: where are we now? *Molecular Ecology* 19, 3496-3514.
- Struebig, M.J., Kingston, T., Petit, E.J., Le Comber, S.C., Zubaid, A., Mohd-Adnan, A., Rossiter, S.J., 2011. Parallel declines in species and genetic diversity in tropical forest fragments. *Ecology Letters* 14, 582-590.
- Sutherland, W.J., 2006. *Ecological census techniques: a handbook*. Cambridge University Press.
- Taberlet, P., Griffin, S., Goossens, B., Questiau, S., Manceau, V., Escaravage, N., Waits, L.P., Bouvet, J., 1996. Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic Acids Research* 24, 3189-3194.
- Taberlet, P., Waits, L.P., Luikart, G., 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution* 14, 323-327.
- Taylor, P.D., Fahrig, L., Henein, K., Merriam, G., 1993. Connectivity Is a Vital Element of Landscape Structure. *Oikos* 68, 571-573.
- Thomas, S.P., Suthers, R.A., 1972. The physiology and energetics of bat flight. *Journal of Experimental Biology* 57, 317-335.
- Thompson, M., 1992. Roost philopatry in female pipistrelle bats *Pipistrellus pipistrellus*. *Journal of Zoology* 228, 673-679.
- Threlfall, C.G., Law, B., Banks, P.B., 2012. Sensitivity of insectivorous bats to urbanization: Implications for suburban conservation planning. *Biological Conservation* 146, 41-52.
- Tischendorf, L., Fahrig, L., 2000a. How should we measure landscape connectivity ? *Landscape Ecology* 15, 633-641.
- Tischendorf, L., Fahrig, L., 2000b. On the usage and measurement of landscape connectivity. *Oikos* 90, 7-19.

- Tischendorf, L., Fahring, L., 2000. On the usage and measurement of landscape connectivity. *Oikos* 90, 7-19.
- Tournant, P., Afonso, E., Baurand, P.-E., Roué, S., Foltête, J.-C., Giraudoux, P., Genetic structure of a regional population of the lesser horseshoe bat at maternity roosts : female philopatry does not prevent low genetic differentiation. Submitted to *Journal of Heredity*.
- Tournant, P., Afonso, E., Roué, S., Giraudoux, P., Foltête, J.-C., 2013. Evaluating the effect of habitat connectivity on the distribution of lesser horseshoe bat maternity roosts using landscape graphs. *Biological Conservation* 164, 39-49.
- Treml, E.A., Halpin, P.N., Urban, D.L., Pratson, L.F., 2008. Modeling population connectivity by ocean currents, a graph-theoretic approach for marine conservation. *Landscape Ecology* 23, 19-36.
- Urban, D., Keitt, T., 2001. Landscape connectivity: A graph-theoretic perspective. *Ecology* 82, 1205-1218.
- Urban, D.L., Minor, E.S., Treml, E.A., Schick, R.S., 2009. Graph models of habitat mosaics. *Ecology Letters* 12, 260-273.
- Van Dyck, H., Baguette, M., 2005. Dispersal behaviour in fragmented landscapes: Routine or special movements? *Basic and Applied Ecology* 6, 535-545.
- Vasas, V., Magura, T., Jordan, F., Tothmeresz, B., 2009. Graph theory in action: evaluating planned highway tracks based on connectivity measures. *Landscape Ecology* 24, 581-586.
- Veith, M., Beer, N., Kiefer, A., Johannesen, J., Seitz, A., 2004. The role of swarming sites for maintaining gene flow in the brown long-eared bat (*Plecotus auritus*). *Heredity* 93, 342-349.
- Verbeylen, G., De Bruyn, L., Adriaensen, F., Matthysen, E., 2003. Does matrix resistance influence Red squirrel (*Sciurus vulgaris* L. 1758) distribution in an urban landscape? *Landscape Ecology* 18, 791-805.
- Verboom, B., Huitema, H., 1997. The importance of linear landscape elements for the pipistrelle *Pipistrellus pipistrellus* and the serotine bat *Eptesicus serotinus*. *Landscape Ecology* 12, 117-125.
- Wagner, H.H., Werth, S., Kalwij, J.M., Bolli, J.C., Scheidegger, C., 2006. Modelling forest recolonization by an epiphytic lichen using a landscape genetic approach. *Landscape Ecology* 21, 849-865.
- Walker, L.A., Simpson, V.R., Rockett, L., Wienburg, C.L., Shore, R.F., 2007. Heavy metal contamination in bats in Britain. *Environmental Pollution* 148, 483-490.
- Walsh, A.L., Harris, S., 1996. Foraging habitat preferences of vespertilionid bats in Britain. *Journal of Applied Ecology* 33, 508-518.

- Wang, Y.H., Yang, K.C., Bridgman, C.L., Lin, L.K., 2008. Habitat suitability modelling to correlate gene flow with landscape connectivity. *Landscape Ecology* 23, 989-1000.
- Warnecke, L., Turner, J.M., Bollinger, T.K., Lorch, J.M., Misra, V., Cryan, P.M., Wibbelt, G., Blehert, D.S., Willis, C.K.R., 2012. Inoculation of bats with European *Geomyces destructans* supports the novel pathogen hypothesis for the origin of white-nose syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, 6999-7003.
- Warren, R.D., Witter, M.S., 2002. Monitoring trends in bat populations through roost surveys: methods and data from *Rhinolophus hipposideros*. *Biological Conservation* 105, 255-261.
- Weiner, P., Zahn, A., 2001. Roosting ecology, population development, emergence behaviour and diet of a colony of *Rhinolophus hipposideros* (Chiroptera: Rhinolophidae) in Bavaria, In *Proceedings of the VIIIth EBRS. Approaches to Biogeography and Ecology of Bats.* ed. B.W. Woloszyn, pp. 231–242. Platan Publishing House, Krakow.
- Wiens, J., 1997. Metapopulation dynamics and landscape ecology. *Metapopulation biology: ecology, genetics, and evolution.* Academic Press, San Diego, California, USA, 43-62.
- Williams, C.A., 2001. The winter ecology of *Rhinolophus hipposideros*, the lesser horseshoe bat. Open University, Cornwall, United Kingdom.
- Wilmer, J.W., Elkin, C., Wilcox, C., Murray, L., Niejalke, D., Possingham, H., 2008. The influence of multiple dispersal mechanisms and landscape structure on population clustering and connectivity in fragmented artesian spring snail populations. *Molecular Ecology* 17, 3733-3751.
- Wirth, T., Bernatchez, L., 2001. Genetic evidence against panmixia in the European eel. *Nature* 409, 1037-1040.
- With, K.A., 2004. Assessing the risk of invasive spread in fragmented landscapes. *Risk Analysis* 24, 803-815.
- With, K.A., Crist, T.O., 1995. Critical threshold in species responses to landscape structure. *Ecology* 76, 2446-2459.
- With, K.A., Gardner, R.H., Turner, M.G., 1997. Landscape connectivity and population distributions in heterogeneous environments. *Oikos* 78, 151-169.
- With, K.A., King, A.W., 1999. Extinction thresholds for species in fractal landscapes. *Conservation Biology* 13, 314-326.
- Wood, M.J., Cosgrove, C.L., Wilkin, T.A., Knowles, S.C.L., Day, K.P., Sheldon, B.C., 2007. Within-population variation in prevalence and lineage distribution of avian malaria in blue tits, *Cyanistes caeruleus*. *Molecular Ecology* 16, 3263-3273.
- Wright, S., 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28, 114-138.

Wright, S., 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15, 323-354.

Zahn, A., Holzhaider, J., Kriner, E., Maier, A., Kayikcioglu, A., 2008. Foraging activity of *Rhinolophus hipposideros* on the island of Herrenchiemsee, Upper Bavaria. *Mammalian Biology* 73, 222-229.

Zeller, K.A., McGarigal, K., Whiteley, A.R., 2012. Estimating landscape resistance to movement: a review. *Landscape Ecology* 27, 777-797.

Zetterberg, A., Mortberg, U.M., Balfors, B., 2010. Making graph theory operational for landscape ecological assessments, planning, and design. *Landscape and Urban Planning* 95, 181-191.

Zurcher, A.A., Sparks, D.W., Bennett, V.J., 2010. Why the bat did not cross the road? *Acta chiropterologica* 12, 337-340.

Liste des figures

Figure 1 : Fragmentation progressive de l'habitat forestier.....	1
Figure 2 : Représentations d'un paysage dans la théorie des métapopulations et en écologie du paysage.....	5
Figure 3 : Représentation schématique de deux estimations de la connectivité.....	6
Figure 4 : Chemins de moindre coût déterminés à partir d'une carte de résistance.....	10
Figure 5 : Représentations des modèles de chemins de moindre coût et du courant électrique.....	10
Figure 6 : Illustrations de l'utilisation des circuits pour modéliser la connectivité paysagère.....	12
Figure 7 : Définition des nœuds du graphe paysager.....	14
Figure 8 : Liens symétriques et asymétriques.....	15
Figure 9 : Graphe complet et graphe planaire minimal.....	16
Figure 10 : Graphes seuillés à différentes distances.....	17
Figure 11 : Représentation de trois métriques de connectivité fondées sur la théorie des métapopulations calculées à partir d'un graphe paysager.....	20
Figure 12 : Attribution des valeurs des métriques de graphe par rattachement simple ou multiple.....	22
Figure 13 : Illustration des tests d'assignation utilisés en génétique du paysage pour déterminer si un élément paysager constitue une barrière aux flux de gènes.....	29
Figure 14 : Illustration de l'approche basée sur les distances génétiques corrélées à la structure du paysage (via les distances écologiques).....	32
Figure 15 : Cartes de recensement des espèces de chauves-souris métropolitaines.....	34
Figure 16 : Photographie d'un petit rhinolophe (<i>Rhinolophus hipposideros</i>).....	37
Figure 17 : Carte de répartition du petit rhinolophe.....	38
Figure 18 : Cycle biologique des chauves-souris.....	39
Figure 19 : Photographies de l'environnement de gîte de maternité du petit rhinolophe en Franche-Comté.....	46
Figure 20 : Extrait de la cartographie de la zone d'étude représentant les douze classes d'occupation du sol définies autour d'un gîte de maternité.....	48
Figure 21 : Représentation schématique de la définition des nœuds du graphe paysager et du calcul de la métrique R.....	49

<i>Figure 22 : Extrait de la cartographie de l'estimation de la pollution lumineuse de la zone d'étude selon Albers et Duriscoe (2001).....</i>	<i>50</i>
<i>Figure 23 : Location of lesser horseshoe bat maternity roosts with abundance of individuals in the Franche-Comté region, Eastern France</i>	<i>56</i>
<i>Figure 24 : Predicted presence probability of lesser horseshoe bat maternity roosts according to the proportions of artificial and woodland areas within a 600 m radius buffer.....</i>	<i>68</i>
<i>Figure 25 : Landscape graph of the lesser horseshoe bat habitat in the Franche-Comté region, Eastern France.....</i>	<i>69</i>
<i>Figure 26 : Predicted presence probability of lesser horseshoe bat maternity roosts according to the recruitment, and betweenness centrality for long distance values for the minimum (a), the mean (b), and the maximum proportion (c) of artificial areas surrounding maternity roosts .</i>	<i>71</i>
<i>Figure 27 : Tracé des trois branches de la LGV Rhin-Rhône</i>	<i>83</i>
<i>Figure 28 : Construction de la branche est de la LGV Rhin-Rhône.....</i>	<i>83</i>
<i>Figure 29 : Carte de la variabilité de la probabilité de présence de gîte de maternité après la mise en place de la LGV.....</i>	<i>85</i>
<i>Figure 30 : Variabilité de la probabilité de présence de gîtes de maternité après la mise en place de la LGV en fonction de la distance à l'infrastructure (km).....</i>	<i>86</i>
<i>Figure 31 : Location of the 11 R. hipposideros maternity roosts</i>	<i>107</i>
<i>Figure 32 : Spatial genetic clusters according to GENELAND</i>	<i>118</i>
<i>Figure 33 : Gîtes de maternité prospectés et échantillonnés en 2011</i>	<i>132</i>
<i>Figure 34 : Représentations des corrélations entre la distance génétique et les distances paysagères entre les colonies.....</i>	<i>139</i>

Liste des tables

<i>Table 1 : Listes de valeurs de coûts attribuées à chaque éléments paysagers pour le calcul des chemins de moindre coût.....</i>	<i>51</i>
<i>Table 2 : The 12 land cover classes used to create the landscape map, the sources of data, and the 4 categories into which they were collapsed for composition and connectivity analyses..</i>	<i>58</i>
<i>Table 3 : Magnitude of the difference in woodland and open land extent between colony sizes (small: 5 to 50 bats, medium: 50 to 100 bats, and large: 100 to 200 bats) for the different buffer sizes (600, 2500, and 5000 m). Differences between medium and small colonies were not significant and are not shown. Proportion of Woodland (%) and Proportion of Open Land (%) provide data on the magnitude of the difference in woodland and open land extent between the different buffer sizes.</i>	<i>65</i>
<i>Table 4 : Model comparisons of the probability of presence of lesser horseshoe bat maternity roosts in the Franche-Comté region according to four landscape composition variables and to a null model for three buffer sizes: 600 m; 2500 m, and 5000 m. The bold model represents the final selected model.....</i>	<i>67</i>
<i>Table 5 : Model comparisons of the presence probability of lesser horseshoe bat maternity roosts in the Franche-Comté region according to landscape variables (composition and connectivity). The bold model represents the final selected model.</i>	<i>70</i>
<i>Table 6 : Microsatellites used for the genotyping of R. hipposideros from dropping samples: loci comprised in the three multiplex PCR with the fluoro-label used, primer concentration for multiplex PCR, and number of alleles.....</i>	<i>109</i>
<i>Table 7 : Mean ADO and FA and quality index rates per colony, probability of a genotype being incorrect (containing at least one error; E_T) with in parenthesis the expected number of erroneous genotypes, probability of having a wrong genotype with exactly one or two errors (E_{1or2}) with in parenthesis the expected number of erroneous genotypes, probability of identity for unrelated individuals corrected for small samples ($P_{ID-umbiased}$) and for related individuals ($P_{ID-siblings}$), and the minimum number of individuals that could be discriminated assuming full siblings.</i>	<i>114</i>
<i>Table 8 : Colony size category, number of distinct genotypes (i.e. individuals sampled), estimated number of individuals in the colony based on a sequential Bayesian estimator and a maximum likelihood estimator under TIRM with 95% highest posterior probability confidence interval in parenthesis, mean allelic richness corrected for samples size, observed heterozygosity (HO) with probability values for testing the Hardy-Weinberg (HW) equilibrium indicated by * (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$), expected heterozygosity (HE), intrapopulation fixation index (F_{IS}) with 95% highest posterior probability confidence interval in parenthesis , and local fixation index values (F_{ST}) in the 11 R. hipposideros colonies sampled in maternity roosts. Colony abbreviations as in Figure 31.....</i>	<i>115</i>

