



Evaluation des impacts de la fragmentation du paysage par une autoroute sur les chauves-souris à différentes échelles spatio-temporelles

Fabien Claireau

► To cite this version:

Fabien Claireau. Evaluation des impacts de la fragmentation du paysage par une autoroute sur les chauves-souris à différentes échelles spatio-temporelles. Biodiversité et Ecologie. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS; Universität Greifswald, 2018. Français. NNT : 2018MNHN0018 . tel-02122642

HAL Id: tel-02122642

<https://theses.hal.science/tel-02122642>

Submitted on 7 May 2019

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.



MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Ecole Doctorale Sciences de la Nature et de l'Homme – ED 227

Année 2018

N°attribué par la bibliothèque

|||||

THESE

Préparée en co-encadrement avec

University of Greifswald "Ernst Moritz Arndt"

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DU MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Spécialité : Écologie

Présentée et soutenue publiquement par

Fabien Claireau

Le 15 novembre 2018

Évaluation des impacts de la fragmentation du paysage par une autoroute sur les chauves-souris à différentes échelles spatio-temporelles

Sous la direction de : **Dr. Kerbiriou Christian, Dr. Puechmaille Sébastien J.**
et **Pr. Machon Nathalie (HDR)**

JURY :

M. Martin Jean-Louis	Directeur de recherche, Centre National de la Recherche Scientifique, Montpellier	Rapporteur
M. François Denis	Directeur de recherche, Institut Français des Sciences et Technologies des Transports, de l'Aménagement et des Réseaux, Bouguenais	Rapporteur
Mme Sirami Clélia	Chargée de recherche, Institut National de la Recherche Agronomique, Castanet	Examinatrice
M. Kerbiriou Christian	Maître de conférences, Sorbonne université, Paris	Directeur de thèse
M. Puechmaille Sébastien J.	Assistant-professeur, Université de Greifswald, Greifswald, Allemagne	Directeur de thèse
Mme Machon Nathalie	Professeure, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris	Directrice de thèse
M. Allegrini Benjamin	Président Directeur Général, Naturalia environnement, Avignon	Membre invité

Il s'agit de la seconde version de la thèse suite à la prise en compte de plusieurs remarques des membres du jury lors de la soutenance.

SOMMAIRE

Liste des figures	V
Liste des tables	XIII
Résumé	XXI
Abstract	XXIII
Remerciements	XXV
Avant-propos	XXVII
Introduction générale.....	1
1. L'érosion de la biodiversité et les infrastructures linéaires de transports	3
1.1. L'érosion de la biodiversité	3
1.2. La fragmentation des habitats	3
1.3. Rôle des infrastructures linéaires de transports dans la fragmentation des habitats et l'érosion de la biodiversité.....	6
2. Évolution d'un type d'infrastructures linéaires de transports : les routes	9
2.1. Contexte	9
2.2. Évolution du réseau routier	9
3. Les chauves-souris : un taxon probablement très affecté par la fragmentation occasionnée par les routes.....	10
3.1. Les potentiels impacts	10
3.2. Les impacts actuellement connus	11
3.3. Quels potentiels impacts reste-t-il à étudier ?	18
4. Prise en compte des chauves-souris dans les dossiers réglementaires	18
4.1. Projets routiers et réglementation.....	18
4.2. Évaluation des enjeux pour les chauves-souris dans les dossiers réglementaires	20

4.3. Les mesures "ERC" et "A" dans le cadre de projets routiers en rapport avec les chauves-souris	22
5. Comment expliquer cette absence de prise en compte des chauves-souris dans les dossiers réglementaires au regard des impacts connus et potentiels ?	25
6. Prise de conscience de la fragmentation et politiques publiques	27
7. Orientation et plan de la thèse	30
Chapitre 1 : Méthodes pour évaluer l'impact des routes sur les chauves-souris	35
1. Contexte	37
2. Orientation du chapitre.....	42
3. Matériel et méthodes	42
4. Principaux résultats	46
5. Discussion et perspectives.....	48
Article n°1	49
Barré K, Pauwels J, Le Viol I, Julien J-F, Julliard R, Claireau F, Bas Y. & Kerbiriou C. in prep. Robustness of using a semi-automatic method to account for identification errors in bat acoustic surveys. <i>Methods in Ecology and Evolution</i>	51
Article n°2	85
Pinaud D, Claireau F, Leuchtman M & Kerbiriou C. 2018. Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance. <i>Journal of Applied Ecology</i> . DOI: 10.1111/1365-2664.13228	87
Chapitre 2 : Effets des autoroutes sur l'activité chiroptérologique et la génétique des populations	109
1. Contexte	111
2. Matériel et méthodes	115
3. Principaux résultats	116

4. Discussion et perspectives.....	118
Article n°3	121
Claireau F, Bas Y, Pauwels J, Barré K, Machon N, Allegrini B, Puechmaille SJ & Kerbiriou C. major revision. Large negative effects of major roads on bat activity. <i>Biological conservation</i>	123
Synthèse n°1	173
Effet des autoroutes ou 2X2 voies contigües sur la structuration génétique et les échanges d'individus de Chiroptères	175
Chapitre 3 : Evaluation des mesures de réduction	199
1. Contexte	201
2. Matériel et méthodes	203
3. Principaux résultats	208
4. Discussion et perspectives.....	210
Article n°4	215
Claireau F, Bas Y, Puechmaille SJ, Julien JF, Allegrini B & Kerbiriou C. in minor revision. Bat overpasses: an insufficient solution to restore habitat connectivity across roads. <i>Journal of Applied Ecology</i> . DOI: 10.1111/1365-2664.13288	217
Article n°5	249
Claireau F, Bas Y, Puechmaille SJ, Julien JF, Machon N, Allegrini B, Kerbiriou C. minor revision . Bat overpasses as an alternative solution to restore habitat connectivity in the context of road requalification. <i>Ecological Engineering</i>	251
Synthèse n°2.....	273
Développement d'un outil de trajectographie des chauves-souris à partir d'images thermiques : le Bat Tracking Toolbox (BTT)	275

Conclusion générale	285
1. Importance des éléments linéaires.....	287
2. Effet des autoroutes sur l'activité des chauves-souris et la génétique des populations ..	288
2.1. Effets sur l'activité des chauves-souris.....	288
2.2. Effets sur la génétique des populations	290
3. Évaluation de l'efficacité des chiroptéroducts	292
4. Standardisation d'une méthode d'évaluation	292
5. Conclusions	293
Perspectives	295
1. Diffusion des résultats	297
2. Implications pour les nouveaux projets.....	298
2.1. Favoriser l'évitement	298
2.2. Prendre en compte la zone d'influence de la route	299
2.3. N'avoir aucune perte nette de biodiversité	299
3. Implications pour les anciens projets	300
3.1. Les pertes résiduelles, à qui la faute ?	300
3.2. Qu'est-il possible de mettre en œuvre pour rendre les infrastructures plus transparente écologiquement ?	302
4. La nécessité de protocoles stricts adaptés	305
Références (hors articles)	307

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Processus de fragmentation d'un habitat. Les surfaces noires représentent l'habitat et les surfaces blanches la matrice	4
Figure 2 : Effet de la fragmentation sur les écosystèmes (Haddad <i>et al.</i> 2015).....	4
Figure 3 : Effets retardés de la fragmentation sur la dégradation des écosystèmes (Haddad <i>et al.</i> 2015)	5
Figure 4 : Fragmentation des paysages en Europe (European Environment Agency & Schweiz 2011).....	6
Figure 5 : Cartes (a) du réseau routier et (b) de la pollution lumineuse.....	8
Figure 6 : Projection de l'évolution du réseau routier au niveau mondial.....	9
Figure 7 : De janvier à décembre : Hibernation – Activité croissante – Gîte de parturition, naissance des jeunes (mai/juin) et émancipation (envol des jeunes) (juillet/aout) – Accouplement et site d'essaimage – Hibernation (Mitchell-Jones & English Nature (Agency) 2004).....	10
Tableau 1 : Nombre de cadavres de chauves-souris retrouvés par espèce dans différentes études européenne (Fensome & Mathews 2016)	13
Figure 8 : Exemple domaines vitaux du Grand rhinolophe d'une colonie en Charente-Maritime estimés par la méthode de Kernel. Le trait noir en gras est l'autoroute A10. [Pinaud in (Leuchtman 2018)].....	15
Figure 9 : Impacts spatio-temporels des routes sur les chauves-souris. En italique : lors de la phase de construction de route, souligné : lors de la phase de mise en service, italique et souligné : les deux phases	17
Figure 10 : Étapes de la séquence "Éviter, Réduire et Compenser" (Regnery <i>et al.</i> 2013)	19

Tableau 2 : Méthodes pouvant être mises en œuvre pour l'évaluation des enjeux pour les chauves-souris dans le cadre des dossiers réglementaires concernant les projets routiers. Le coût ici présenté prend compte une seule répétition de la méthode employée et sur une journée, le matériel (sans amortissement) et la main d'œuvre et est également dépendant du type de matériel utilisé; très faible (<500 €), faible (< 1000 €), moyen (< 5000€), fort (<15 000 €), très fort (>15 000 €).	20
Tableau 3 : Principaux avantages et inconvénients des méthodes pouvant être mises en œuvre	21
Figure 11 : Apport des écoutes acoustiques des chauves-souris dans les dossiers réglementaires	21
Tableau 4 : Sources des informations utilisées par aménageurs/gestionnaires/bureaux dans une région au Royaume-Uni : "Broadland" (Sutherland <i>et al.</i> 2004)	26
Figure 12 : Exemple d'éléments des TVB : réservoirs de biodiversité et types de corridors (Allag-Dhuisme <i>et al.</i> 2010).....	27
Figure 13 : Schéma expliquant comment l'activité des chauves-souris peut être influencée par plusieurs paramètres. *, biais pouvant être supprimés lors d'enregistrements simultanés	37
Figure 14 : Différences entre l'utilisation d'un capteur et un observateur concernant la récolte de données sur le terrain.....	38
Figure 15 : Processus depuis la capture des signaux jusqu'au traitement	40
Figure 16 : Les lignes pointillées horizontales montrent les seuils de risque utilisés (0,5 et 0,9) et les lignes pleines verticales, les scores aux seuils de confiance Chaque cercle ouvert représente une séquence de chauve-souris prenant une valeur de probabilité de réussite d'identification de 1 lorsqu'il est correctement identifié et 0 si mal identifié.....	45
Figure 17 : Probabilité de franchissement d'une trouée en fonction de sa largeur. Les points verts réfèrent aux observations (un point par trouée, 0 : pas de franchissement ; 1 :	

franchissement). La ligne verte montre la modélisation de cette probabilité avec son intervalle de confiance à 95 %	47
Figure 18 : Matrice de perméabilité (à gauche) et carte du coût cumulé de déplacement à partir de la colonie (à droite). Les points noirs donnent les localisations des femelles suivies en radiopistage. Les points verts/oranges la présence / l'absence de Grands rhinolophes lors d'enregistrements acoustiques passifs.....	47
Figure 19 : Schéma illustrant l'hypothèse de travail de l'article 3.....	113
Figure 20 : Schéma illustrant l'hypothèse de travail de la synthèse 1	114
Figure 21 : Modèle mixte additif généralisé (GAMM) pour le Petit rhinolophe négativement impactés.....	116
Figure 22 : Cartes des surfaces impactées par les autoroutes en Union européenne (28 pays) dont nous disposons les données autoroutières datant de 2005. Les données Natura 2000 datent de 2017	117
Figure 23 : Barrière génétique (trait bleu) qui correspond au tracé de la nationale 2.....	118
Figure 24 : Petit rhinolophe (photo : Jason Crebassa)	177
Figure 25 : Plan d'échantillonnage recherché pour évaluer l'effet des autoroutes sur les mouvements d'individus.....	178
Figure 26 : Les points jaunes à l'intérieur du cercle orange correspondent aux colonies de notre plan d'échantillonnage : O_1788 (A, Fig. 25), M_1975 (C, à 6,5 km, Fig. 25), O_2806 (B, à 6,7 km, Fig. 25), P_1312 et P_1593 (colonies secondaires). Les points jaunes à l'extérieur du cercle orange (M_1979 et M_1106) correspondent à des colonies échantillonnées dans le cadre de la thèse de Pierre-Loup Jan en 2016. Les points oranges correspondent à des colonies de Petit rhinolophe connues mais non échantillonnées. La ligne épaisse blanche bordée de noir correspond à la 2X2 voies contigüe (N2).....	180

Figure 27: Isolement par la distance des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Chaque point représente la distance génétique et géographique d'une paire de colonies. Les paires de colonies se trouvant du même côté de la route sont représentées en bleu, et les paires de colonies séparées par la nationale sont représentées en rouge 186

Figure 28: Algorithme de Monmonier sous adegenet des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. A : Distance génétique et seuil choisi. B: Emplacement relatif des cinq colonies et de la barrière déterminée par l'algorithme (en bleu). Les lignes noires représentent les liens entre les colonies considérées comme voisines..... 186

Figure 29 : Algorithme de Monmonier sous barrier 2.2 des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Les lignes vertes représentent les liens entre les colonies considérées comme voisines (voir figure 26 pour la correspondance entre les numéros et les noms des colonies). Les lignes rouges représentent les séparations considérées comme des barrières potentielles par l'algorithme, et leurs épaisseurs dépend du nombre de bootstrap considérant cette séparation comme une barrière. Le nombre de bootstrap considérant une séparation comme une barrière est représenté en orange 187

Figure 30 : ACPD des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. L'axe des abscisses discrimine les colonies se trouvant de chaque côté de la route..... 187

Figure 31 : Populations assignées par l'ACPD pour chaque individu des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situées au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord. Un brassage fort impliquerait que toutes les populations assignés serait présentes de manière équivalente dans chaque population échantillonnées, alors qu'une séparation totale le long de la nationale impliquerait que seule les populations rouges serait représentés dans les trois

premières populations, et que seule les individus échantillonnés dans les deux dernières populations serait uniquement assignés dans des populations bleues..... 188

Figure 32 : Isolement par la distance des sept colonies échantillonnées en 2016. Chaque point représente la distance génétique et géographique d'une paire de colonies ; Les paires de colonies se trouvant du même côté de la route sont représentées en bleu, et les paires de colonies séparées par la nationale sont représentées en rouge 190

Figure 33 : Algorithme de Monmonier sous adegenet des sept colonies échantillonnées en 2016. A : Distance génétique et seuil choisi. B: Emplacement relatif des cinq colonies et de la barrière déterminée par l'algorithme (en bleu). Les lignes noires représentent les lien entre les colonies considérées comme voisines 190

Figure 34 : Algorithme de Monmonier sous barrier 2.2 des sept colonies échantillonnées en 2016. Les lignes vertes représentent les liens entre les colonies considérées comme voisines (voir figure 26 pour la correspondance entre les numéros et les noms des colonies). Les lignes rouges représentent les séparations considérées comme des barrières potentielles par l'algorithme, et leur épaisseur dépend du nombre de bootstraps considérant cette séparation comme une barrière. Le nombre de bootstrap considérant une séparation comme une barrière est représenté en orange 191

Figure 35 : ACPD des sept colonies échantillonnées en 2016. L'axe des abscisses discrimine les colonies se trouvant de chaque côté de la route..... 191

Figure 36 : Populations assignés par l'ACPD pour chaque individu des sept colonies échantillonnées en 2016. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situées au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord 192