Table 9 : Récapitulatif pour les 21 colonies analysées (abrégations décrites Figure 33) de la taille de la colonie estimée par la CPEPESC, du nombre d'échantillons et d'individus génotypés après comparaison des discordances, de la richesse allélique moyenne corrigée par le nombre d'individus génotypés, de l'hétérozygotie observée (HO) avec la valeur de la probabilité du test exact de la déviation à l'écart d'Hardy-Weinberg ($p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$), l'hétérozygotie attendue (HE), l'indice de fixation F_{IS} [\pm SD], l'indice de fixation local F_{ST} 137*

Liste des encadrés

<i>Encadré 1 : Paysage schématique en écologie du paysage</i>	3
<i>Encadré 2 : Définitions en génétique</i>	24
<i>Encadré 3 : Colonie et gîte</i>	40

Annexes

Annexe 1 : Coupling inter-patch movement models and landscape graph to assess functional connectivity

Benjamin Bergerot • Pierline Tournant • Jean-Pierre Moussus • Virginie-M. Stevens • Romain Julliard
• Michel Baguette • Jean-Christophe Foltête

B. Bergerot (corresponding author) • J.-P. Moussus • R. Julliard • M. Baguette
CNRS-MNHN-PARIS VI UMR 7204 'Conservation des Espèces, Restauration et Suivi des
Populations', CRBPO, 55 Rue Buffon, CP 51, 75005 Paris, France
e-mail: bergerot@mnhn.fr

B. Bergerot
Hepia, Centre de Lullier, University of Applied Sciences, Western Switzerland, Technology,
Architecture and Landscape, Route de Presinge 150, 1254 Jussy, Switzerland

J.C. Foltête • P. Tournant
Théma UMR 6049 CNRS, Université de Franche-Comté
32, rue Mégevand, F-25030 Besançon, France

V.-M. Stevens
F.R.S. FNRS, Unité de Biologie Du Comportement, Université de Liège,
22 quai Van Beneden, 4020 Liège, Belgium

V.-M. Stevens • M. Baguette
CNRS USR 2936 'Station d'écologie expérimentale du CNRS',
09200 Moulis, France

P. Tournant
Chrono-Environnement UMR 6249 CNRS, University of Franche-Comté
Place Leclerc, F-25030 Besançon, France

Published in Population ecology

Received: April 12, 2012

Accepted: October 16, 2012

Coupling inter-patch movement models and landscape graph to assess functional connectivity

Benjamin Bergerot · Pierline Tournant · Jean-Pierre Moussus ·
Virginie-M. Stevens · Romain Julliard · Michel Baguette ·
Jean-Christophe Foltête

Received: 12 April 2012 / Accepted: 16 October 2012 / Published online: 15 November 2012
© The Society of Population Ecology and Springer Japan 2012

Abstract Landscape connectivity is a key process for the functioning and persistence of spatially-structured populations in fragmented landscapes. Butterflies are particularly sensitive to landscape change and are excellent model organisms to study landscape connectivity. Here, we infer functional connectivity from the assessment of the selection of different landscape elements in a highly fragmented landscape in the Île-de-France region (France). Firstly we measured the butterfly preferences of the Large White butterfly (*Pieris brassicae*) in different landscape elements using individual release experiments. Secondly, we used an inter-patch movement model based on butterfly choices to build the selection map of the landscape elements to moving butterflies. From this map, functional connectivity network of *P. brassicae* was

modelled using landscape graph-based approach. In our study area, we identified nine components/groups of connected habitat patches, eight of them located in urbanized areas, whereas the last one covered the more rural areas. Eventually, we provided elements to validate the predictions of our model with independent experiments of mass release-recapture of butterflies. Our study shows (1) the efficiency of our inter-patch movement model based on species preferences in predicting complex ecological processes such as dispersal and (2) how inter-patch movement model results coupled to landscape graph can assess landscape functional connectivity at large spatial scales.

Keywords Dispersal · Fragmented landscape · Inter-patch movement modelling · Lepidoptera · *Pieris brassicae* · Urbanization

B. Bergerot (✉) · J.-P. Moussus · R. Julliard · M. Baguette
CNRS-MNHN-PARIS VI UMR 7204 'Conservation des
Espèces, Restauration et Suivi des Populations', CRBPO,
55 Rue Buffon, CP 51, 75005 Paris, France
e-mail: bergerot@mnhn.fr

B. Bergerot
Hepia, Centre de Lullier, University of Applied Sciences
Western Switzerland, Technology, Architecture and Landscape,
Route de Presinge 150, 1254 Jussy, Switzerland

P. Tournant · J.-C. Foltête
CNRS-UMR ThéMA 6049, Université de Franche-Comté,
32 rue Mégevand, 25030 Besançon Cedex, France

V.-M. Stevens
F.R.S. FNRS, Unité de Biologie Du Comportement, Université
de Liège, 22 quai Van Beneden, 4020 Liège, Belgium

V.-M. Stevens · M. Baguette
CNRS USR 2936 'Station d'écologie expérimentale du CNRS,
09200 Moulis, France

Introduction

Habitat fragmentation is defined as the emergence of discontinuities in the habitat of a given species (Wilcove et al. 1986; Fahrig 2003; Haddad and Tewksbury 2005). From an organism's viewpoint, the fragmentation process creates a patchwork of suitable habitats separated by a matrix of landscape elements that are more or less hospitable according to their resource availability or permeability to movements. As habitat patches are often too small to sustain viable populations, the persistence of many species in fragmented landscapes relies on dispersal, i.e., the movements of individuals which maintain gene flow between local populations, rescue declining populations or allow recolonizations after local extinction (Fahrig and Merriam 1994; Haddad 1999; Hanski 1999).

Landscape connectivity describes how elements making up a given landscape will facilitate or impede the movements of dispersing individuals (e.g., Taylor et al. 1993). The mechanistic understanding of the dispersal process is an essential prerequisite to the assessment of landscape connectivity. Dispersal can be considered as a three-stage process: (1) the decision of leaving a suitable habitat, (2) the transience through more or less hospitable landscape elements and (3) the settlement in an empty habitat or a local population (Stevens et al. 2010). As various costs and benefits are associated to each of these stages, they are under uncoupled selection pressures (Baguette and Van Dyck 2007; Clobert et al. 2009), which hinders wide generalizations but rather makes functional landscape connectivity population specific. Functional connectivity ultimately results from habitat selection by dispersing individuals (i.e., their choice at the border between landscape elements). Dispersal is itself controlled by the permeability of each landscape element (i.e., the relative costs and benefits associated to their crossing; e.g., Stevens et al. 2006). Consequently, considering functional connectivity requires dealing with individuals' dispersal fluxes. If dispersal events are difficult to observe directly, dispersal connectivity can be estimated using techniques such as cost-distance modelling, individual based models or landscape genetics (Baguette and Van Dyck 2007; Spear et al. 2010; Storfer et al. 2010). Landscape graphs modelling (applied from graph theory, Bunn et al. 2000, Urban and Keitt 2001) has been proposed as an appealing addition to these approaches and was used in many ecological studies dealing with landscape connectivity for conservation purposes (Saura and Pascual-Hortal 2007; Andersson and Bodin 2009; Foltête et al. 2012). This method, based on the metapopulation concept, allows modeling and measuring the potential functional connectivity by taking into account the whole network in a given landscape (Urban et al. 2009; Galpern et al. 2011). The landscape is modelled as a graph considering the optimal habitat patches for the focal species as the nodes of the network and links between nodes represent paths connecting habitat patches, based on ecological assumptions about the movements of the species within the landscape.

In this study, landscape graph modelling was associated with an inter-patch movement model to assess the level of functional connectivity between habitat patches (i.e., physical areas used by an organism or by a community of different organisms, Morrison and Hall 2002) among landscape elements (i.e., all other physical areas which surround habitat patches) of an urbanized landscape around Paris in the Île-de-France region (France). More specifically, we intend to define and delineate graph components (i.e., a group of connected nodes, isolated from other components, also called a subgraph, Fall et al. 2007) within

this region for a study species, the Large White butterfly (*P. brassicae*) and to test the relevance of these graph components with empirical data from field study.

First, we experimentally assessed the landscape element selection of individual butterflies. We released butterflies at selected locations that offered choices between landscape elements. Using the results of these experiments, we built a transition matrix of the selections between landscape elements. Second, we used a graph-based approach to identify graph components of highly connected habitat patches in the region. Predictions were validated by using a mass release experiment of marked individuals. We expected that released individuals will move more often between well connected habitat patches than between randomly chosen landscape elements.

Materials and methods

Study species and rearing conditions

Pieris brassicae is a common and widespread species across Europe (Bink 1992), which is present in the urbanized region of Île-de-France (Bergerot et al. 2010a). We bred individuals in the lab by placing adults captured in the region in an oviposition cage (80 × 80 × 80 cm) with cabbage leaves (*Brassica oleracea* L.) under incandescent light to maintain a 14L: 10D photoregime. A honey-water solution (1:10 flower honey, 9: 10 water) in Eppendorf tube was provided ad libitum as a source of carbohydrate, and water was supplied through a soaked sponge. To produce synchronized batches of young larvae, oviposition plants were changed every 2 days. Eggs on plants were held in a growth chamber at 23 °C and 50 % relative humidity until larvae hatched and reached the adult stage. We then used adult butterflies in the experiment.

Individual release procedure and habitat selection

Three release sites near Paris (France) were used to collect individual data of habitat choice by butterflies in urbanized landscapes (Fig. 1a). Each site was a 30 m diameter roundabout covered with gravel without any tree (so without any shaded area) or flowers (which could be attractive for the butterflies). Each roundabout provided access to different landscape elements with similar area, hence offering the opportunity to select specific landscape elements. As butterflies had to leave the roundabout, they had to perform direct, oriented movements to enter a given landscape element. Site 1 (IRS 1: 48°49'37.63"N–2°25'50.59"E) offered escape through 6 landscape elements: lawn, shaded lawn (by trees), artificial area, shaded artificial area (by trees), forest edge and wastelands

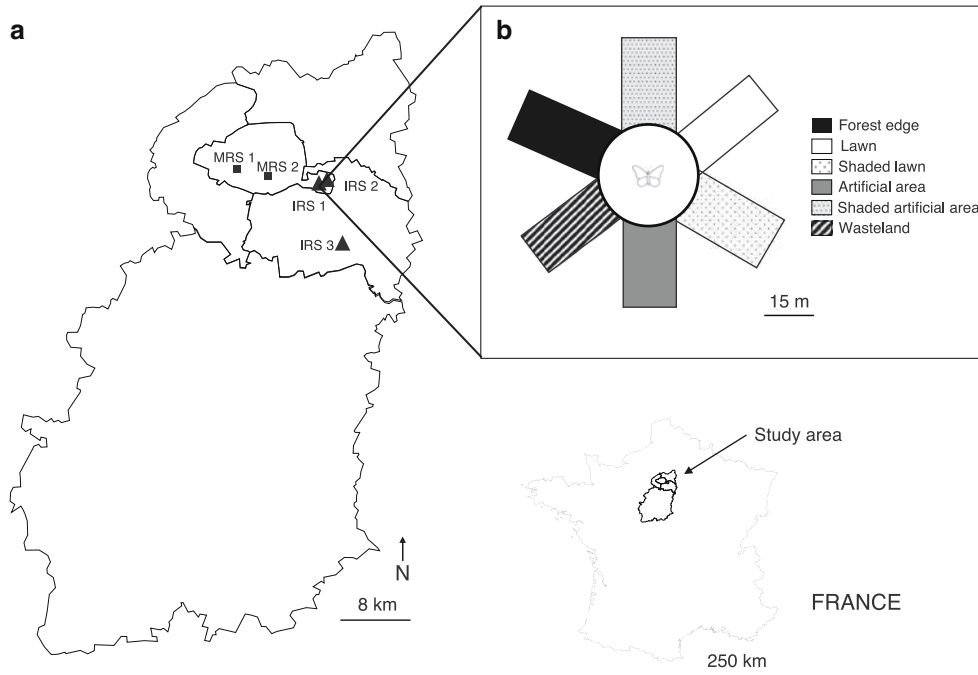


Fig. 1 Location of **a** the three individual release sites (IRS) and the two MRS used in the Île-de-France region. **b**: IRS 1: roundabout with 6 landscape elements

(Fig. 1b). Site 2 (IRS 2: 48°50'5.11"N–2°26'16.18"E) offered escape through 4 different landscape elements: lawn, shaded lawn, artificial area and shaded artificial area. Finally, site 3 (IRS 3: 48°43'48.03"N–2°31'14.32"E) offered 4 exits made of only two different landscape elements: lawn and shaded lawn.

We standardized the release procedure as much as possible. First, to insure comparable feeding status among butterflies, butterflies were food-deprived during 12 h and then fed them ad libitum with honey-water solution (1/10 honey, 9/10 water) during 2 h just before release. Butterflies were placed in individual boxes at 5–6 °C for transportation between the laboratory and the release sites (15–30 min according to sites) to avoid stress and energy consumption. All releases were performed under optimal weather conditions to ensure butterfly flight activity: wind speed less than 10 km/h, air temperature ≥ 17 °C and 100 % sunshine. The low wind speed prevented wind direction from interfering with landscape element selection. For release, each butterfly was individually placed on a take-off platform at the center of the release point, with a random orientation relative to the sun. Then, the butterfly was allowed to warm up for a few minutes in the sun before it left the platform and escape the roundabout. Only effective choice was considered i.e., when the butterfly did not return to the roundabout within 10 s after crossing its limit. We then recorded the first landscape element in which it entered. The observers remained at a distance ≥ 10 m from the butterfly to avoid interference with the butterfly's behavior.

Table 1 Butterfly leaving into each habitat (%) according to the landscape elements present at each release site (*N*: number of individuals released in each site)

	Site 1 (<i>N</i> = 48)	Site 2 (<i>N</i> = 50)	Site 3 (<i>N</i> = 50)
Lawn	20.83	26.00	32.00
Shaded lawn	4.17	56.00	68.00
Artificial area	2.08	4.00	
Shaded artificial area	22.92	14.00	
Wastelands	6.25		
Forest edge	43.75		

We performed three release sessions in 2009 at each site, at the end of May, mid-June and mid-July. In total, 48, 50 and 50 butterflies were released at sites 1, 2 and 3 respectively. Each session lasted 2 days in order to perform the individual releases between 11.30 am and 14.30 pm in specific weather conditions mentioned above. The order of the sites was randomly chosen to avoid an hour effect.