Figure 37 : Localisation des enfants assignés aux mères des différentes populations échantillonnées pour les 5 colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situés au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord.....	193
Figure 38 : Localisation des enfants assignés aux mères des différentes populations échantillonnées pour les 7 colonies échantillonnées en 2016. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situées au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord.....	194
Figure 39 : Relations entre mesures ERC et impacts sur les chauves-souris (c.-à-d., phase de réduction des impacts et de leur évaluation)	202
Figure 40 : A. Position des microphones : le canal gauche (micro 1) face à l'infrastructure de transport (ILT) et le canal droit (micro 2) face à habitat et perpendiculaire à l'ILT. B. Calcul de la différence du temps d'arrivée du cri (TDOA). C. Nous définissons un franchissement lorsqu'une chauve-souris qui est entrée sur la route d'un côté a été détectée en sortant de l'ILT	205
Figure 41 : Trajectoire de chauves-souris (ligne orange) avant la pose du chiroptéroduc.....	208
Figure 42 : Trajectoire de chauves-souris (ligne orange) après la pose du chiroptéroduc.....	208
Figure 43 : Nombre de franchissements de chauves-souris par nuit (données brutes) par paires d'enregistreurs acoustiques et par ouvrage dédié. Les types d'habitat (A, terres agricoles, F, forêts, H, haies, S, cours d'eau, CR, corridor) sont spécifiés sous la lettre de chaque paire d'enregistreur. Les franchissements de chauves-souris au niveau de l'ouvrage dédié ont été	

utilisés comme référence (c-a-d, intercepte) dans chaque modèle (***, $P < 0,001$; **, $P < 0,01$; *, $P < 0,05$).....	209
Tableau 5 : Estimation, erreur-standard et p-value du nombre de franchissements de chauves-souris au contrôle et au traitement avant et après pose de l'ouvrage dédié. Le contrôle et la période après sont dans l'intercepte du modèle.	210
Figure 44 : Exemple d'une chauve-souris volant à risque de collision	212
Figure 45 : Point de suivi "approche"	278
Figure 46 : Point de suivi "centré sur la route"	278
Figure 47 : Étapes des scripts de programmation du Bat Tracking Toolbox	280
Figure 48 : Trajectoire de chauves-souris avant la pose du chiroptéroduct	281
Figure 49 : Trajectoire de chauves-souris après la pose du chiroptéroduct	281
Tableau 6 : Bat Tracking Toolbox (BTT) vs utilisateur.....	281
Figure 50 : Relation entre nombre de chauves-souris détectées par rapport au "bruit de fond"	282
Figure 51 : Relation entre le taux de chauves-souris et de bruit retrouvé par rapport au seuil n-1 (c-a-d, par rapport au score/probabilité précédent)	282

LISTE DES TABLES

Figure 1 : Processus de fragmentation d'un habitat. Les surfaces noires représentent l'habitat et les surfaces blanches la matrice	4
Figure 2 : Effet de la fragmentation sur les écosystèmes (Haddad <i>et al.</i> 2015).....	4
Figure 3 : Effets retardés de la fragmentation sur la dégradation des écosystèmes (Haddad <i>et al.</i> 2015)	5
Figure 4 : Fragmentation des paysages en Europe (European Environment Agency & Schweiz 2011).....	6
Figure 5 : Cartes (a) du réseau routier et (b) de la pollution lumineuse.....	8
Figure 6 : Projection de l'évolution du réseau routier au niveau mondial.....	9
Figure 7 : De janvier à décembre : Hibernation – Activité croissante – Gîte de parturition, naissance des jeunes (mai/juin) et émancipation (envol des jeunes) (juillet/aout) – Accouplement et site d'essaimage – Hibernation (Mitchell-Jones & English Nature (Agency) 2004).....	10
Tableau 1 : Nombre de cadavres de chauves-souris retrouvés par espèce dans différentes études européenne (Fensome & Mathews 2016)	13
Figure 8 : Exemple domaines vitaux du Grand rhinolophe d'une colonie en Charente-Maritime estimés par la méthode de Kernel. Le trait noir en gras est l'autoroute A10. [Pinaud in (Leuchtman 2018)].....	15
Figure 9 : Impacts spatio-temporels des routes sur les chauves-souris. En italique : lors de la phase de construction de route, souligné : lors de la phase de mise en service, italique et souligné : les deux phases	17
Figure 10 : Étapes de la séquence "Éviter, Réduire et Compenser" (Regnery <i>et al.</i> 2013)	19

Tableau 2 : Méthodes pouvant être mises en œuvre pour l'évaluation des enjeux pour les chauves-souris dans le cadre des dossiers réglementaires concernant les projets routiers. Le coût ici présenté prend compte une seule répétition de la méthode employée et sur une journée, le matériel (sans amortissement) et la main d'œuvre et est également dépendant du type de matériel utilisé; très faible (<500 €), faible (< 1000 €), moyen (< 5000€), fort (<15 000 €), très fort (>15 000 €).	20
Tableau 3 : Principaux avantages et inconvénients des méthodes pouvant être mises en œuvre	21
Figure 11 : Apport des écoutes acoustiques des chauves-souris dans les dossiers réglementaires	21
Tableau 4 : Sources des informations utilisées par aménageurs/gestionnaires/bureaux dans une région au Royaume-Uni : "Broadland" (Sutherland <i>et al.</i> 2004)	26
Figure 12 : Exemple d'éléments des TVB : réservoirs de biodiversité et types de corridors (Allag-Dhuisme <i>et al.</i> 2010).....	27
Figure 13 : Schéma expliquant comment l'activité des chauves-souris peut être influencée par plusieurs paramètres. *, biais pouvant être supprimés lors d'enregistrements simultanés	37
Figure 14 : Différences entre l'utilisation d'un capteur et un observateur concernant la récolte de données sur le terrain.....	38
Figure 15 : Processus depuis la capture des signaux jusqu'au traitement	40
Figure 16 : Les lignes pointillées horizontales montrent les seuils de risque utilisés (0,5 et 0,9) et les lignes pleines verticales, les scores aux seuils de confiance Chaque cercle ouvert représente une séquence de chauve-souris prenant une valeur de probabilité de réussite d'identification de 1 lorsqu'il est correctement identifié et 0 si mal identifié.....	45
Figure 17 : Probabilité de franchissement d'une trouée en fonction de sa largeur. Les points verts réfèrent aux observations (un point par trouée, 0 : pas de franchissement ; 1 :	

franchissement). La ligne verte montre la modélisation de cette probabilité avec son intervalle de confiance à 95 %	47
Figure 18 : Matrice de perméabilité (à gauche) et carte du coût cumulé de déplacement à partir de la colonie (à droite). Les points noirs donnent les localisations des femelles suivies en radiopistage. Les points verts/oranges la présence / l'absence de Grands rhinolophes lors d'enregistrements acoustiques passifs.....	47
Figure 19 : Schéma illustrant l'hypothèse de travail de l'article 3.....	113
Figure 20 : Schéma illustrant l'hypothèse de travail de la synthèse 1	114
Figure 21 : Modèle mixte additif généralisé (GAMM) pour le Petit rhinolophe négativement impactés.....	116
Figure 22 : Cartes des surfaces impactées par les autoroutes en Union européenne (28 pays) dont nous disposons les données autoroutières datant de 2005. Les données Natura 2000 datent de 2017	117
Figure 23 : Barrière génétique (trait bleu) qui correspond au tracé de la nationale 2.....	118
Figure 24 : Petit rhinolophe (photo : Jason Crebassa)	177
Figure 25 : Plan d'échantillonnage recherché pour évaluer l'effet des autoroutes sur les mouvements d'individus.....	178
Figure 26 : Les points jaunes à l'intérieur du cercle orange correspondent aux colonies de notre plan d'échantillonnage : O_1788 (A, Fig. 25), M_1975 (C, à 6,5 km, Fig. 25), O_2806 (B, à 6,7 km, Fig. 25), P_1312 et P_1593 (colonies secondaires). Les points jaunes à l'extérieur du cercle orange (M_1979 et M_1106) correspondent à des colonies échantillonnées dans le cadre de la thèse de Pierre-Loup Jan en 2016. Les points oranges correspondent à des colonies de Petit rhinolophe connues mais non échantillonnées. La ligne épaisse blanche bordée de noir correspond à la 2X2 voies contigüe (N2).....	180

Figure 27: Isolement par la distance des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Chaque point représente la distance génétique et géographique d'une paire de colonies. Les paires de colonies se trouvant du même côté de la route sont représentées en bleu, et les paires de colonies séparées par la nationale sont représentées en rouge 186

Figure 28: Algorithme de Monmonier sous adegenet des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. A : Distance génétique et seuil choisi. B: Emplacement relatif des cinq colonies et de la barrière déterminée par l'algorithme (en bleu). Les lignes noires représentent les liens entre les colonies considérées comme voisines..... 186

Figure 29 : Algorithme de Monmonier sous barrier 2.2 des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Les lignes vertes représentent les liens entre les colonies considérées comme voisines (voir figure 26 pour la correspondance entre les numéros et les noms des colonies). Les lignes rouges représentent les séparations considérées comme des barrières potentielles par l'algorithme, et leurs épaisseurs dépend du nombre de bootstrap considérant cette séparation comme une barrière. Le nombre de bootstrap considérant une séparation comme une barrière est représenté en orange 187