Statistical analyses of butterfly preferences

To test if butterflies used some landscape elements more than others, we compared the choices made at the three sites (Table 1) using odd ratio comparisons. Odds ratio comparisons describe the strength of the association of an event (here the choice of a given landscape element)

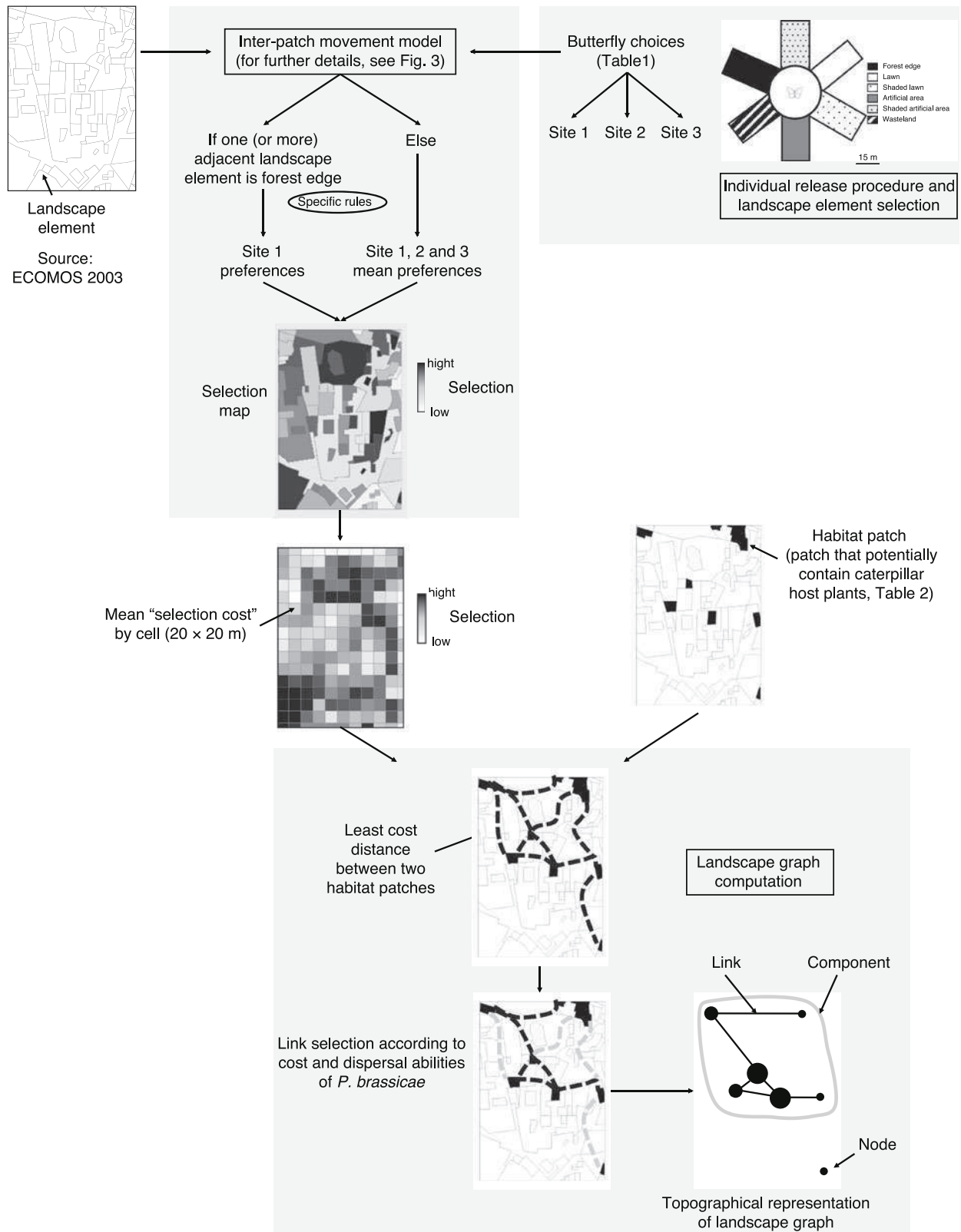


Fig. 2 Steps followed from the individual release procedure to the computation of landscape graph. At the end of the process, the topographical representation of landscape graph contains nodes (i.e.,

habitat patches, node size is proportional to the number of links). A component represents a group of connected nodes, isolated from other components

occurring in different groups (e.g., sites). To compare butterfly preferences, we calculated the odds ratio and their associated *P* values using median-unbiased estimation (*med-P*).

Inter-patch movement model

The inter-patch movement model allowed the calculation of “the number of individuals that come into a specific landscape element” (i.e., selection of a landscape element by *P. brassicae*) at the Île-de-France scale to obtain a “selection map” (Fig. 2). More precisely, the model calculated a percentage of individuals that come into a given landscape element according to the nature of the landscape element considered and the nature of the adjacent landscape elements (Fig. 3). Landscape elements data were extracted from the land cover database (ECOMOS 2003, Table 2). To compute the inter-patch model and so obtain the selection map, we simulated the release of 200 butterflies in each landscape element and analyzed the propensity of butterflies to go in the adjacent elements (Fig. 3)

based on the butterfly preferences obtained from landscape element selection results (i.e., individual release experiments). In this model, the butterfly had two choices: “stay in the landscape element” or “go in one of the adjacent landscape elements”. We thus obtained the percentage of butterflies (out of 200 simulation releases per landscape elements) which stay or leave the landscape element of interest.

The inter-patch movement model follows specific rules (Fig. 2). Firstly, some butterfly preferences could not be tested in the individual release experiment (choice with landscape elements classified as “Others” in Table 2, e.g., from/to inland waters). So in the inter-patch movement model, we attributed the value 1 to butterfly selection between landscape elements classified as “Others” and available groups of landscape elements tested in individual release experiment. By doing this, “Other” landscape elements have no influence in the calculation of landscape element selection.

Secondly, two specific rules (Fig. 2) were used to calculate landscape element selection in the inter-patch

Fig. 3 Procedure of selection (S) calculation for a landscape element (Element) with 200 simulated releases in each adjacent landscape element

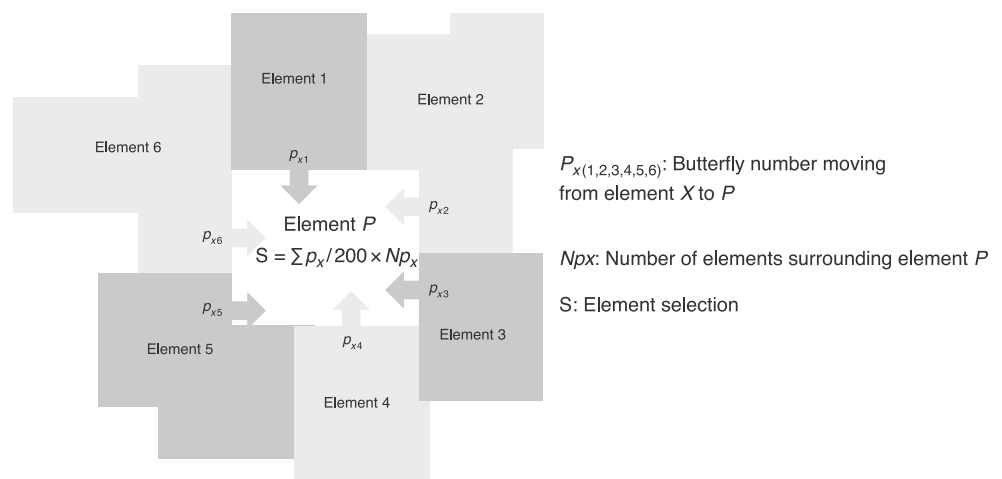


Table 2 Number of landscape elements occurring in the study area following the ECOMOS 2003 classification and their cumulative area (ha)

Landscape element	Description	Number of elements (%)	Cumulative area (ha, %)
Artificial areas	Tar roads, buildings, parking, houses, railway tracks	63306 (57.79 %)	79635.74 (30.90 %)
Shaded lawns	Shaded lawns ^a (public and private), cemeteries ^a , camping ^a , orchards ^a	24545 (22.40 %)	19765 (7.67 %)
Wastelands	Shrubs ^a , industrial and urban wastelands ^a , fallow lands ^a , construction sites	8255 (7.53 %)	98031.97 (38.04 %)
Forest edges	Forest edges ^a , forest ways ^a	6225 (5.68 %)	45665.29 (17.72 %)
Lawns	Lawns ^a (in public and private areas), golf courses ^a , racecourses ^a , sport facilities ^a	4135 (3.77 %)	8343.43 (3.23 %)
Others	Inland waters (rivers, ponds, lakes...)	2220 (2.02 %)	3131.99 (1.22 %)
Shaded artificial areas	Shaded tar roads, shaded parking, artificial shaded canal banks	872 (0.81 %)	3148.25 (1.22 %)

^a Landscape elements that potentially contain *P. brassicae* host plants and considered as habitat patch

movement model using results coming from the butterfly preferences (i.e., individual release experiment). For one specific landscape element, we used butterfly preferences derived from butterfly choices at release site 1 (Table 1) if an adjacent landscape element was forest edge, else we used the mean butterfly preferences from all three sites. Indeed, the individual release results showed that the presence of forest edge in one adjacent landscape element significantly modifies butterfly preferences and forest edge was significantly more chosen. In other words, if the surrounding landscape elements included forest edges, butterfly preferences considered in the inter-patch movement model were derived from butterfly preferences at release site 1, otherwise we used mean selections from all three release sites (1, 2 and 3).

Thirdly, we weighted butterfly selection according to the contact length between adjacent landscape elements. The aim of this step was to take into account the contact length between a specific landscape element and the adjacent landscape elements in the calculation of butterfly selection in the inter-patch movement model. For example, the number of individuals that come in a specific landscape element bordered at 80 % by shaded lawn and 20 % by lawn would be different that the same landscape element bordered at 20 % by shaded lawn and 80 % by lawn. We thus assumed that the butterfly choice would increase with the length of boundary between two adjacent landscape elements.

Mass release-recapture protocol

To validate our model predictions, we performed two mass releases of *P. brassicae* in 2009. Resightings of marked butterflies were then mainly performed by volunteers made aware of this experiment by wide media coverage (TV, newspapers). Released butterflies were reared in the lab under the same conditions as butterflies used in individual release experiments. Adult butterflies were then placed in transport cages (1.20 × 1.20 × 1.20 m) containing honey-water solution and water 2 h before the release session (travelling time was 20–35 min according to the location of the release sites).

Two release sessions were performed, in two urban parks: in park 1 in June 2009 and in park 2 in July 2009 under the same weather conditions as those selected for individual releases. Each mass release session began at 12.30 pm. Both parks were public urban parks (Fig. 1a). Park 1 (MRS 1: 48°51'8.34"N–2°19'5.68"E) was 0.2 ha and park 2 (MRS 2: 48°50'38.68"N–2°21'26.15"E) was 23.5 ha. 26 and 84 butterflies were released in MRS1 and MRS2 respectively.

Each butterfly was marked on the ventral side of both the left and the right hind-wings with fine, non-toxic,

permanent markers (Staedler Lumocolor 313, Staedler, Nürnberg, Germany). Butterflies were marked with a symbol associated with a specific colour for each mass release site to increase the detection of reading errors. We did not use individual marks to avoid identification mistakes as much as possible and because we wish to identify a diffusion gradient in the matrix and not to get information on individual trajectories.

Measuring landscape connectivity

In this study, we defined suitable habitat patches as landscape elements that potentially contain caterpillar host plants (Table 2). We used host plants and not nectar sources because in urban landscapes, adult feeding resources do not represent a main factor explaining butterflies distribution patterns (Bergerot et al. 2010b). As *P. brassicae* females mainly lay eggs on *Brassica* and *Tropaeolum* (Dennis and Hardy 2007), we selected all landscape elements which could contain these host plants in their herb layers in the ECOMOS 2003 classification (Table 2).

Landscape connectivity network was investigated using the landscape graph-based approach, considering the previously defined habitat patches as the node of the graph (Fig. 2, Bunn et al. 2000; Urban and Keitt 2001). Among the different types of existing graphs, we focused on the minimum planar graph (O'Brien et al. 2006; Fall et al. 2007) for which all pairs of nearby nodes are connected by a link based on least-cost distances. Various methods have been proposed to model these inter-habitat patch links and one of the most recurrent is based on least-cost distance because of its greater ecological relevance than Euclidean distance (O'Brien et al. 2006; Fall et al. 2007; Minor and Lookingbill 2010). Based on the selection map obtained by the inter-patch movement model (Fig. 2), we generated a 20 m resolution grid cell of our study area (Fig. 2) and calculated the mean butterfly selection value of each cell. These values were used to compute the edge-to-edge least cost distance between all pairs of nearby nodes.

As in the studies of O'Brien et al. (2006) and Laita et al. (2011) and in order to test how the landscape graph-based model fits with the empirical data describing the dispersal process, we drew several landscape graphs by successively increasing the length of the least cost distance between nodes (called the threshold distance). This length could correspond to the maximum movement ability for the considered species. Following this method, each landscape graph newly computed contained a specific number of components, i.e., a group of habitat patches potentially interconnected by dispersal movements, functionally isolated from any other group (Urban and Keitt 2001). The threshold distance was initialized at 0, i.e., corresponding to all the nodes remaining isolated, and was regularly

increased of 25 cost units until all the nodes were connected into a single component. Between these two extremes, the relevance of each graph was assessed by the rate of intra-component resights, i.e., the proportion of individuals visually recaptured in the same component from where they were released (Fig. 4). Theoretically, we assumed that the higher the proportion, the higher the relevance of the graph. However, as the number of components inherently decreases when the threshold distance increases, we expect a monotonic increase in the proportion of within-component recaptures with increasing threshold distances. To distinguish an effect of landscape connectivity from this artefact, we used a set of randomly generated resighting points to get a pattern purely attributable to this artefact, and then compare observed patterns to this null expectation. The spatial distribution (mean and standard deviation of Euclidean distances to mass release sites (MRS) of those simulated points was the same as the real resighting points. We simulated 100 resighting points for each release site. Random resighting points were computed based on the maximum number of days during which

butterflies were resighted for each release site and the mean daily dispersal distance of *P. brassicae* (i.e., from 3 to 5 daily km randomly covered, Feltwell 1981). Then, we compared recapture rates in the two series (real and simulated) using χ^2 tests according to increasing threshold distances corresponding to decreasing number of components. The most realistic landscape graph provides the maximal difference between the rate of intra-component resights resulting from the observed data and the random sample. Indeed, at this threshold, the selected graph better fitted the data than random simulations. Spatial and statistical analyses were performed with ESRI ArcGis 9.3[®] and R2.7.0[®] respectively.

Results

Butterfly landscape element selection

Results showed no significant differences between butterfly choices (Table 1) for lawns (same choices at sites 1, 2 and 3), artificial areas (sites 1 and 2) and shaded artificial areas (sites 1 and 2). Only two significant differences occurred between sites 1–2 and sites 1–3 (Table 1). Indeed, in sites 2 and 3, shaded lawns were significantly more chosen than in site 1 (*med-P* < 0.001). In site 1, forest edges were significantly more chosen than other landscape elements (χ^2 test, $\chi^2 = 36.5$, *df* = 5, *P* < 0.001). Thus, when forest edges were available (site 1), butterflies preferentially chose this landscape element, otherwise, when forest edges were absent, they mainly chose shaded lawns (χ^2 test, site 2, $\chi^2 = 60.96$, *df* = 3, *P* < 0.001 and χ^2 test, site 3, $\chi^2 = 6.48$, *df* = 1, *P* = 0.011).