Figure 30 : ACPD des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. L'axe des abscisses discrimine les colonies se trouvant de chaque côté de la route..... 187

Figure 31 : Populations assignées par l'ACPD pour chaque individu des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situées au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord. Un brassage fort impliquerait que toutes les populations assignés serait présentes de manière équivalente dans chaque population échantillonnées, alors qu'une séparation totale le long de la nationale impliquerait que seule les populations rouges serait représentés dans les trois

premières populations, et que seule les individus échantillonnés dans les deux dernières populations serait uniquement assignés dans des populations bleues..... 188

Figure 32 : Isolement par la distance des sept colonies échantillonnées en 2016. Chaque point représente la distance génétique et géographique d'une paire de colonies ; Les paires de colonies se trouvant du même côté de la route sont représentées en bleu, et les paires de colonies séparées par la nationale sont représentées en rouge 190

Figure 33 : Algorithme de Monmonier sous adegenet des sept colonies échantillonnées en 2016. A : Distance génétique et seuil choisi. B: Emplacement relatif des cinq colonies et de la barrière déterminée par l'algorithme (en bleu). Les lignes noires représentent les lien entre les colonies considérées comme voisines 190

Figure 34 : Algorithme de Monmonier sous barrier 2.2 des sept colonies échantillonnées en 2016. Les lignes vertes représentent les liens entre les colonies considérées comme voisines (voir figure 26 pour la correspondance entre les numéros et les noms des colonies). Les lignes rouges représentent les séparations considérées comme des barrières potentielles par l'algorithme, et leur épaisseur dépend du nombre de bootstraps considérant cette séparation comme une barrière. Le nombre de bootstrap considérant une séparation comme une barrière est représenté en orange 191

Figure 35 : ACPD des sept colonies échantillonnées en 2016. L'axe des abscisses discrimine les colonies se trouvant de chaque côté de la route..... 191

Figure 36 : Populations assignés par l'ACPD pour chaque individu des sept colonies échantillonnées en 2016. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situées au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord 192

Figure 37 : Localisation des enfants assignés aux mères des différentes populations échantillonnées pour les 5 colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situés au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord.....	193
Figure 38 : Localisation des enfants assignés aux mères des différentes populations échantillonnées pour les 7 colonies échantillonnées en 2016. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situées au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord.....	194
Figure 39 : Relations entre mesures ERC et impacts sur les chauves-souris (c.-à-d., phase de réduction des impacts et de leur évaluation)	202
Figure 40 : A. Position des microphones : le canal gauche (micro 1) face à l'infrastructure de transport (ILT) et le canal droit (micro 2) face à habitat et perpendiculaire à l'ILT. B. Calcul de la différence du temps d'arrivée du cri (TDOA). C. Nous définissons un franchissement lorsqu'une chauve-souris qui est entrée sur la route d'un côté a été détectée en sortant de l'ILT	205
Figure 41 : Trajectoire de chauves-souris (ligne orange) avant la pose du chiroptéroduct.....	208
Figure 42 : Trajectoire de chauves-souris (ligne orange) après la pose du chiroptéroduct.....	208
Figure 43 : Nombre de franchissements de chauves-souris par nuit (données brutes) par paires d'enregistreurs acoustiques et par ouvrage dédié. Les types d'habitat (A, terres agricoles, F, forêts, H, haies, S, cours d'eau, CR, corridor) sont spécifiés sous la lettre de chaque paire d'enregistreur. Les franchissements de chauves-souris au niveau de l'ouvrage dédié ont été	

utilisés comme référence (c-a-d, intercepte) dans chaque modèle (***, $P < 0,001$; **, $P < 0,01$; *, $P < 0,05$).....	209
Tableau 5 : Estimation, erreur-standard et p-value du nombre de franchissements de chauves-souris au contrôle et au traitement avant et après pose de l'ouvrage dédié. Le contrôle et la période après sont dans l'intercepte du modèle.	210
Figure 44 : Exemple d'une chauve-souris volant à risque de collision	212
Figure 45 : Point de suivi "approche"	278
Figure 46 : Point de suivi "centré sur la route"	278
Figure 47 : Étapes des scripts de programmation du Bat Tracking Toolbox	280
Figure 48 : Trajectoire de chauves-souris avant la pose du chiroptéroduct	281
Figure 49 : Trajectoire de chauves-souris après la pose du chiroptéroduct	281
Tableau 6 : Bat Tracking Toolbox (BTT) vs utilisateur.....	281
Figure 50 : Relation entre nombre de chauves-souris détectées par rapport au "bruit de fond"	282
Figure 51 : Relation entre le taux de chauves-souris et de bruit retrouvé par rapport au seuil n-1 (c-a-d, par rapport au score/probabilité précédent)	282

RESUME

Les infrastructures linéaires de transports (ILT), dont les routes, sont une des principales causes du déclin de la biodiversité. Bien que les évaluations environnementales permettent de limiter ce déclin, la séquence "Eviter, Réduire et Compenser" les impacts peine à s'appliquer pleinement. En effet, la séquence ERC fait bien souvent appel à des données qualitatives en oubliant les processus biologiques et/ou écologiques et leur échelle spatio-temporelle. L'impact des routes est globalement bien documenté pour plusieurs groupes biologiques, hormis pour les chauves-souris, pourtant susceptibles d'être très fortement affectées. Par ailleurs, leur protection stricte nécessite leur prise en compte dans la séquence ERC. Pour étudier l'impact des routes, et notamment des autoroutes, je me suis concentré sur l'étude des chauves-souris afin de mesurer et quantifier leur magnitude. Pour cela, différentes méthodes développées et réutilisables par les différents acteurs de terrain seront présentées. Ainsi, dans un premier temps, je me suis intéressé à une méthode de traitement des données issues d'écoutes acoustiques et à une méthode de valorisation. Dans un second temps, nous avons appliqué ces méthodes afin (i) de connaître quels étaient les impacts des routes sur les populations de chauves-souris et (ii) afin d'évaluer l'efficacité des mesures de réductions engagées pour réduire ces impacts. Nos principaux résultats montrent que les autoroutes ont un impact négatif significatif sur l'activité de chasse et de transit pour plusieurs espèces de chauves-souris jusqu'à au moins cinq kilomètres de distance à une autoroute. De plus, l'effet des autoroutes semblerait également avoir des conséquences sur la génétique des populations. Enfin, nous avons étudié les chiroptéroducts, ouvrages dédiés aux chauves-souris visant à réduire ces impacts par l'amélioration des connectivités écologiques. Ce type d'ouvrage dédié semble être approprié lorsqu'il est situé dans des corridors écologiques fins tels que les haies.

ABSTRACT

Biodiversity is being lost at an increased rate as a result of human activities. One of the major threats to biodiversity is infrastructural development. Although the measures taken in environmental impact assessments can limit this loss, the mitigation hierarchy to "Avoid, Reduce and Offset" impacts on biodiversity is not fully functional. Indeed, the mitigation hierarchy often uses qualitative data and does not account for the biological and/or ecological processes and their different spatial and temporal scales. The impact of roads is well documented for several biological groups but not for bats whereas they are likely to be very strongly affected. Moreover, as they are strictly protected, they should be considered in the mitigation hierarchy. Therefore, through the study of bats, I investigated the effects of roads, especially major roads, and intended to measure and quantify the magnitude of their impacts. This thesis presents different methods developed to reach this objective and which may be used by stakeholders in the field. First, I intended to determine how to process data collected through passive acoustic monitoring and how to exploit these data. Then I determined what the impacts of roads on bat populations are and I proposed a method in order to assess the mitigation measures which presume to restore bat habitat connectivity. Our main results show a significant negative effect of roads on bats foraging and commuting behaviour for several species and up to at least five kilometres away from a major road. In addition, the effect of major roads also seems to have consequences on populations' genetics. Finally, we studied bat overpasses which are structures specifically dedicated to bats and aiming at reducing the impacts of roads by improving bats' habitat connectivity. These structures seem to be appropriate when located in narrow ecological corridors such as hedgerows.

REMERCIEMENTS

Mes premiers remerciements vont aux membres du jury : **Jean-Louis Martin**, **Denis François** et **Clélia Sirami**. Merci à vous d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse. Mais également à tous les membres de mes comités de thèse scientifiques et techniques qui m'ont permis d'avancer au cours de cette thèse : **Françoise Burel**, **Jean-Christophe Foltête**, **David Pinaud**, **Yves Bas**, **Romain Sordello** et **Cédric Heurtebise**.

Ils se dirigent ensuite vers la personne qui m'a offert la possibilité de faire une thèse alors que la recherche m'était étrangère : **Christian Kerbiriou**. Merci à toi pour cet apprentissage, ton temps, ton soutien et ton optimisme. Cette thèse n'aurait pu évidemment se faire sans financements et je remercie également **Benjamin Allegrini** de m'avoir pris au sein de Naturalia environnement. Merci pour ta confiance tout au long de ses trois années, pour ta droiture et les moyens mobilisés. Merci également à **Sébastien Puechmaille** d'avoir accepté de donner une autre dimension à cette thèse et pour ton encadrement. Enfin, je tiens à remercier une personne qui a été un élément clé de réussite dans cette thèse : **Nathalie Machon**. Les mots sont faibles pour exprimer ma reconnaissance, je resterai sobre : Merci. Merci à vous quatre pour votre soutien tout au long de ces trois années.

Merci aux nombreuses personnes venant de divers horizons et avec qui j'ai pu collaborer durant ma thèse : **David Pinaud** (CEBC/CNRS-Chizé), **Maxime Leutemann** (Nature environnement 17), **Mélanie Higoa** (FRAPNA-Loire), **Jean-François Drevet** (Bouygues construction), **Cédric Heurtebise** et **Philippe Chavaren** (VINCI autoroutes), **Éric Petit** (INRA), **Lucie Dutour** (Picardie nature), **Laure Pinel** (Bretagne vivante), **Romain Lahaye** (Bretagne vivante & SHNA), **Alexandre Cartier** (SHNA), **Natacha Griffaut** (LPO-Touraine) et **Marek Banasiak** (CPIE Vallées de la Sarthe et du Loir). Sans vous, les objectifs initiaux de la thèse n'auraient pu être réalisés.

Merci aux stagiaires ou apprentis qui ont apporté leur pierre à cet édifice : **Florian Turpin**, **Guilhem Battistela** et **Layla Adil**. Et en particulier un grand merci à vous : **Flavien Charton** et **Cédric Braga** qui avez énormément apporté dans le développement de l'outil de détection automatique de trajectoires de chauves-souris à partir d'images thermiques. La biologie de la conservation a besoin de personnes comme vous ! Merci à toi **Pierre-Loup Jan** d'avoir également apporté ta pierre à l'édifice concernant l'axe génétique de ma thèse.

Merci à l'ensemble de l'équipe non officielle chauves-souris du labo, pour tous ces bons moments partagés ensemble. Merci à toi **Julie Marmet**, pour ton écoute et tes précieux conseils. Merci à toi **Jean-François Julien**, pour ton infini partage de connaissances et tes digressions plus intéressantes les unes que les autres. Merci à toi **Yves Bas**, pour ta patience, ton indulgence, et tes compétences qui ont permis de rendre ces travaux de thèse d'une

meilleure qualité. Bien évidemment, cette équipe chiro n'aurait pas eu le même goût sans **Isabelle Le Viol** pour son optimisme et aux doctorants d'avoir enrichi l'équipe : **Julie Pauwels**, **Charlotte Roemer**, **Kévin Barré** et **Clémentine Azam**. Merci à vous pour votre partage, votre aide et vos compétences sans égal qui m'ont permis de réaliser cette thèse.

Merci à l'ensemble des collègues de **Naturalia environnement** et notamment **Pierre Jorcin** pour tes compétences indéniables en SIG qui m'ont beaucoup aidé, **Candice Huet** pour les aspects réglementaires et nos échanges, **Célia Lhérondel**, **Corentin Jehanno** et **Lénaïc Roussel** pour nos échanges sur les chauves-souris.

Merci à tous les membres du **CESCO** et spécialement aux occupants du célèbre bureau Coquelicot. Merci à **Gabrielle** et **Ana-Cristina** pour votre gentillesse et votre extrême douceur et à **Typhaine** pour ton soutien, nos échanges et nos moments les plus sincères. Merci à vous : **Margot**, **Anyà**, **Mona** et **Simon** d'avoir également égayé ce bureau. Merci aux autres doctorants notamment ceux qui m'ont aidé dans différentes analyses notamment **Élie** et **Charles**. Mais également merci à toi **Adrienne** pour ton inconditionnelle passion pour les ours, ta gentillesse et de m'avoir offert un toit à plusieurs reprises.

Cette thèse n'aurait guère pu se réaliser sans le soutien de mes plus proches et fidèles amis qui ont su me soutenir dans mes choix en toutes circonstances et ce, depuis toujours. Je pense particulièrement à toi **Pauline**, mais aussi : **Jonathan**, **Louis**, **Fred**, **Jean-Christophe**, **Anthony** et **Fabien**. Mais également une pensée pour vous : **Roxane**, **Dylan**, **Vincent**, **Florent**, **Maxime**, **Sylvain**, **Aurélie**, **Matthieu** et à **Guillaume** pour la magnifique vue sur le lac ! Merci aussi à mes anciennes collègues de travail : **Myriam** et **Laurette**. Merci aux anciens du master IEGB et amis naturalistes avec qui j'ai beaucoup appris : **Jason**, **Justine**, **Lola**, **Loïc**, **Emilien**, **Jérémy**, **Cassandra**, **Sofia**, **Elise**, **Aude**, **Lucie** et pardon pour tous ceux que j'ai oublié ! Et ce paragraphe ne peut se finir sans remercier ceux avec qui j'ai eu plaisir de jouer au baseball : **les Patriots de Paris**.

Je tiens également à remercier ma **famille** d'avoir été présente au quotidien et de m'avoir toujours soutenu, bien que je ne sois pas sûr vous ayez toujours bien compris ce que je faisais. Je pense d'abord à toi mon **frère** où par nos sorties nocturnes tu as su me faire sortir la tête de la thèse et de pouvoir décompresser (vive la *hungry music* !). Merci également à toi **Maman** d'avoir été présente tout au long de mon cursus académique, professionnel et privé, pour ton écoute et ton soutien.

Enfin, je tiens à remercier deux personnes qui me sont très chères et qui, malheureusement, ne pourront jamais lire ces dernières lignes. Merci à toi **Papi** de m'avoir fait découvrir le goût de la nature, d'avoir cru en moi et de m'avoir toujours soutenu. Enfin, merci à toi **Papa**, pour ton soutien à tous niveaux et d'avoir cru en moi. Tu m'as appris à ne jamais abandonner un combat et que même à genoux, qu'il faut toujours y croire. Cette thèse, elle est pour moi mais également pour toi, j'espère que tu en serais fier.

AVANT-PROPOS

" A thing is right when it tends to preserve the integrity, stability and beauty of the biotic community. It is wrong when it tends otherwise. "

Aldo Leopold

(A Sand County Almanac, and Sketches Here and There, 1948)

Les projets d'aménagement ont un impact notable sur les écosystèmes, et, bien que la séquence Éviter, Réduire et Compenser les impacts des aménagements sur l'environnement de la loi de protection de la nature de 1976 est de mieux en mieux appliquée, elle est toujours en peine d'être réalisée pleinement. On pourrait également croire que les infrastructures linéaires de transports ont atteint leur plein essor dans les pays développés comme la France mais, des projets récents ont vu le jour et d'autres verront encore le jour. La question qui se pose actuellement est donc de savoir comment compenser ou réduire les impacts qui n'ont pas été traités pour les projets d'infrastructures de transports actuellement en service.

En France, suite au Grenelle de l'environnement, une enveloppe budgétaire d'un milliard d'euros nommé "Paquet vert" a été concédée à cinq sociétés d'autoroutes afin d'améliorer les performances environnementales de leur réseau. La requalification et la modernisation des infrastructures linéaires de transports est donc l'occasion idéale pour réduire leur effet sur la biodiversité. Parmi ces concessions, Autoroutes du Sud de la France (ASF, VINCI-Autoroutes) a senti le besoin d'avoir des retours d'expériences basés sur des protocoles scientifiques de suivi d'efficacité de mesures de réductions des impacts et notamment pour les chauves-souris. Le concessionnaire s'est alors rapproché du bureau d'études Naturalia environnement qui à son tour s'est rapproché du Centre d'Écologie et des Sciences de la

Conservation (MNHN) et de l'Institut de Zoologie et Muséum (Université de Greifswald) pour ainsi m'offrir l'opportunité de monter un projet de thèse allant dans ce sens. Par ailleurs, d'autres laboratoires de recherches et associations agréées protection de la nature ont rejoint l'aventure.