Landscape selection map

In the 20 × 20 meters grid obtained (Fig. 2), 64 % of the landscape area were selected lower than 40 %. Only 21 %

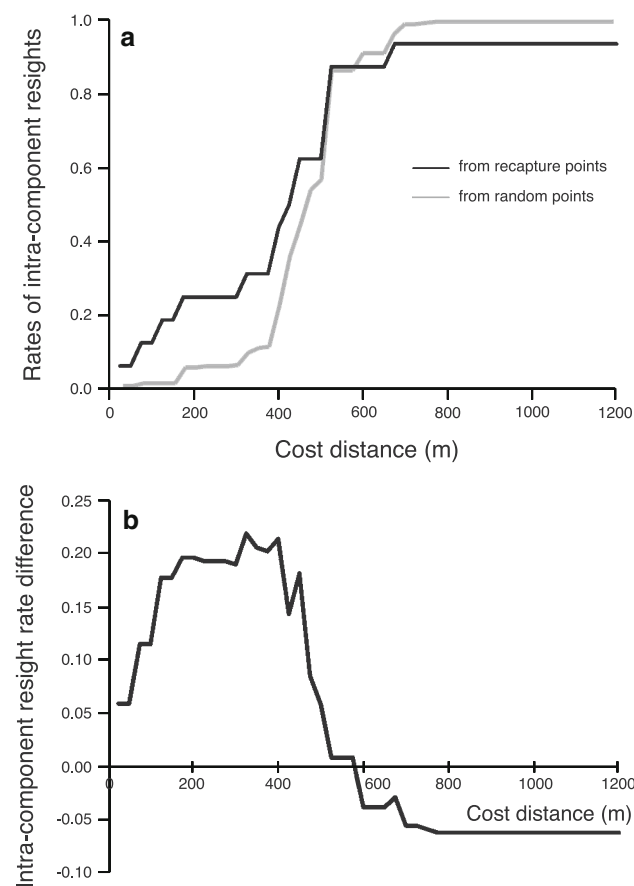


Fig. 4 Rates of intra-component resights from real recapture points (black line) and random recapture points (grey line) according to the cost distance (meters) of landscape graphs (a). Difference between the rates of intra-components resights from real recapture data and random data according to the cost distance (meters) of landscape graphs (b)

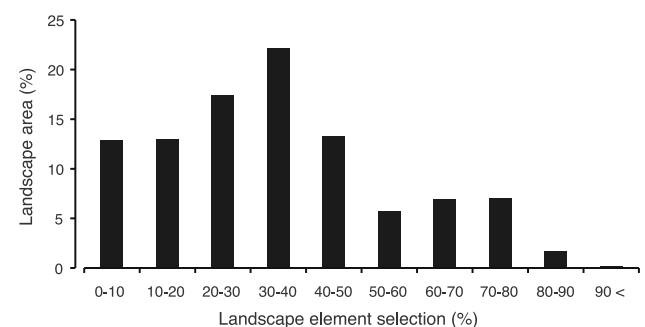


Fig. 5 Frequency of the landscape elements selection (%) according to their area (%) obtained by inter-patch movement modelling. Although the category ‘0–10’ includes the value of zero, other categories cover the range between the value above the lower limit and the value at the higher limit

of landscape area had selection up to 50 % (Fig. 5). Based on the ECOMOS classification of the putative presence of host plants, 29 % of the landscape area were covered by habitat patches (i.e., 34 % landscape elements among a total of 109 558). The mean selection (%) of habitat patches was significantly higher ($24.73 \% \pm 20.23$) than non habitat patches ($9.59 \% \pm 9.52$) (t test, $t = 138$, $P < 0.001$).

Mass-release-resighting experiment and graph modelling

A total of 110 butterflies were released in two MRS (26 in MRS 1 and 84 in MRS 2). 11 recapture events were recorded (3 coming from MRS 1 and 8 coming from MRS 2, Fig. 6). Euclidean distances between release and recapture sites varied from 120 m to 20.46 km and the latest recapture was made 18 days after the release.

We calculated the unchanged component rates (i.e., number of butterflies seen in the same component) using the 11 points where butterflies have been resighted and a random sample of 100 points for each released site (Fig. 4a).

The number of recaptures in the same graph components was 5 individuals (45 %) for MRS 1 and MRS 2. For the simulated data, the unchanged component rate was 14 % (28 individuals). By comparing the unchanged component rates made by graph components between real and simulated data, we showed that resighted butterflies were

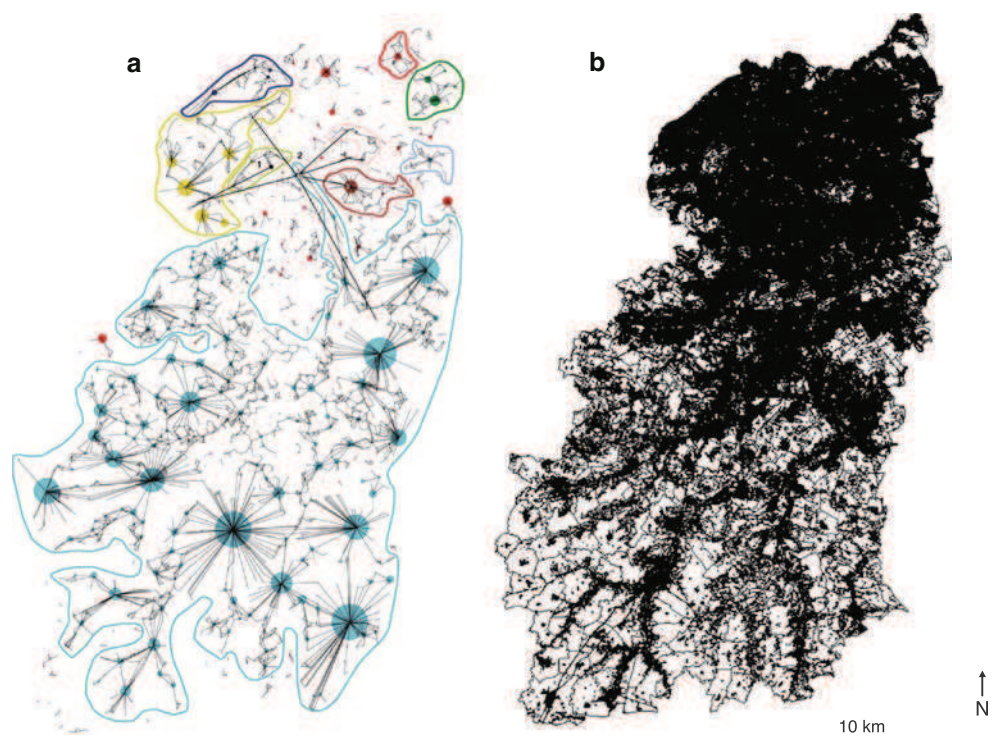
significantly more often found in the same component than simulated individuals (χ^2 test, $\chi^2 = 5.62$, $df = 1$, $P = 0.018$).

The difference between these rates strongly varied according to the butterfly selection: the curve of Fig. 4b shows that the difference was positive until a cost distance threshold of about 400, and then rapidly decreased to become negative. According to this curve, we chose the distance of 325 to compute the final landscape graph which better represented the real *P. brassicae* habitat connectivity network. By taking into account all the links having a least cost distance between 300 and 325, the corresponding value expressed in a metric unit was assessed to the average distance of 3.1 km. This graph identified 9 main components in the landscape; the north of the region (8 components) being much more fragmented than the south (1 component) (Fig. 6a).

Discussion

Our results show that *P. brassicae* individuals mainly chose forest edges and shaded lawns to leave their release points, whereas open lawns were less frequently chosen. The availability of nectar sources, roosting sites and gradients of microclimatic conditions are key factors for the selection of flyways by dispersing butterflies (e.g., Dennis and Hardy 2007; Van Halder et al. 2008). In this study we simulated individual inter-patch movements to obtain the

Fig. 6 Map (a) of the 9 main components (surrounded by lines) and possible links (black lines) between suitable habitats (represented by circles with various diameters according to their areas). Resighting points of released butterflies are related to their release points (1 and 2 for MRS 1 and MRS 2 respectively) by black bold lines (For MRS 1, two black bold lines are too short to be seen). Urbanized patches (in black) identified (b) by the ECOMOS 2003 classification in the Île-de-France region (areas such as rural patches and open urban areas are represented in white)



selection value for each landscape element. Selection of landscape elements varied widely in our urban region. This result clearly shows that butterfly movements might be hindered by hostile landscape elements in a densely urbanized region such as Île-de-France. Following Dennis and Hardy (2007), two types of flights have been identified for butterflies: “direct linear flight” regarded as dispersal flight and “search flight” regarded as resource seeking activity. Our inter-patch movement model was well suited to model “direct linear flight” between landscape elements because such displacements were shown to be widely used by *P. brassicae* individuals in cities (Dennis and Hardy 2007).

In this study, landscape elements classified as “Others” have no influence in the calculation of landscape element selection in the inter-patch movement model. Here, these landscape elements represented only 1.22 % of the landscape elements considered and to our knowledge no other studies revealed an impact of such landscape elements on habitat selection in *P. brassicae*. Thus, we could easily consider here that potential bias induced by such choice was limited in our study. However, in other landscapes where “Others” landscape elements could be more numerous, care would need to be taken in the integration of such parameters.

Compared to more classical work on dispersal (e.g., analysis of movement paths or random walk simulations, Turchin 1998; Bowne and Bowers 2004), our method provides new insights in the understanding of dispersal behaviour by providing information how we can estimate inter-patch movement of organisms in an environment and also information on how we can estimate potential connectivity between habitat patches. Indeed, if random walk simulations within habitat patches provide a valuable tool for modelling routine movements (Schtickzelle and Baguette 2003), for dispersal movements between landscape elements at a larger scale, specific considerations are required (i.e., butterfly landscape element selection). Thus, as the contribution of routine movements to dispersal is expected to decline with the degree of habitat fragmentation (Van Dyck and Baguette 2005), we then used inter-patch movement modelling to landscape graph to predict butterfly movements between habitat patches in our landscape. Methods based on such models are more appropriate to coarser spatio-temporal scale methods than random walk based methods (Turchin 1998) because both habitat patch distribution and the nature of the matrix were taken into account. It is particularly useful within the global change context where attention is currently paid to urbanization mediated landscape fragmentation (Stefanescu et al. 2004; Ockinger et al. 2009). In such kind of landscapes, featuring species’ most important dispersal ways (i.e., ecological corridors, defined as spaces allowing species movements

between two hospitable patches, Clobert et al. 2001) will favor the persistence of metapopulations by increasing compensations of local extinction by immigration in different landscape elements (Hanski 1999). But, in urban areas, factors such as strong boundary effect could limit dispersal between habitat patches (Thomas 2000; Merckx et al. 2003; Bergerot et al. 2012). In such a context, coupling inter-patch movement models with landscape graphs could be very useful to quantify boundary effects, to allow the measurement of each landscape element contribution to the overall connectivity (Urban and Keitt 2001; Saura and Pascual-Hortal 2007) and to integrate individual behaviours into population models (Morzillo et al. 2011). Indeed, the addition of parameters to our model could allow us to answer demographic questions. For example, by adding mortality and movement speed between landscape elements, we could generate specific predictions on how spatio-temporal density of butterflies will change on a short time scale.

By applying landscape graph to the study area, we identified 9 graph components where habitat patches of *P. brassicae* were well connected by permeable landscape elements. Our comparison between the unchanged component rates calculated from real and simulated resightings showed that really resighted butterflies were significantly more often found in the same component than simulated individuals. If *P. brassicae* is considered as a really vagile species (Bink 1992), the high number of graph components in more urban areas (Fig. 6) shows that urbanization can lead to the fragmentation of the landscape for this species. The mean dispersal distance within a component averaged to 3.1 ± 2.12 km. This distance was in accordance with the dispersal distance of the species recorded in the literature (Feltwell 1981). So, in the Île-de-France region, the matrix was not so “inhospitable” for *P. brassicae* within a component because our model (i.e., a combination between dispersal abilities and nature of the landscape between habitat patches) shows that the mean dispersal distance within a component was approximately the mean daily dispersal distance for this species. These results validate the hypothesis previously made by Bergerot et al. 2010a showing that dispersal abilities of *P. brassicae* allows the persistence of this species in this region. We show that the northern part of the study area, which is also the most urbanized, is much more fragmented than its southern part (Fig. 6a). The largest graph component identified in the south could be explained by the nature of the landscape elements. Indeed, urbanized areas are there mainly interspersed with rural areas (Fig. 6b), which facilitate butterfly movements.

Our aim was here to show how combining inter-patch movement models and landscape graph-based approach could provide an efficient tool to assess functional

connectivity in large areas by validating the results obtained from this model with empirical data. According to Urban et al. (2009) the validation of these models with independent data is crucial. But in practice, several studies using patch-based graph models suffer from a lack of validation (Galpern et al. 2011). Providing this empirical validation is not always feasible because of the difficulties to obtain information about dispersal events in the field. Combination of models such as inter-patch movement or individual based models and landscape graphs is a useful alternative to tackle this problem (Lookingbill et al. 2010; Morzillo et al. 2011). Fortunately, the biological model used in this study allows us to get field observation with mass-release-resighting experiment. However, particular attention has to be paid to our small number of resightings, which forced us to combine the data from two different sites. Indeed, statistical power to compare the rate of recapture in the same component between recapture data and simulated data is weak if we consider sites independently. Only a global comparison is possible in our case which limited our validation process. We are conscious of the lack of real recapture events to fully validate our model. However, even if 45 % of our real resights were made in intra-components defined by our model (concerning only 11 individuals), a significant difference with the random model was noticed. We could expect that the percentage of intra-component resights would increase with the number of individuals in the mass release experiment. If more resightings had been available from more release sites, it would have been possible to extend the conclusions of the study by prioritizing their relative contributions to the connectivity within their components.

This study reveals an appealing feature of the landscape graph framework, i.e., the possibility of building maps of functional connectivity and explore their structure with small empirical data sets.

Acknowledgments We particularly thank volunteers for their observation and participation to the study and Natureparif, Audrey Coulon for the caterpillars rearing, Leyli Borner and all the Evoltrait team based in Brunoy for their support and useful help in this study. We especially thank the two anonymous reviewers whose comments greatly improved this manuscript. MB's contribution was funded by a grant from the ANR (Agence Nationale de la Recherche, Open Call DIAME 2008-2011 DIspersal And MEtapopulations). This project was supported by the SCALE project. The graph analysis was conducted in the framework of the Graphab project of the USR 3124 MSHE Ledoux, funded by the French Ministry of Ecology, Energy, Sustainable Development and Sea.

References

- Andersson E, Bodin O (2009) Practical tool for landscape planning? An empirical investigation of network based models of habitat fragmentation. *Ecography* 32:123–132
- Baguette M, Van Dyck H (2007) Landscape connectivity and animal behavior: functional grain as a key determinant for dispersal. *Landsc Ecol* 22:1117–1129
- Bergerot B, Julliard R, Baguette M (2010a) Metacommunity dynamics: decline of functional relationship along a habitat fragmentation gradient. *PLoS ONE* 5(6):e11294. doi:10.1371/journal.pone.0011294
- Bergerot B, Fontaine B, Renard M, Cadi A, Julliard R (2010b) Preferences for exotic flowers do not promote urban life in butterflies. *Landsc Urban Plan* 96:98–107
- Bergerot B, Merckx T, Van Dyck H, Baguette M (2012) Habitat fragmentation impacts mobility in a common and widespread woodland butterfly: do sexes respond differently? *BMC Ecology* 12(5). doi:10.1186/1472-6785-12-5
- Bink BA (1992) *Ecologische atlas van de Dagvlinders van Noordwest-Europa* (Ecological Atlas of the Butterflies of NW Europe). Schuyt & Co, Haarlem
- Bowne DR, Bowers MA (2004) Interpatch movements in spatially structured populations: a literature review. *Landsc Ecol* 19:1–20
- Bunn AG, Urban DL, Keitt TH (2000) Landscape connectivity: a conservation application of graph theory. *J Environ Manage* 59:265–278
- Clobert J, Danchin E, Dhont AA, Nichols JD (2001) *Dispersal*. Oxford University Press, New York
- Clobert J, Le Gaillard JF, Cote J, Meylan S, Massot M (2009) Informed dispersal, heterogeneity in animal dispersal syndromes and the dynamics of spatially structured populations. *Ecol Lett* 12:197–209
- Dennis RLH, Hardy PB (2007) Support for mending the matrix: resource seeking by butterflies in apparent non-resource zones. *J Insect Conserv* 11:157–168
- ECOMOS (2003) Ecological Soil Occupation Mode. See: <http://www.iau-idf.fr/lile-de-france/un-portrait-par-les-chiffres/occupation-du-sol.html>
- Fahrig L (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34:487–515
- Fahrig L, Merriam G (1994) Conservation of fragmented populations. *Conserv Biol* 8:50–59
- Fall A, Fortin MJ, Manseau M, O'Brien D (2007) Spatial graphs: principles and applications for habitat connectivity. *Ecosystems* 10:448–461
- Feltwell J (1981) *Large white butterfly: the biology, biochemistry, and physiology of Pieris Brassicae*. DRW junk publishers, The Hague
- Foltête J-C, Clauzel C, Vuidel G, Tournant P (2012) Integrating graph-based connectivity metrics into species distribution models. *Landsc Ecol* 27:557–559
- Galpern P, Manseau M, Fall A (2011) Patch-based graphs of landscape connectivity: a guide to construction, analysis and application for conservation. *Biol Conserv* 144:44–55
- Haddad NN (1999) Corridor and distance effects on interpatch movements: a landscape experiment with butterflies. *Ecol Appl* 9:612–622
- Haddad NN, Tewksbury JJ (2005) Low-quality habitat corridors as movement conduits for two butterfly species. *Ecol Appl* 15:250–257
- Hanski I (1999) *Metapopulation ecology*. Oxford University Press, New York
- Laita A, Kotiaho J, Mönkkönen M (2011) Graph-theoretic connectivity measures: what do they tell us about connectivity? *Landsc Ecol* 26:951–967
- Lookingbill TR, Gardner RH, Ferrari JR, Keller CE (2010) Combining a dispersal model with network theory to assess habitat connectivity. *Ecol Appl* 20:427–441
- Merckx T, Van Dyck H, Karlsson B, Leimar O (2003) The evolution of movements and behaviour at boundaries in different

- landscapes: a common arena experiment with butterflies. *Proc R Soc B* 270:1815–1821
- Minor ES, Lookingbill TR (2010) A multiscale network analysis of protected-area connectivity for mammals in the United States. *Conserv Biol* 24:1549–1558
- Morrison ML, Hall LS (2002) Standard terminology: toward a common language to advance ecological understanding and application. In: Scott JM, Heglund P, Morrisson ML, Raven PH (eds) *Predicting species occurrences. Issues of accuracy and scale*. Island Press, Washington, pp 43–52
- Morzillo AT, Ferrari JR, Liu JG (2011) An integration of habitat evaluation, individual based modeling, and graph theory for a potential black bear population recovery in southeastern Texas, USA. *Landsc Ecol* 26:69–81
- O'Brien D, Manseau M, Fall A, Fortin MJ (2006) Testing the importance of spatial configuration of winter habitat for woodland caribou: an application of graph theory. *Biol Conserv* 130:70–83
- Ockinger E, Dannestam A, Smith HG (2009) The importance of fragmentation and habitat quality of urban grasslands for butterfly diversity. *Landsc Urban Plan* 93:31–37
- Saura S, Pascual-Hortal L (2007) A new habitat availability index to integrate connectivity in landscape conservation planning: comparison with existing indices and application to a case study. *Landsc Urban Plan* 83:91–103
- Schtickzelle N, Baguette M (2003) Behavioural responses to habitat patch boundaries restrict dispersal and generate emigration-patch area relationships in fragmented landscapes. *J Anim Ecol* 72:533–545
- Spear SF, Balkenhol N, Fortin MJ, McRae BH, Scribner K (2010) Use of resistance surfaces for landscape genetic studies: considerations for parameterization and analysis. *Mol Ecol* 19:3576–3591
- Stefanescu C, Herrando S, Paramo F (2004) Butterfly species richness in the north-west Mediterranean Basin: the role of natural and human-induced factors. *J Biogeogr* 31:905–915
- Stevens VM, Verkenne C, Vandewoestijne S, Wesselingh RA, Baguette M (2006) Gene flow and functional connectivity in the natterjack toad. *Mol Ecol* 15:2333–2344
- Stevens VM, Turlure C, Baguette M (2010) A meta-analysis of dispersal in butterflies. *Biol Rev* 85:625–642
- Storfer A, Murphy MA, Spear SF, Holderegger R, Waits LP (2010) Landscape genetics: where are we now? *Mol Ecol* 19:3496–3514
- Taylor PD, Fahrig L, Henein K, Merriam G (1993) Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos* 68:571–572
- Thomas CD (2000) Dispersal and extinction in fragmented landscapes. *Proc R Soc B* 267:139–145
- Turchin P (1998) *Quantitative analysis of movement: measuring and modeling population redistribution in animals and plants*. Sinauer Associates Inc, Sunderland
- Urban D, Keitt T (2001) Landscape connectivity: a graph-theoretic perspective. *Ecology* 82:1205–1218
- Urban D, Minor ES, Treml EA, Schick RS (2009) Graph models of habitat mosaics. *Ecol Lett* 12:260–273
- Van Dyck H, Baguette M (2005) Dispersal behaviour in fragmented landscapes: routine or special movements? *Basic Appl Ecol* 6:535–545
- Van Halder I, Barbaro L, Corcket E, Jactel H (2008) Importance of semi-natural habitats for the conservation of butterfly communities dominated by pine plantations. *Biodivers Conserv* 5:1149–1169
- Wilcove DS, McLellan CH, Dobson AP (1986) Habitat fragmentation in the temperate zone. In: Soulé ME (ed) *Conservation biology: the science of scarcity and diversity*. Sinauer Assoc, Sunderland, pp 237–256

Annexe 2: Integrating graph-based connectivity metrics into species distribution models

Jean-Christophe Foltête • Céline Clauzel • Gilles Vuidel • Pierline Tournant

J.C. Foltête (Corresponding author) • C. Clauzel • G. Vuidel • P. Tournant
ThéMA UMR 6049 CNRS, Université de Franche-Comté
32, rue Mégevand, F-25030 Besançon, France
e-mail: jean-christophe.foltete@univ-fcomte.fr

P. Tournant
Chrono-Environnement UMR 6249 CNRS, Université de Franche-Comté
Place Leclerc, F-25030 Besançon, France

Published in Landscape ecology

Received: May 26, 2011

Accepted: January 11, 2012

Integrating graph-based connectivity metrics into species distribution models

Jean-Christophe Foltête · Céline Clauzel ·
Gilles Vuidel · Pierline Tournant

Received: 26 May 2011 / Accepted: 11 January 2012
© Springer Science+Business Media B.V. 2012

Abstract Species distribution models (SDMs) are commonly used in ecology to map the probability of species occurrence on the basis of predictive factors describing the physical environment. We propose an improvement on SDMs by using graph methods to quantify landscape connectivity. After (1) mapping the habitat suitable for a given species, this approach consists in (2) building a landscape graph, (3) computing patch-based connectivity metrics, (4) extrapolating the values of those metrics to any point of space, and (5) integrating those connectivity metrics into a predictive model of presence. For a given species, this method can be used to interpret the significance of the metrics in the models in terms of population structure. The method is illustrated here by the construction of an SDM for the European tree frog in the region of Franche-Comté (France). The results show that the connectivity metrics improve the explanatory power of the SDM and emphasize the important role of the habitat network.

Keywords Graph theory · Fragmented habitat · Metapopulation · Landscape connectivity · Landscape metric · Predictive model

Introduction

Preserving biodiversity has to be made a paramount concern in landscape management given the extent of environmental change induced by anthropogenic factors such as urban development and more intensive farming (Tscharntke et al. 2005). But maintaining such diversity requires accurate knowledge of the spatial distribution of species if we are to assess and if possible anticipate the impact of environmental changes on their presence (Fahrig and Grez 1996).

Since the spatial distribution of any given species cannot be determined from field observations alone, predictive modelling is commonly used for mapping the presence of species in a given area (Guisan and Zimmermann 2000; Austin 2002; Guisan and Thuillier 2005; Franklin 2009). This approach, which is based on species-environment relationships and which includes both spatial and statistical data, produces what are commonly designated in the ecological literature as species distribution models (SDMs) (Guisan and Zimmermann 2000).

SDMs are based on predictive factors about the species under study. Several studies (Guisan and Zimmermann 2000; Austin 2002) categorize these predictive factors as either direct or indirect. Direct

J.-C. Foltête (✉) · C. Clauzel · G. Vuidel · P. Tournant
ThéMA UMR 6049 CNRS/University of Franche-Comté,
32, rue Mégevand, 25030 Besançon, France
e-mail: jean-christophe.foltete@univ-fcomte.fr

P. Tournant
Chrono-Environnement UMR 6249 CNRS/University of
Franche-Comté, Place Leclerc, 25030 Besançon, France

factors are relations of cause-and-effect in terms of physical resources accounting for the presence of the species. Indirect factors, e.g. landscape or geological variables, have no physiological link with the species but are indicators of the environment in which suitable resources are potentially available. These indirect factors, which have been made easier to map by the availability of remotely sensed data and land cover databases (Guisan and Zimmermann 2000; Hirzel and Le Lay 2008), are what underpin SDMs.

Following Richard and Armstrong (2010) and Armstrong (2005), most of the factors usually included as predictors in SDMs are related to the habitat paradigm. These factors are meant to characterize the intrinsic suitability of the areas to be colonized by the species under study, from a static point of view. This point of view is in contradiction with several ecological theories based on spatial relationships, such as isolation by distance (Wright 1943), metapopulation theory (Hanski and Ovaskainen 2000) and the source-sink model (Pulliam 1988). Armstrong (2005) relates the dynamic point of view implied by those theories to the metapopulation paradigm, including the notions of individual fluxes, dispersal distance and spatial accessibility. Consequently, the following question arises when modelling the broad-scale distribution of animal species: how can SDMs be improved by including factors capable of capturing spatial attributes that influence population dynamics?

One way of working criteria related to the metapopulation paradigm into SDMs might be to use contextual landscape metrics. These metrics are devised to characterize the spatial environment of a point from a neighbourhood window as indicated by Franklin (2009). However, because the neighbourhood generally used to compute such metrics is circular, the spatial context of the points analysed is defined isotropically. This makes these contextual metrics irrelevant to the case of heterogeneous landscapes where the species under study cannot move everywhere with the same probability. This problem refers to the question of accessibility which has been raised in several studies (Arthur et al. 1996; Hjermmann 2000; Matthiopoulos 2003) but not specifically investigated in the design of landscape metrics.

While no satisfactory answer can be expected from the use of contextual metrics computed in a circular-shaped neighbourhood, SDMs can be improved by

using landscape metrics based on cost distances to capture the anisotropic properties of the spatial environment. One such metric is the index of functional patch connectivity (IFPC) proposed by Richard and Armstrong (2010). This index is presented as an improvement on the proximity index (Gustafson and Parker 1994) in that it uses least-cost distances instead of Euclidean distances. Richard and Armstrong (2010) demonstrate that this index is more valuable than the usual habitat factors used in SDMs. That experiment encourages the integration of connectivity metrics into SDMs and suggests this approach could be extended by using a landscape connectivity analysis based on ecological network modelling.

Ever since landscape connectivity emerged as a conservation priority, it has prompted many studies using an array of methodological approaches (Calabrese and Fagan 2004; Kindlmann and Burel 2008). Following the original work by Urban and Keitt (2001), much attention has been paid recently to the graph-based approach to landscape connectivity (e.g. Minor and Urban 2008; Urban et al. 2009; Dale and Fortin 2010; Galpern et al. 2011). This approach appears relevant in that it characterizes the amenability of a habitat patch to colonization by a given species. This depends on the patch's connections with other habitat patches and its position within the network overall. Connectivity analyses are usually undertaken from a landscape management perspective where the main issue is 'prioritization' (Saura and Pascual-Hortal 2007; Bodin 2009), that is, identifying the key landscape features to protect so as to maintain network connectivity and the resulting ecological fluxes. The graph-based analysis of landscape connectivity can also be integrated into other approaches and can be specifically linked in with SDMs by providing relevant metrics.

In this paper, we propose a method for integrating connectivity factors into SDMs via landscape graph analysis. Such integration presupposes that species habitat patches can be mapped from field knowledge and from expert opinions. In this approach, landscape graph analysis is expected to provide local indicators of functional connectivity. Because the occurrence data may lie outside the habitat patches, we propose to set up a bridge between the landscape graph and the SDM by extrapolating from the graph-based metrics to any point in the study area. In this way, the dependence of a species on its ecological network can be assessed,

which may provide relevant information about its spatial population structure. After presenting the method, the approach is illustrated by a case study: modelling of the spatial distribution of the European tree frog in the region of Franche-Comté (France).

Methods

Five steps are required to integrate landscape graph analysis into the SDM. For a given species in a given area, we (1) compile a landscape map; (2) construct the graph from the landscape map; (3) define and compute patch-level metrics from the graph; (4) use a spatial function to extrapolate the values of the patch-level metrics to all points of the study area; (5) using a set of presence/pseudo-absence points, integrate the metrics among the potential predictors to produce a predictive model. Steps 1 and 2 are based on familiar methods and will be described briefly. The subsequent steps are more specific, particularly step 4 which is the critical point of the method proposed here inasmuch as it enables us to link the local properties of the graph with the SDM.

Designing the landscape map

The landscape map is a raster data layer containing categorical values. The categories have to be defined in terms of the spatial behaviour of the species under study. A distinction is made between the optimal habitat class and other classes that influence movement, such as barriers or on the contrary features conducive to movement. The map is usually drawn up from remotely sensed data or from existing land cover databases. Depending on the species under study, it might be important to use fine-scale data to take into account the small landscape elements, such as hedgerows.

Constructing the landscape graph

This step is similar to most landscape graph analyses as presented in Galpern et al. (2011). The habitat patches are identified on the landscape map and considered as the nodes of the graph; they are generally defined as two-dimensional spatial units. Some type of distance—Euclidean or cost distance—

has to be chosen from which to identify the connections between habitat patches, given the available ecological information about the species. With cost distance, a resistance value is assigned to each landscape category reflecting what it costs the species to cross it. The edge-to-edge least-cost distance is computed for each pair of habitat patches to assess the movement cost. A link-up is established if this cost distance is below a given threshold, corresponding to the maximum movement ability for the species under study. Generally, the final links are selected from the complete graph on which all pairs of habitat patches are initially connected.