Ce rapprochement entre toutes ces structures aux horizons très variés n'est pas anodin. En effet, cette thèse s'inscrit dans un contexte particulier où le transfert et le partage de connaissances entre les sphères académique et appliquée sont plus que nécessaires pour pallier à l'érosion de la biodiversité. La nécessité d'avoir des retours concrets scientifiques et applicables est alors essentiel pour faire de la séquence ERC le modèle à suivre.

L'application de la séquence ERC s'appuie souvent sur des retours d'expériences. Seulement, si ces retours sont insuffisants, il est difficile de proposer des mesures concrètes d'évitement, de réduction ou de compensation des impacts. La recherche scientifique permet alors de palier à ces insuffisances.

Dans cette thèse, je me suis efforcé de développer et de participer à la mise en place de nouveaux outils méthodologiques réutilisables par le monde appliqué et académique (en particulier par les chiroptérologues). Ces développements méthodologiques se sont déroulés autour de plusieurs questions de recherche que j'ai mené avec mon équipe pour apporter, le plus modestement possible, ma pierre à l'édifice face à l'urgence.

INTRODUCTION GENERALE

1. L'ÉROSION DE LA BIODIVERSITÉ ET LES INFRASTRUCTURES LINÉAIRES DE TRANSPORTS

1.1. L'ÉROSION DE LA BIODIVERSITÉ

L'érosion de la biodiversité est un enjeu qui a été identifié lors de la Convention sur la Diversité Biologique de 1992. De récentes publications démontrent que cette érosion est toujours d'actualité : nous sommes dans une situation globale de perte de biodiversité (Régnier *et al.* 2015; Ceballos, Ehrlich & Dirzo 2017).

La perte de biodiversité est telle, qu'elle est qualifiée de sixième crise d'extinction de biodiversité et est due à l'Homme et son développement (Barnosky *et al.* 2011). Par ailleurs, cette crise d'extinction est significativement différente des cinq premières car celles-ci avaient pour origine des catastrophes géologiques ou astrologiques (Raup 1986). Cette érosion provoque, aujourd'hui, de graves conséquences écologiques. En effet, les espèces s'éteignent à un rythme 100 à 1 000 fois le taux normal d'extinction (Chivian & Bernstein 2010). C'est donc le travail de millions d'années d'évolution qui est en jeu mais également la stabilité de nos systèmes alimentaires, de notre économie et de notre santé qui dépendent de multiples façons de la stabilité de nos écosystèmes (Young *et al.* 2016).

Les causes de cette perte de biodiversité sont principalement : le prélèvement d'individus et la surexploitation, la perte d'habitat et ses modifications (dont la fragmentation des habitats), les invasions biologiques et les maladies, la pollution et le changement climatique (Maxwell *et al.* 2016; Young *et al.* 2016).

1.2. LA FRAGMENTATION DES HABITATS

La fragmentation des habitats se définit comme un processus au cours duquel un habitat est divisé en fragments plus petits (c.-à-d., patches), isolés et noyés dans une matrice plus ou moins hostile (Fig. 1) (Wilcove, McLellan & Dobson 1986; Fahrig 2003; Geneletti 2006).

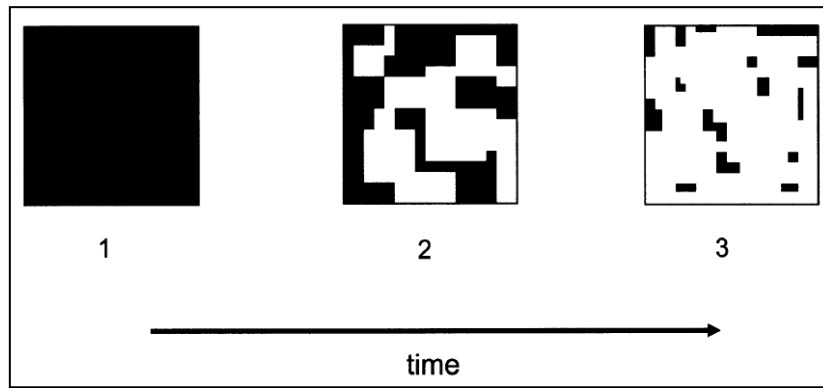


Figure 1 : Processus de fragmentation d'un habitat.
Les surfaces noires représentent l'habitat et les surfaces blanches la matrice

Le processus de la fragmentation d'un habitat est synonyme de plusieurs effets : (i) réduction de la quantité d'habitat, (ii) l'augmentation du nombre de patches, (iii) la diminution de la taille des patches, (iv) l'isolement des patches, (v) les effets de lisière et (vi) la rupture entre les patches d'habitats (Fahrig 2003; Haddad *et al.* 2015).

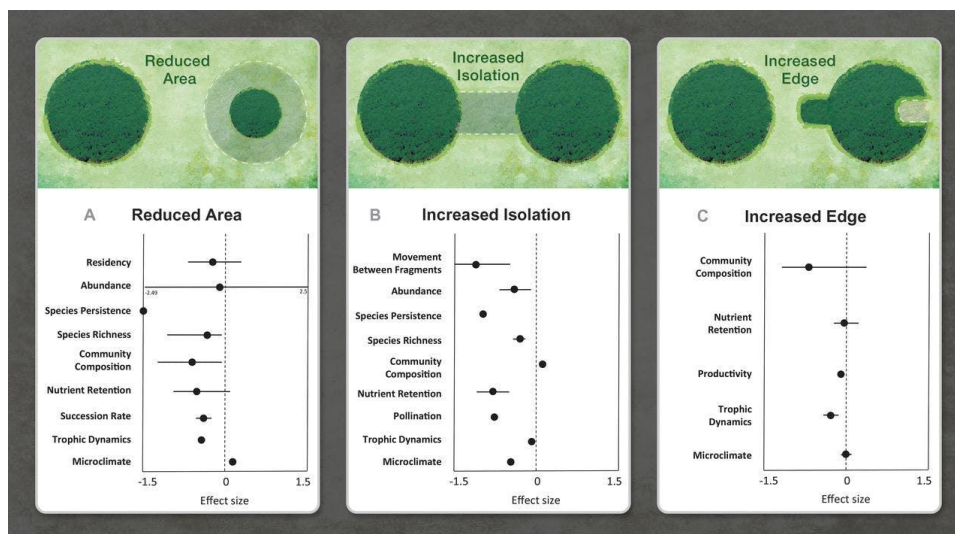


Figure 2 : Effet de la fragmentation sur les écosystèmes (Haddad *et al.* 2015)

Les effets de la fragmentation sur la biodiversité (Fig. 2) induisent une faible disponibilité en habitat et donc limitent le nombre total d'individus (abondance totale) (Srivastava & Lawton 1998; Evans, Warren & Gaston 2005). La limitation du nombre d'individus limite à son tour le nombre d'espèces pouvant avoir des populations viables dans ces patches (Gaston 2000). De plus, cette réduction des surfaces d'habitat et du nombre d'individus peut amplifier les problèmes génétiques dans les petites populations, d'autant plus si celles-ci ne sont plus

connectées à d'autres populations (Young, Boyle & Brown 1996; Dixo *et al.* 2009). La fragmentation limite également les capacités de déplacement des espèces, ce qui peut menacer leur survie. Par exemple, chez les mammifères terrestres, la fragmentation des habitats limite la migration, la dispersion, les zones de chasse et leur reproduction (Tucker *et al.* 2018).

Ainsi, la fragmentation dégrade les écosystèmes, isole les habitats, empêche les mouvements d'individus, réduit la persistance des espèces, la richesse spécifique, la rétention des nutriments et la dynamique des réseaux trophiques.

Cela entraîne aussi des conséquences au niveau génétique et dans des fragments plus isolés : une réduction de la viabilité des populations à long terme (Opdam *et al.* 1993; Andrén 1994; Forman 2000; Seiler 2003; Slootweg & Kolhoff 2003; Haddad *et al.* 2015).