Computing patch-level metrics

In this section we specify what type of connectivity metrics are relevant for use as predictors in an SDM. As mentioned by Galpern et al. (2011), many metrics can be generated from the graph structure at several levels: global, by component (sub-graph) and local. Since it is expected here that graph analysis will provide local measurements of connectivity, patch-based metrics are adapted to the method presented. These metrics may include any quantification characterizing a property of the patches on the graph, but in this paper, we focus on metrics defined from three basic properties listed by Bunn et al. (2000) and Urban and Keitt (2001). Those authors emphasized the different ways a patch may contribute to a metapopulation, listing three potential functions related to population dynamics: (1) recruitment, (2) dispersal flux and (3) traversability. These functions were computed at the landscape level in the studies mentioned, but we propose to use them at the patch-level. Let us examine these functions:

- (1) For a given patch i , the potential recruitment R_i amounts to the demographic potential which is intrinsic to the patch and independent of the graph. This property may be simply quantified by the area a_i of the patch ($R_i = a_i$) and eventually weighted by an additional parameter k_i if the habitat patches correspond to several land cover types differing in their quality ($R_i = a_i k_i$). If the habitat patches are defined as simple points, the term a_i may represent a criterion favouring the demographic potential, such as the foraging area located in the neighbourhood of the points.

- (2) The weighted dispersal flux F_i represents the capacity of a patch to function as a source independently of its own potential recruitment, i.e. its connection to other patches likely to receive disperser individuals. F_i depends on the patches located around the focal patch, characterized by both their recruitment and their distance to the focal patch. Considering that the probability of dispersal decreases exponentially with distance, this index can be measured by:

$$F_i = \sum_{j=1}^n R_j e^{-\alpha d_{ij}}$$

where R_j is the recruitment of patch j , d_{ij} is the distance between patches i and j and α is a parameter representing the intensity of the distance effect. As in this context, the index of functional connectivity computed with no graph by Richard and Armstrong (2010) amounts to $IFPC_i = \sum_{j=1}^n a_j d_{ij}^{-1}$, F can be considered as a graph-based variant of the IFPC using a probability of movement such as $p = e^{-\alpha d}$ with a species-dependent α parameter instead of $p = d^{-1}$. To compute F , the choice of α has to be determined by the maximal dispersal distance for a species. As proposed by Urban and Keitt (2001), the maximal dispersal distance d^* may correspond to a probability of movement $p = 0.05$, giving $\alpha = \ln(0.05)/-d^*$.

- (3) Traversability is the potential for a patch to be crossed by a path linking other patches. Long-distance traversability can be reflected by the betweenness centrality index (BC) (Urban et al. 2009). The BC index as used by Estrada and Bodin (2008) and Zetterberg et al. (2010) amounts to the frequency with which a patch is used considering the least-cost paths between all pairs of connected patches. Recently, Bodin and Saura (2010) proposed to increase the ecological significance of this index by taking into account the areas of the starting and the ending patches and dispersal probabilities, leading to a generalized expression of BC. This generalization of BC means weight can be given exclusively to the paths that are shorter than the dispersal distance by the use of a decreasing function of the distance. Conversely, to assign a greater weight to the long-distance paths (i.e. those which are longer than

the dispersal distance) to maintain coherence with the spreading-of-risk metapopulation models (Urban et al. 2009), we propose to convert distance into a probability by an increasing function. This function yields a zero value when distance is zero, increases to 1 when the maximum dispersal distance is reached, and is limited to 1 thereafter.

Considering these modifications, the betweenness centrality of long distances of a given patch i can be noted:

$$BCl_i = \sum_j \sum_{k \in P_{jk}} R_j R_k (1 - e^{-\alpha d_{jk}}), k \in \{1..n\}, k < j, i$$

with R_j and R_k being the potential recruitment of the patches j and k , $(1 - e^{-\alpha d_{jk}})$ the probability of movement between patches j and k and P_{jk} the set of patches crossed by the least-cost path between patches j and k . In the usual computation of the BC index, the number of paths is divided by the total number of possible paths (Borgatti 2005), which is not the case here where single least-cost paths are used.

Spatial generalization of the patch-level metrics

Some connectivity studies focus on the patches used as a support for analysing the relationships between field observations and graph-based metrics, as in Richard and Armstrong (2010). However, in the usual SDM, the analysis concerns any point of space and consequently the graph-based metrics are not directly usable. As field observations are mostly obtained independently of the graph, we consider the general case where the calibration and evaluation data relate to locations anywhere in the study area.

Theoretically, we assume that less likely individuals will be found outside of a given habitat patch than within the patch (Hirzel and Le Lay 2008). This can be represented by a probability of presence set to 1 within the patch and decreasing with distance from its edge. To establish this principle, the values of the patch-level metrics can be extrapolated to any point based on the function $p = e^{-\alpha d}$ applied to the least-cost distances between each point and the edges of its surrounding patches.

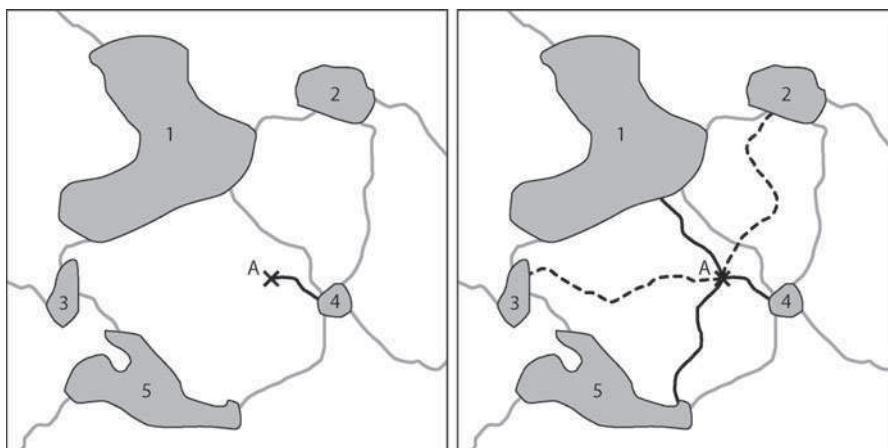


Fig. 1 Connections between any point and the landscape graph. Grey lines represent the least-cost links between the patches. Black lines represent the connection of point A to the graph, for the two options. On the left, point A is connected to

the closest patch 4. On the right, point A is multi-connected to patches 1, 4 and 5. Patches 2 and 3 are not connected because the distances to point A (dashed lines) are greater than the maximal dispersal distance d^* of the species

Any point can be connected to the graph by either of two options (Fig. 1). Given a first option of ‘mono-connection’, a metric m can be extrapolated in a point l (noted μ_l) on the basis of the closest patch i to this point:

$$\mu_l = m_i p_{il}$$

where p_{il} is the transformation of the distance d_{il} between the patch i and the point l so that $p_{il} = e^{-\alpha d_{il}}$ using the same value of α as for the metrics F and BCI.

As the presence of the species at a given point may depend on the proximity of several habitat patches, the extrapolation of the metric is expected to give more realistic results by setting up a ‘multi-connection’, i.e. by computing the mean value of the metrics of the k surrounding patches. By assigning a relative weight of $p_{il} / \sum_{i=1}^k p_{il}$ to a patch t , the resulting value of the metric at point l can be expressed as:

$$\mu_l = \frac{\sum_{i=1}^k m_i (p_{il})^2}{\sum_{i=1}^k p_{il}}$$

To limit the computation cost, the number of elements contributing to this weighted mean can be defined so as to include only the patches yielding a value $p_{il} > 0.05$.

Designing an SDM including graph-based metrics

The main prerequisite for including graph-based metrics in an SDM is the availability of a map of the

landscape categories that is consistent with the needs and the movement behaviour of the species. Therefore this approach does not cover species having no specific habitat. Apart from this point, the SDM can be applied in the usual manner and, following the steps of statistical formulation (including graph-based metrics), be fitted using a set of calibration data, and validated using a set of evaluation data (Guisan and Zimmermann 2000). Other predictive factors commonly used in SDMs can be added to the metrics R, F and BCI, to represent other environmental criteria or disturbance effects.

Whatever the type of statistical method employed, the results obtained following the stepwise selection have to be interpreted in line with the ecological meaning of each predictive factor. More specifically, a model where only R proves to be positively significant means that the presence of the species does not depend on the habitat network as modelled by the graph, but depends only on the availability of habitat patches. In this case integrating the graph-based approach does not improve the SDM and means that the species appears not to function as a metapopulation. Conversely, if F and/or BCI are positively significant, the role of the network is validated. In this case, the comparison of the standardized coefficients assigned to these metrics provides some indication of the relative weight of the network according to the local habitat and could be indirectly interpreted in terms of population dynamics, for instance by distinguishing

source-sink and spreading-of-risk metapopulation models, as suggested by Urban et al. (2009).

A case study: SDM of the European tree frog (*Hyla arborea*)

Context and knowledge of the species

The distribution of the European tree frog (*H. arborea*) was studied in the region of Franche-Comté, in eastern France. The study area of 16,200 km² is composed of landscapes combining forest, farmland and built-up areas. The European tree frog is an amphibian of the Hylidae family and is assumed to be organized in a metapopulation (Borgula 1993; Vos and Stumpel 1995; Carlson and Edenhamn 2000; Pellet et al. 2004). It is widespread throughout Europe, from Spain to western Russia, although populations are declining in Western Europe (Pellet et al. 2004). This species was classified as endangered on the IUCN Regional Red List for Franche-Comté. Among the many causes of this decline, the direct destruction of habitat and its fragmentation have been identified as major factors (Borgula 1993; Vos and Stumpel 1995).

Like many other amphibians, the tree frog has both an aquatic habitat for the breeding and larval period and a terrestrial habitat for summer and winter. Its aquatic habitat consists of shallow water in the form of ponds, marshland or river pools. Its terrestrial habitat is composed of dense vegetation (shrubs or trees) ideally within 300 m of the breeding area (Vos and Stumpel 1995). Consequently, in this study, the tree frog's habitat was defined as its aquatic habitat adjacent to a potential terrestrial habitat.

Dispersal and migration are very important in the tree frog's life cycle. Migration distances from its aquatic to its terrestrial habitat are generally less than 500 m (Fog 1993). Dispersal of juveniles and adults is less than 2,000 m in 80% of cases (Vos and Stumpel 1995) and distances of more than 4,000 m are rare (Fog 1993). Consequently, 2,500 m was considered as the maximum dispersal distance for the tree frog in this study. Dispersal events allow individuals to colonize new ponds or to recolonize sites where the species is nearing extinction. For ponds to be recolonized individual migrants must be able to find some form of passage and the interconnection of breeding ponds is considered a key factor for species distribution (Pellet

et al. 2004). Given this information, the tree frog is assumed to be a suitable biological model for integrating graph-based connectivity metrics into an SDM.

Data description

Species data

A total of 119 presence points were identified by counts of calling males between 1997 and 2010 by field specialists. Starting from a grid of 5,000 m-sized cells, corresponding to twice the dispersal distance, a set of pseudo-absence data was generated by randomly sampling one point within each cell without a presence point. In this sampling procedure, a rule of inter-point distance of 2,500 m was applied to avoid having two very close points. The resulting set of 323 pseudo-absence points and 119 presence points is the target variable we seek to model from landscape predictors. The statistical modelling is made by using a maximum likelihood logistic regression, assessed by minimizing the Akaike information criterion (AIC).

Landscape data

Different data sources were combined to build a detailed landscape map. The 1 m-accuracy vectorial landscape databases provided by French cartographic services (DREAL Franche-Comté, BD Topo IGN, updated in 2009) allowed us to represent wetlands, forests, hedges, roads and rivers. In agricultural areas, remotely sensed data (IRS PAN + LISS-III, 7 m spatial resolution) were used to separate grassland and bare ground. Despite the acquisition date (1997), the IRS image remains relevant because it concerns only these two categories which have not undergone significant changes in this region. All these data elements were combined into a unique raster layer with a resolution of 10 m. Altogether, ten land cover categories were obtained: ponds (habitat), wetlands, rivers, hedges, forest edges, forests, grasslands, bare ground, buildings and roads. Considering that only altitudes below 600 m are suitable for the tree frog (Pinston 2000), a digital elevation model was used to remove areas above 600 m. After this selection of the study area, altitude was nonetheless considered as playing a possible role in the zones below 600 m.

Ecological literature and expert opinions were used to assign a cost value to each landscape category

according to its resistance to movement. Radio tracking experiments (Vos and Stumpel 1995; Pellet et al. 2004) concluded that grasslands and linear landscape elements like hedgerows, forest edges and river banks facilitated movement. Conversely, the cores of forest patches, bare ground and buildings were considered highly impassable and mostly avoided by the tree frog. Several resistance sets were tested to select the combination offering the best fit with the empirical data. The habitat category has a cost of 1. A low cost value of 5 was assigned to the categories favourable to movement whereas a high cost value of 350 was attributed to the other features.

Considering this resistance set, the dispersal distance expressed in a metric unit had to be converted into a cost distance unit. The paths corresponding to the links were therefore characterized by both distance units. From the set of paths, the cost distances were fitted from the metric distances using a linear regression. This led us to express the maximal dispersal distance of 2,500 m into a cost distance of 1,615.

Results

Using the software Graphab 1.0 (<http://thema.univ-fcomte.fr/productions/graphab/>), 8,954 habitat patches varying from 0.01 to 100 ha (mean 0.6 ha) were identified on the landscape map. A complete graph was constructed by removing the links that exceeded the maximum dispersal distance. The resulting graph was composed of 2,16,254 links (Fig. 2).

In computing the metrics R, F and BCI, the weighting of the patches was adapted to the tree frog's behaviour. Patch weighting was based on the area of terrestrial habitat within a 500 m radius around ponds, in line with the studies of Vos and Stumpel (1995) and Pellet et al. (2004) which emphasized the greater importance of such habitat over pond size. The presence/pseudo-absence points were connected to all the patches located at a distance within the maximum dispersal distance and so were associated with the mean of the local values of R, F and BCI.

Several models were set up by testing different combinations of explanatory variables (Table 1). The three metrics tested separately involved significant models, but R proved to be the most relevant (AIC = 258.58) compared with F (AIC = 406.66) and BCI (AIC = 475.28). The model using the three metrics

simultaneously provided an AIC of 252.69 and explained 51.7% of the variance. The addition of altitude to these metrics led to an AIC value of 244.80.