Haddad *et al.* (2015) soulignent également les effets progressifs et à long terme de la fragmentation tels que : la dette d'extinction dans les patchs [c.-à-d., perte retardée d'espèces due à la fragmentation (Tilman *et al.* 1994)], le retard de l'immigration (flux d'individus) dans les plus petits fragments ou isolés et une dette de fonction écosystémique en raison d'une perte de biodiversité, de la simplification du réseau trophique et de la modification des conditions abiotiques (Fig. 3).

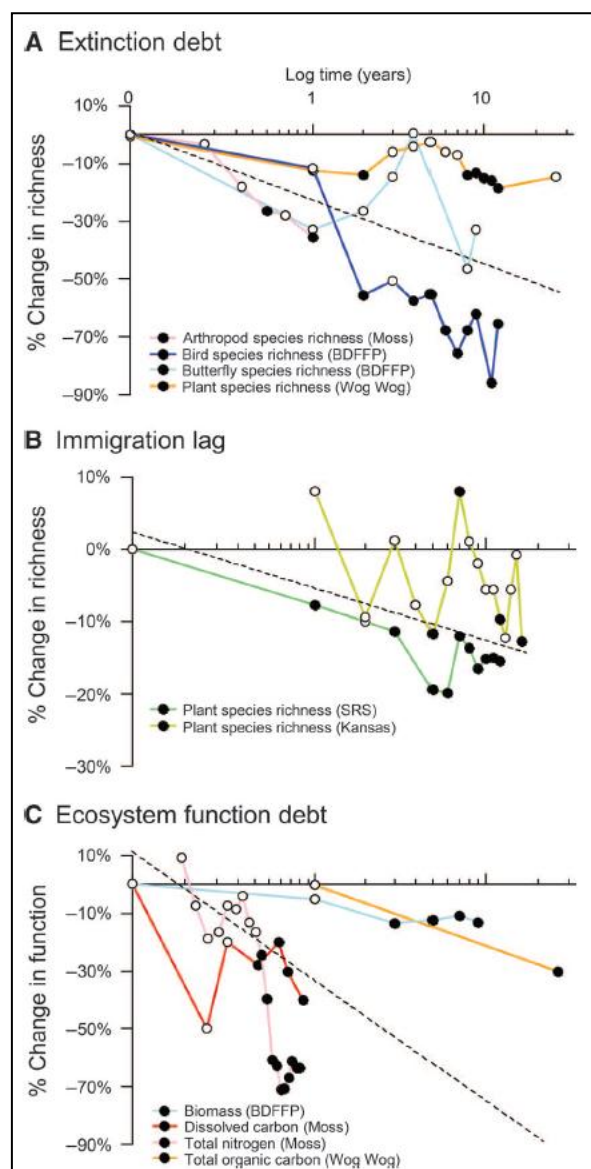


Figure 3 : Effets retardés de la fragmentation sur la dégradation des écosystèmes (Haddad *et al.* 2015)

1.3. ROLE DES INFRASTRUCTURES LINEAIRES DE TRANSPORTS DANS LA FRAGMENTATION DES HABITATS ET L'EROSION DE LA BIODIVERSITE

Les infrastructures linéaires de transports (ILT) (ex. : routes, voies ferrées...) participent de façon significative à la perte et à la fragmentation des habitats naturels au même titre que les grandes barrières naturelles (ex. : montagnes, lacs, fleuves) (European Environment Agency & Schweiz 2011). L'Europe est probablement le continent le plus fragmenté par les ILT (Fig. 4) (Selva *et al.* 2011) et la France se situe parmi les premiers au niveau européen en terme de longueur de réseau et de densité par million d'habitant (MEEM 2017). Ainsi, on peut s'attendre à des écosystèmes très dégradés en Europe et en France. Il est donc nécessaire de trouver des solutions pouvant réduire les effets négatifs des ILT sur la biodiversité contribuant à ce processus de fragmentation.

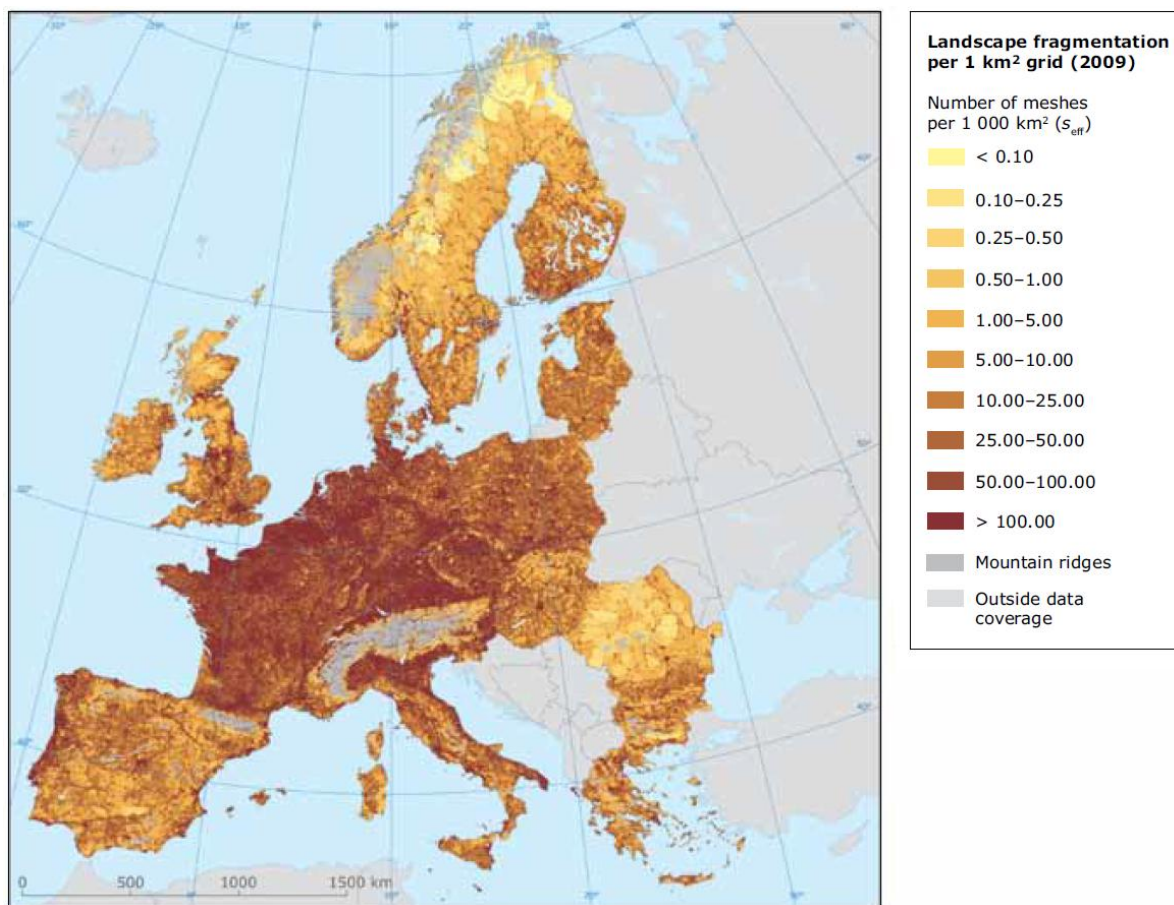


Figure 4 : Fragmentation des paysages en Europe (European Environment Agency & Schweiz 2011)

Bien que les impacts des ILT sur la biodiversité soient principalement assimilés à la notion de perte et de fragmentation d'habitat, les ILT contribuent également aux quatre autres principales causes de la perte globale de biodiversité :

- le prélèvement d'individus peut être assimilé à la destruction des individus en phase de construction (Trombulak & Frissell 2000) et à la mortalité induite par les collisions routières en phase d'exploitation (Forman & Alexander 1998). Par ailleurs, les ILT participent également à la surexploitation des ressources par l'extension du réseau routier menant aux industries d'extraction (bois, minéraux...) (van der Ree, Smith & Grilo 2015) ;
- les invasions biologiques sont favorisées par les dépendances vertes liées aux ILT, qui constituent des continuités écologiques (c.-à-d., corridors), et qui peuvent faciliter la propagation des espèces envahissantes en perturbant les communautés autochtones et en modifiant les habitats physiques (Trombulak & Frissell 2000; Brown et al. 2006; van der Ree, Smith & Grilo 2015).
- les ILT sont également sources de plusieurs pollutions :
 - elles sont par exemple la première cause de pollution atmosphérique par l'oxyde d'azote (NO_x) (CITEPA, 2015). Par ailleurs, elles participent principalement à la pollution des eaux de ruissellement en altérant la composition chimique des sols, qui sont absorbées par les plantes et affectent les écosystèmes des cours d'eau. En effet, le sel de dégivrage et les métaux lourds sont les deux principaux polluants (Forman & Alexander 1998; Trombulak & Frissell 2000; van der Ree, Smith & Grilo 2015), bien que la réglementation actuelle sur l'environnement a permis une réduction de 61 à 81 % des émissions françaises de métaux lourds entre 2000 et 2016 (CITEPA, 2017).
 - les ILT contribuent à la pollution lumineuse qui est principalement induite par l'éclairage artificiel nocturne mis en place le long des voies routières interurbaines