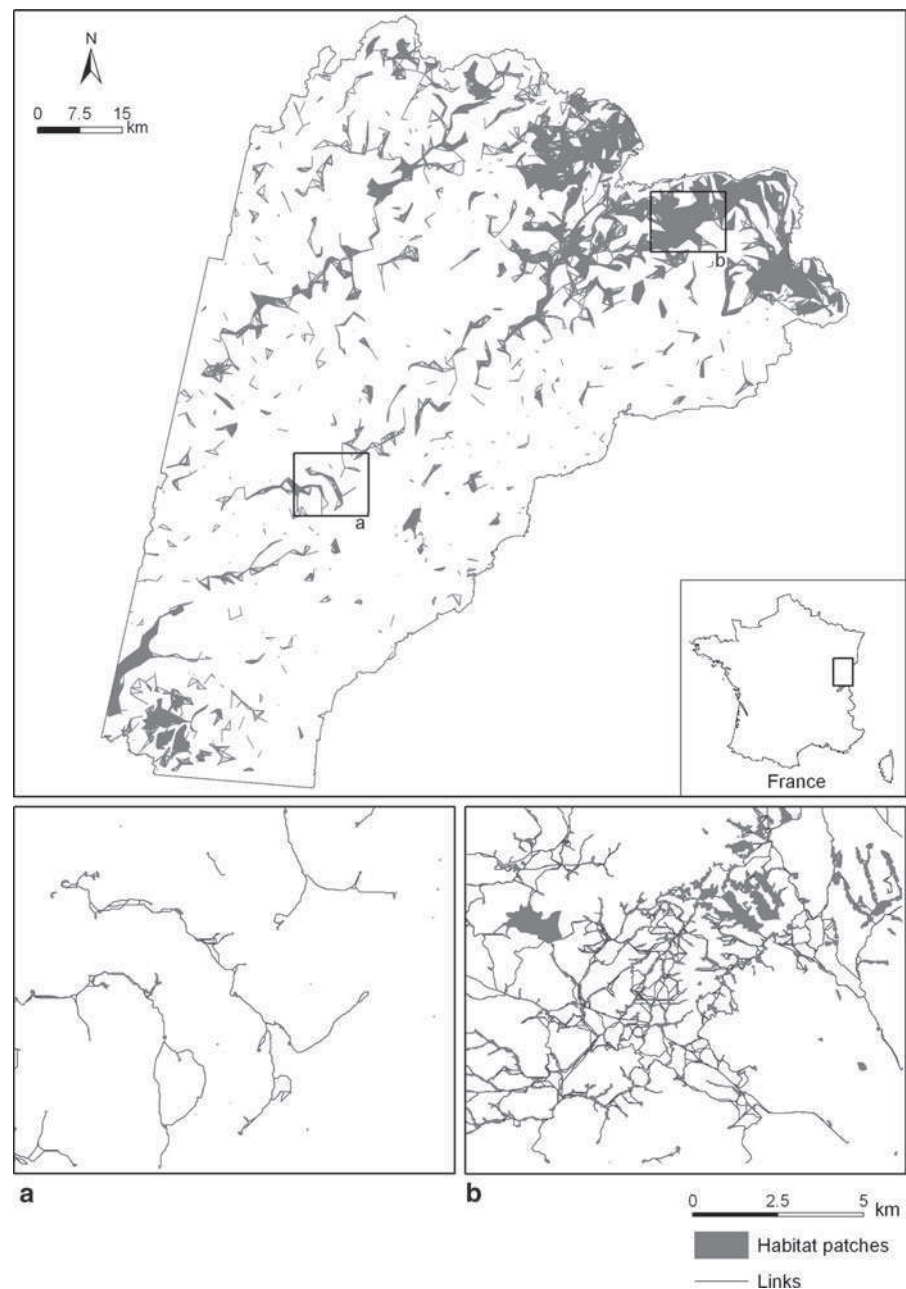
By way of a comparative approach, all the graph-based metrics were computed using Euclidean distances in order to evaluate the relevance of the cost distances. This comparison showed that the cost distances were always more relevant. For example, for the model including the three graph-based metrics, the AIC values obtained from the cost distances were consistently lower than those obtained from Euclidean distances.

In terms of dispersal flux, the contribution of the graph to the SDM was assessed by comparing F with the IFPC computed in a 2,500 m neighbourhood (model 11). Model 2 using F gave better results, with an AIC value of 406.66 versus 428.49 when using the IFPC. In a similar manner, model 5 based on the graph metrics gave a greater explanatory power than model 12 without the graph.

In order to test the sensitivity of the approach to the threshold distance used to define the graph and the metrics F and BCI, the computations were repeated using several hypothetical dispersal distances. This sensitivity analysis was applied to the best model presented in Table 1 (model 5), including R, F, BCI and altitude. This model was calculated with dispersal distances varying from cost distances of 1,300 (roughly corresponding to 1,500 m) to 2,100 (4,000 m). The results in Table 2 show that the global significance of the model is relatively stable, being better for short dispersal distances ($r^2 = 0.551$ and AIC = 237.35 for a cost distance of 1,300) than for long dispersal distances ($r^2 = 0.503$ and AIC = 262.15 for a cost distance of 2,100). The results obtained separately with each metric show that the difference is due to the variation of R, whereas F and BCI prove to be more stable depending on the dispersal distance.

The stability of the results according to the dispersal distance led us to select model 5 with the dispersal distance of 2,500 m to predict the distribution of the tree frog. This model was based on the graph-based metrics using cost distances and altitude. Results of the regression analysis (Table 3) indicated that R, followed by F, were the most important predictors, being positively correlated to the presence of the tree frog. Conversely, BCI was not significant and altitude played a negative role. The extrapolation of this model to all cells in the study area provided a probability map of tree frog occurrence (Fig. 3). To compare this outcome with the probability map

Fig. 2 Landscape graph of the European tree frog in the region of Franche-Comté. The top map is a topographical presentation (centroid-to-centroid) of the links for the graph of the entire region. *Insets a* and *b* are local excerpts drawn in a 'realistic' presentation including the habitat patches in 2 D and the least-cost paths. The zones in *a* and *b* show different densities of the pond network



obtained from a graph-less model, the same extrapolation is based on model 12 (Fig. 4).

Discussion

The results obtained by modelling the distribution of the European tree frog can be interpreted on several levels.

A first comment concerns the specific case study made here. The model for predicting the occurrence of the European tree frog in Franche-Comté (France) reaches a high level of significance with just two graph-based metrics and altitude as predictors. Given the coefficients assigned to these predictors in the final model, these results are consistent with the ecological literature. As expected, the area of favourable terrestrial habitat (R) and the connection of the surrounding

Table 1 Comparison of different models using a maximum likelihood logistic regression

Model	Type of distance	Variables	McFadden R^2	AIC
1	Cost	R	0.502	258.58
2	Cost	F	0.214	406.66
3	Cost	T	0.081	475.28
4	Cost	R, F, BCI	0.517	252.69
5	Cost	R, F, BCI, altitude	0.536	244.80
6	Euclidean	R	0.136	446.74
7	Euclidean	F	0.124	452.97
8	Euclidean	T	0.020	506.48
9	Euclidean	R, F, BCI	0.238	398.43
10	Euclidean	R, F, BCI, altitude	0.316	360.28
11	Cost, no graph	IFPC	0.172	428.49
12	Cost, no graph	R, IFPC, altitude	0.508	257.21

All models are significant with $p < 0.0001$

habitat patches (F) are considered important criteria for the presence of the tree frog (Fog 1993; Vos and Stumpel 1995; Pellet et al. 2004). The significance of the metric F reflects the importance of the pond network. However, metric BCI not being significant suggests that colonization from afar after a local extinction is not a major factor in the distribution of the tree frog. This finding cannot yet be validated because long-distance migrations are insufficiently documented due to difficulties in the long-term monitoring of these populations.

Other points of discussion concern the validity of the graph-based approach with respect to the generic methods of SDM. The methodological procedure presented here suggests the SDM may be improved by incorporating graph-based connectivity metrics. Connections between patches (representing potential movements) can then be taken into account when modelling the spatial distribution of a given species. This proves to be a relevant way to include the metapopulation paradigm in the SDM, as suggested by Armstrong (2005). The metrics used in this paper refer to different spatial scales and to different ecological functions associated with the habitat patches. Their significance in the SDM may be interpreted in terms of

population dynamics, even if field observations are necessary to validate this functional interpretation. That the landscape graphs can account for several spatial scales may be viewed as a significant improvement on the approach taken by Richard and Armstrong (2010) using the IFPC and on the more classical inclusion of predictors describing the neighbouring landscape in the SDMs for mobile organisms (Guisan and Thuillier 2005). In this respect, the better result obtained with the graph-based metric F in comparison with the IFPC shows, in the case under study, the effective contribution of the network to the predictive model of the presence of the species. The comparison between the spatial distributions provided by the models with and without graphs (Figs. 3, 4) shows that this statistical difference has a spatial consequence locally. Species distribution proves to be spatially more extended with the graph-based predictors, especially in the central zone of the study area (zone a in Figs. 3, 4), where the links are strongly oriented by a valley. Conversely, in a zone of high density and well-connected patches (zone b in Figs. 3, 4), the contribution of the graph is less important.

Using graph-based connectivity metrics in the SDM raises a practical problem because of their different spatial frameworks. While the SDM usually relies on a pseudo-continuous space where the points (presence/absence) may lie anywhere in the study area, landscape graphs focus on specific spatial objects in the form of habitat patches and inter-patch paths. Using these graphs to assess the value of connectivity metrics at any point of space entails spatial interpolation of these metrics from the graph elements. This spatial function serves as a junction between the landscape graph and the SDM. As no similar experiment has been conducted before, we proposed two variants: connection to either the closest patch to a point (mono-connection) or to all the patches in the vicinity of this point (multi-connection). The second option was used in this study because it was assumed to be the more relevant. Several additional tests aiming to compare these options have confirmed this assumption with about a 10% improvement in explained variance. Nevertheless, this more realistic option is more computation-intensive.

The method proposed here may be used for other animal species, but the initial conditions to be observed might restrict its application. Basically, landscape graphs rely on suitable habitat patches

Table 2 Sensitivity analysis of models with different dispersal distances

Model	Maximal dispersal distance	Variables	McFadden R^2	AIC
1	1,500 m (1,300 cost units)	R	0.522	248.39
2		F	0.221	402.94
3		BCI	0.053	489.88
4		R + F + BCI	0.534	243.92
5		R + F + BCI + altitude	0.551	237.35
1	2,000 m (1,500 cost units)	R	0.507	255.67
2		F	0.217	405.09
3		BCI	0.089	471.19
4		R + F + BCI	0.525	248.81
5		R + F + BCI + Altitude	0.542	241.59
1	2,500 m (1,615 cost units)	R	0.502	258.58
2		F	0.214	406.66
3		BCL	0.081	475.28
4		R + F + BCI	0.517	252.69
5		R + F + BCI + altitude	0.536	244.80
1	3,000 m (1,775 cost units)	R	0.486	266.50
2		F	0.213	407.38
3		BCI	0.064	484.16
4		R + F + BCI	0.504	259.37
5		R + F + BCI + altitude	0.525	250.83
1	3,500 m (1,935 cost units)	R	0.470	274.78
2		F	0.211	408.28
3		BCI	0.059	486.64
4		R + F + BCI	0.490	266.59
5		R + F + BCI + altitude	0.511	257.62
1	4,000 m (2,100 cost units)	R	0.459	280.67
2		F	0.209	409.35
3		BCI	0.061	485.73
4		R + F + BCI	0.480	271.79
5		R + F + BCI + altitude	0.503	262.15

All models are significant with $p < 0.0001$

Table 3 Final distribution model of the tree frog including metrics R, F, BCL and altitude using a dispersal distance of 2,500 m (model 5)

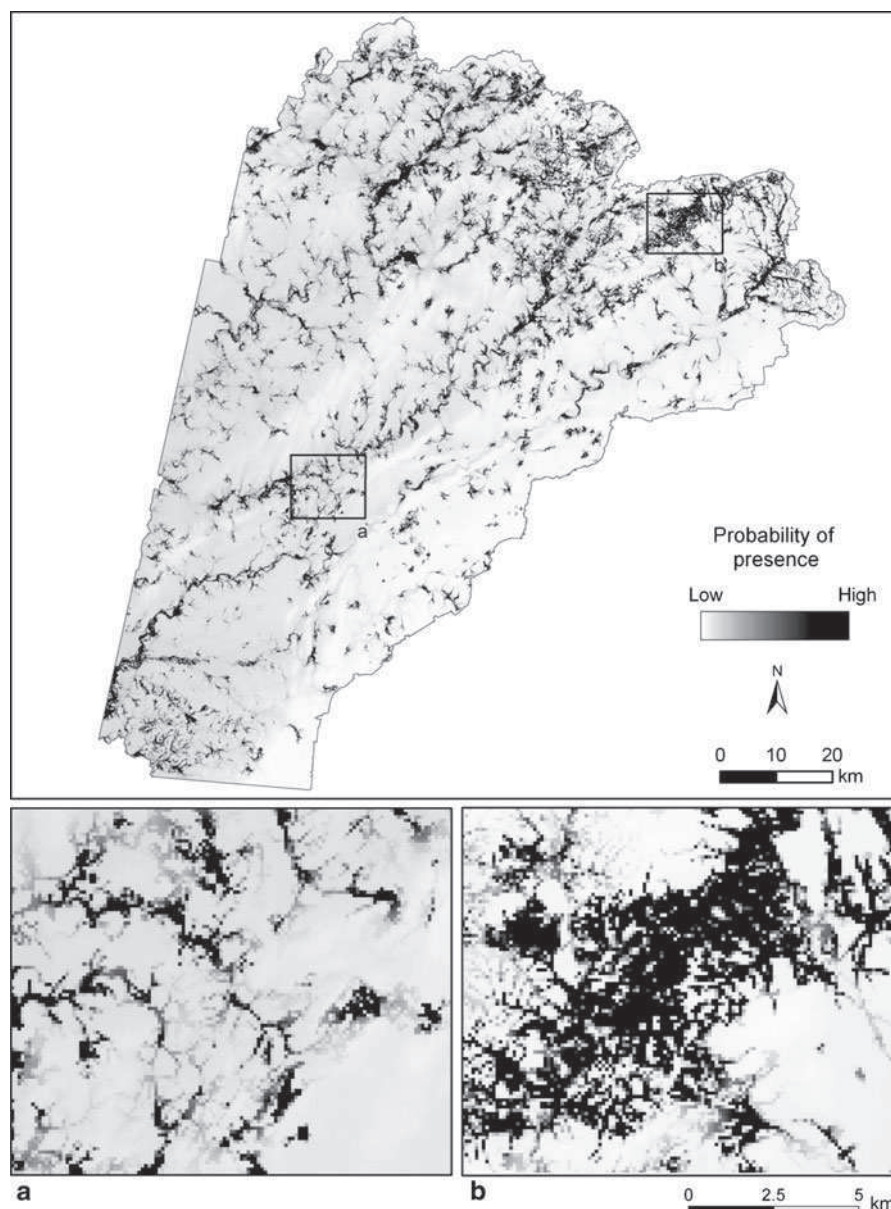
Variables	Standardized coefficients	SD	Wald χ^2
R	1.108	0.128	75.413***
F	0.623	0.191	10.600**
BCI	–	–	n.s.
Altitude	–0.369	0.124	8.887*

*** $p < 0.0001$, ** $p < 0.001$, * $p < 0.01$

being defined as a set of discrete entities. This requirement may appear contradictory with the SDM which may be used specifically to define the suitable

habitat for a species. An example of such an approach can be seen in Hirzel and Arlettaz (2003). At first sight, graph-based metrics can only be integrated into SDMs if the suitable habitat can be defined a priori as a landscape category or a more complicated combination of categories. This assumes that some knowledge about this habitat is available. If no knowledge is available or if the habitat category is too difficult to map with acceptable accuracy, landscape graphs could be worked into an SDM in two stages: (1) using a set of presence/absence points, a first SDM may serve to map the suitable habitat of the focal species without connectivity metrics; (2) using a classification of probabilities of the previous distribution as a suitable habitat category, a second SDM using a landscape

Fig. 3 Probability of presence of the European tree frog resulting from the final SDM using model 5



graph can be applied. This suggests that the method can be reproduced in this case, but with a problem of redundancy between the models, knowing that the definition of the habitat patches by means of the first SDM artificially attributes a significant role to the metric R in the second SDM. Consequently, this approach cannot be used to assess the relative role of the potential recruitment in the distribution, which will always be the stronger by construction, restricting the interpretation of the method when the habitat patches are not mapped a priori.

The methodological combination presented in this paper also gives an illustration of the large potential of landscape graphs. In their review, Urban et al. (2009) pointed out the basic role of the concept of metapopulation in these graph models and stressed the link between certain graph properties and the population dynamic of the species under study. However, while much research based on graph models seeks to point out the key elements of the network and is often conducted with a view to conservation and prioritization (Minor and Urban 2007; Saura and Pascual-Hortal

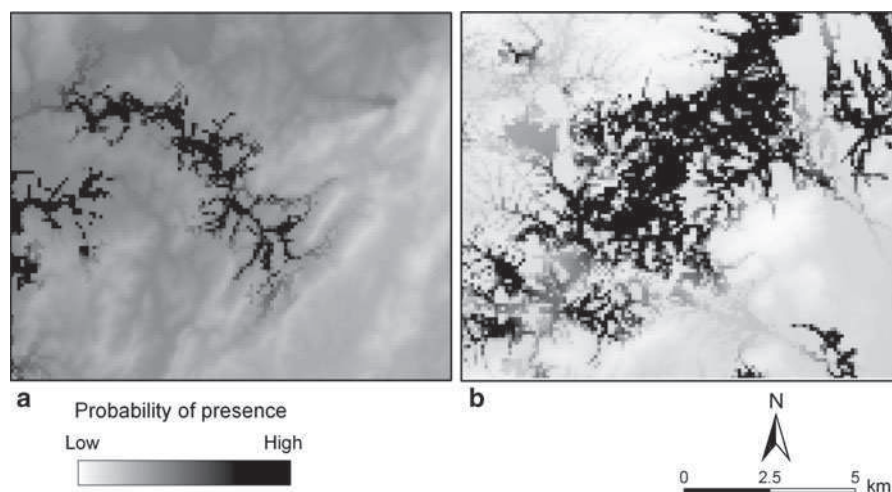


Fig. 4 Probability of presence of the European tree frog resulting from model 12 (without graph). In the zone **a**, the distribution strongly differs from the results obtained from

model 5 (Fig. 3). In the zone **b**, the distribution resulting from model 12 and model 5 (Fig. 3) are more similar

2007; Bodin 2009), few studies try to use patch-level connectivity metrics as indicators of population structure and dynamics. In addition, as the results provided by the statistical modelling can be used to assess the relative role of the habitat patches (metric R) as opposed to connectivity measures (metrics F and BCI), our approach avoids a priori overemphasis of landscape connectivity, which is one of the limitations of graph-based methods recently pointed by Moilanen (2011).

Another promising perspective is the application of a graph-based SDM in a diachronic approach, by fitting the model at a given date and by extrapolating it at a later date, with the aim of assessing the impact of landscape changes on the presence of a species. This can be applied for instance to compare the impact of several scenarios of urban development. The method is also especially suitable when planning a linear infrastructure such as a highway or a high-speed railway, because it allows us to anticipate the barrier effect for species which are dependent on their habitat network. By comparison, a classical SDM based on contextual predictors would be unable to detect a long-distance effect.

Conclusion

This paper has sought to combine landscape connectivity and species distribution. The method devised

here involves integrating patch-based connectivity metrics from a landscape graph model into a species distribution model. The results from the case study of the European tree frog show that this approach improves the predictive power of the SDM. The level of significance of the graph-based metrics R, F and BCI provides relevant information about the spatial structure of the population.

Among the potential uses of the method presented here, its application in a diachronic analysis could help in assessing the impact on species distribution of landscape changes induced by natural and by anthropic disturbances (e.g. linear infrastructures or urban development). This specific use of landscape graphs might improve the scope of SDMs in terms of conservation planning and landscape management.

Acknowledgments The authors thank Timothy Keitt and two anonymous reviewers for their valuable comments. This research is funded by the French Ministry of Ecology, Energy, Sustainable Development and the Sea (ITTECOP program) as part of the Graphab project managed by the USR 3124 MSHE Ledoux. Computations were performed on the supercomputer facilities of the “Mésocentre de calcul de FrancheComté”. We thank Raanan Barzel and Christopher Sutcliffe for reviewing the English manuscript.

References

- Armstrong DP (2005) Integrating the metapopulation and habitat paradigms for understanding broad-scale declines of species. *Conserv Biol* 19(5):1402–1410

- Arthur SM, Manly BFJ, McDonald LL, Garner GW (1996) Assessing habitat selection when availability changes. *Ecology* 77:215–227
- Austin MP (2002) Spatial prediction of species distribution: an interface between ecological theory and statistical modelling. *Ecol Model* 157:101–118
- Bodin O (2009) Prioritizing habitat patches for conservation in fragmented landscapes/townscapes using network-based models and analyses. In: Brebbia CA, Neophytou M, Berriatos E, Ioannou I, Kungolos AG (eds) Sustainable development and planning. Wit Press, Southampton, pp 109–118
- Bodin O, Saura S (2010) Ranking individual habitat patches as connectivity providers: integrating network analysis and patch removal experiments. *Ecol Model* 221:2393–2405
- Borgatti SP (2005) Centrality and network flow. *Soc Netw* 27:55–71
- Borgula A (1993) Causes of the decline in *Hyla arborea*. In: Stumpel A, Tester U (eds) Ecology and conservation of the European tree frog, 1st international workshop on *Hyla arborea*, Postdam, February 1992, Schweizerischer Bund für Naturschutz, Basel, pp 71–80
- Bunn AG, Urban DL, Keitt TH (2000) Landscape connectivity: a conservation application of graph theory. *J Environ Manag* 59:265–278
- Calabrese JM, Fagan WF (2004) A comparison-shopper's guide to connectivity metrics. *Front Ecol Environ* 2(10):529–536
- Carlson A, Edenhamn P (2000) Extinction dynamics and the regional persistence of a tree frog metapopulation. *Proc R Soc Lond B* 267:1311–1313
- Dale MRT, Fortin MJ (2010) From graphs to spatial graphs. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 41:21–38
- Estrada E, Bodin O (2008) Using network centrality measures to manage landscape connectivity. *Ecol Appl* 18:1810–1825
- Fahrig L, Grez AA (1996) Population spatial structure, human-caused landscape changes and species survival. *Rev Chil Hist Nat* 69(1):5–13
- Fog K (1993) Migration in the tree frog *Hyla arborea*. In: Stumpel A, Tester U (eds) Ecology and conservation of the European tree frog. 1st international workshop on *Hyla arborea*, Potsdam, February 1992, Schweizerischer Bund für Naturschutz, Basel, pp 55–63
- Franklin J (2009) Mapping species distributions. Cambridge University Press, Cambridge
- Galpern P, Manseau M, Fall A (2011) Patch-based graphs of landscape connectivity: a guide to construction, analysis and application for conservation. *Biol Conserv* 144:44–55
- Guisan A, Thuillier W (2005) Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecol Lett* 8: 993–1009
- Guisan A, Zimmermann NE (2000) Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecol Model* 135:147–186
- Gustafson EJ, Parker GR (1994) Using an index of habitat patch proximity for landscape design. *Landsc Urban Plan* 29: 117–130
- Hanski I, Ovaslaken O (2000) The metapopulation capacity of a fragmented landscape. *Nature* 404:755–758
- Hirzel AH, Arlettaz R (2003) Modelling habitat suitability for complex species distributions by environmental-distance geometric mean. *Environ Manag* 32(5):614–623
- Hirzel AH, Le Lay G (2008) Habitat suitability modelling and niche theory. *J Appl Ecol* 45:1372–1381
- Hjermann DØ (2000) Analyzing habitat selection in animals without well-defined home ranges. *Ecology* 81:1462–1468
- Kindlmann P, Burel F (2008) Connectivity measures: a review. *Landscape Ecol* 23:879–890
- Matthiopoulos J (2003) The use of space by animals as a function of accessibility and preference. *Ecol Model* 159:239–268
- Minor ES, Urban DL (2007) Graph theory as a proxy for spatially explicit population models in conservation planning. *Ecol Appl* 17:1771–1782
- Minor SM, Urban DL (2008) A graph-theory framework for evaluating landscape connectivity and conservation planning. *Conserv Biol* 22:297–307
- Moilanen A (2011) On the limitations of graph-theoretic connectivity in spatial ecology and conservation. *J Appl Ecol*. doi:10.1111/j.1365-2664.2011.02062.x
- Pellet J, Hoehn S, Perrin N (2004) Multiscale determinants of tree frog (*Hyla arborea* L.) calling ponds in western Switzerland. *Biodivers Conserv* 13:2227–2235
- Pinston H (2000) Amphibiens et Reptiles de Franche-Comté. Atlas commenté de Répartition. Conseil Régional de Franche-Comté, Besançon
- Pulliam HR (1988) Sources, sinks and, population regulation. *Am Nat* 132:652–661
- Richard Y, Armstrong DP (2010) The importance of integrating landscape ecology in habitat models: isolation-driven occurrence of north island robins in a fragmented landscape. *Landscape Ecol* 25:1363–1374
- Saura S, Pascual-Hortal L (2007) A new habitat availability index to integrate connectivity in landscape conservation planning: comparison with existing indices and application to a case study. *Landsc Urban Plan* 83:91–103
- Tscharntke T, Klein AM, Kruess A, Steffan-Dewenter I, Thies C (2005) Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity–ecosystem service management. *Ecol Lett* 8:857–874
- Urban DL, Keitt TH (2001) Landscape connectivity: a graph theoretic approach. *Ecology* 82:1205–1218
- Urban DL, Minor ES, Treml EA, Schick RS (2009) Graph models of land mosaics. *Ecol Lett* 12:260–273
- Vos C, Stumpel AHP (1995) Comparison of habitat-isolation parameters in relation to fragmented distribution patterns in the tree frog (*Hyla arborea*). *Landscape Ecol* 11:203–214
- Wright KA (1943) Isolation by distance. *Genetics* 28:114–138
- Zetterberg A, Mörtberg UM, Balfors B (2010) Making graph theory operational for landscape ecological assessments, planning, and design. *Landsc Urban Plan* 95:181–191

Résumé

Le petit rhinolophe *Rhinolophus hipposideros* autrefois largement répandu dans le nord-ouest de l'Europe a connu une réduction drastique de ses effectifs au cours de la seconde moitié du XX^{ème} siècle. La destruction et la fragmentation des habitats favorables à cette espèce font partie des principales causes de ce déclin. Une des hypothèses testées ici est que la connectivité de ces habitats influencerait la distribution spatiale des gîtes de maternité. Dans un premier temps nous avons estimé la connectivité fonctionnelle de l'habitat de l'espèce et modélisé la distribution des colonies de maternité en Franche-Comté. La méthode des graphes paysagers a été appliquée afin d'extraire plusieurs métriques représentant la connectivité fonctionnelle paysagère à différentes échelles spatiales. Ces métriques ont été retenues dans un modèle prédictif de la présence de gîte de maternité en fonction du contexte paysager, ce qui confirme l'hypothèse du rôle de la connectivité dans la distribution de l'espèce. Les résultats montrent qu'à l'échelle locale de la colonie, la présence de gîte dépend de la disponibilité en forêt à proximité de petites surfaces de bâti. À un niveau régional, la présence de gîte dépend de leur intégration à un réseau de connectivité à large échelle permettant les échanges d'individus entre gîtes. La deuxième hypothèse testée est que la réduction des flux de gènes entre colonies due à des variations de connectivité fonctionnelle entre gîtes pourrait conduire à la différenciation génétique des colonies distantes. Pour la tester, nous avons analysé à partir de l'échantillonnage de guano et à l'aide de huit microsatellites la différenciation et la structure génétique des colonies de maternité en relation avec la structure paysagère dans l'ensemble de la région. Malgré l'importante philopatrie des femelles, nos résultats révèlent une faible différenciation génétique entre les colonies cependant structurée. Cette structure génétique n'est ni expliquée par un isolement par la distance ni corrélée aux distances paysagères. Nous pouvons donc conclure que l'habitat du petit rhinolophe est bien connecté en Franche-Comté. Nos résultats suggèrent également que les échanges génétiques se produisent entre colonies proches possiblement via la dispersion des mâles. Ces flux de gènes interviendraient alors en automne juste avant que les mâles et femelles se rejoignent dans le gîte d'hivernage.

Mots clés : chauves-souris, philopatrie, graphe paysager, connectivité paysagère, structure génétique, flux de gènes

Abstract

The lesser horseshoe bat, *Rhinolophus hipposideros* was formerly widespread and quite common in north-western Europe, but has undergone a dramatic decline from the 1960s. Habitat reduction and fragmentation have been suggested as main factors explaining the decline of this species. Following this assumption, we expected habitat connectivity to influence the spatial distribution of the maternity roosts. We firstly estimated the functional connectivity of the bat's habitat and modeled the distribution of its colonies in Franche-Comté region (France). We applied a landscape graph-based approach to extract several patch-level metrics representing the functional connectivity of the landscape at different spatial scales. Those metrics were integrated in a predictive model of the maternity roosts presence according to the landscape context which confirms the role of landscape connectivity in the species distribution. Results showed that, at the colony local scale, roost's presence depends on the availability of wooded elements near small built areas. At the regional scale, roost's presence depends on their spatial integration into a connected network allowing exchanges of individuals among them. The second assumption is that restricted gene flows among colonies due to variations of functional connectivity among maternity roosts may lead to genetic differentiation between distant colonies. Based on bat droppings sampling and using eight microsatellite loci, we tested this hypothesis by examining the genetic differentiation of maternity colony at regional scale according to landscape structure. Despite strong female philopatry our results emphasized a weak but structured genetic differentiation within maternity colonies. This genetic structure was neither related to isolation by distance nor to landscape measures. We could conclude that the Franche-Comté region presents a good overall connectivity for the lesser horseshoe bat. Our results also suggest that genetic exchanges occurred between geographically closed colonies, probably due to male dispersal events. Inter-colony gene flows might occur during mating in the fall, just before males and females gathering in winter roosts.

Keywords: bats, philopatry, landscape graph, landscape connectivity, genetic structure, genetic exchange