(ex. : autoroutes, nationales), urbaines (ex. : boulevards, avenues, roades) et rurales (ex. : voies d'accès, ronds-points, rues principales) et/ou par les phares des véhicules. Bien que la pollution lumineuse soit intrinsèquement liée aux zones urbaines et aux réseaux routiers et autoroutiers, elle se propage au-delà des surfaces imperméabilisées et affecte une part significative des écosystèmes environnants (Davies *et al.* 2014; Gaston, Duffy & Bennie 2015; Azam *et al.* 2016). Ainsi les ILT contribuent à la perturbation des rythmes circadiens et saisonniers des espèces et amplifient le phénomène qui leur est intrinsèquement lié, c'est-à-dire, la perte et la fragmentation des paysages nocturnes (Fig. 5) (Perkin *et al.* 2011; Stone, Harris & Jones 2014; Da Silva, Valcu & Kempenaers 2015; Raap, Pinxten & Eens 2015).

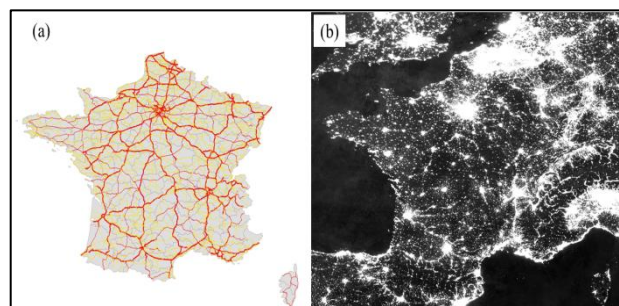


Figure 5 : Cartes (a) du réseau routier et (b) de la pollution lumineuse

- les ILT sont également source de pollutions sonores réduisant ainsi la richesse et la diversité des espèces sensibles plus l'on s'approche des routes (Rheindt 2003).
- les ILT participent grandement au changement climatique par les émissions de gaz à effet de serre (CO₂) (Chapman 2007) qui, combiné à la fragmentation, rend les écosystèmes plus sensibles (Selva *et al.* 2011).

2. ÉVOLUTION D'UN TYPE D'INFRASTRUCTURES LINEAIRES DE TRANSPORTS : LES ROUTES

2.1. CONTEXTE

Les Nations Unies (2014) estiment un accroissement de la population mondiale à plus de 2,5 milliards de personnes dans les villes d'ici 2050. Cet accroissement donne ainsi lieu à l'augmentation des surfaces en logements et des constructions attenantes telles que les routes (Foley 2005). En France, l'augmentation des surfaces artificialisées est de 8,4 à 9,4 % par an (MEEM 2016) et ce, aux dépens des espaces agricoles et forestiers.

Les futurs projets routiers en France sont ceux qui visent à répondre à une problématique de mobilité ou d'organisation des déplacements, nouvelle ou non, à laquelle le système de transport existant ne peut répondre de manière satisfaisante, même mieux exploité ou modernisé (DGITM 2011). Les principaux projets routiers menés par l'État sont inscrits dans le Schéma National des Infrastructures de Transport (SNIT).

2.2. ÉVOLUTION DU RESEAU ROUTIER

Selon l'agence internationale de l'énergie, les routes au niveau mondial devraient augmenter de près de 25 millions de kilomètres d'ici 2050 (Dulac 2013) (Fig. 6).

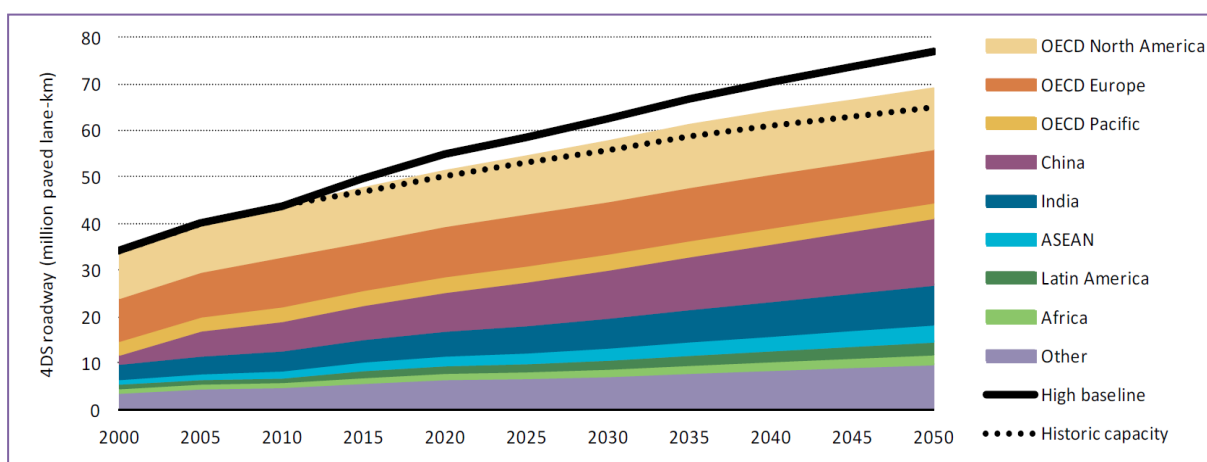


Figure 6 : Projection de l'évolution du réseau routier au niveau mondial

En France, le réseau routier en 2015 est de 1 million de kilomètres dont 21 232 km pour les axes principaux (autoroutes et nationales) et représente un accroissement de 12 % au total et de 40 % pour les axes principaux entre 1995 et 2015 mais, tend désormais à se stabiliser (MEEM 2017). En effet, d'après le SNIT, 673 km de réseau principaux sont prévus d'être réalisés d'ici 2030 soit 0,06 % des axes principaux actuels.

3. LES CHAUVES-SOURIS : UN TAXON PROBABLEMENT TRES AFFECTE PAR LA FRAGMENTATION OCCASIONNEE PAR LES ROUTES

3.1. LES POTENTIELS IMPACTS

Les chauves-souris ont un cycle de vie complexe et utilisent plusieurs gîtes en fonction des saisons (Fig. 7) (Mitchell-Jones & English Nature (Agency) 2004).

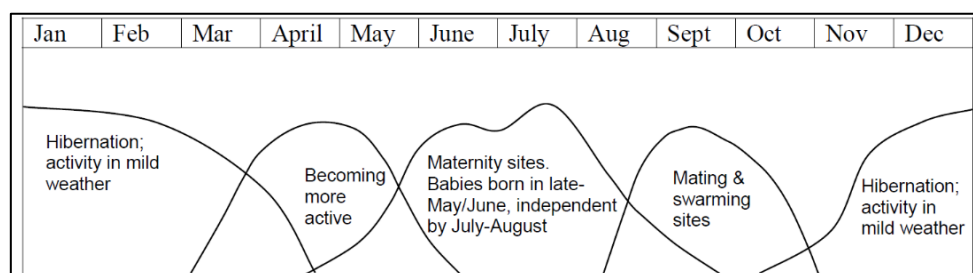


Figure 7 : De janvier à décembre : Hibernation – Activité croissante – Gîte de parturition, naissance des jeunes (mai/juin) et émancipation (envol des jeunes) (juillet/aout) – Accouplement et site d'essaimage – Hibernation (Mitchell-Jones & English Nature (Agency) 2004)

La saison la plus cruciale est certainement celle du printemps jusqu'à la fin de l'été. En effet, à la sortie de l'hiver, les femelles regagnent leur gîte auquel elles sont fidèles pour mettre bas et élever leur jeune (Lewis 1995). Les mâles, quant à eux et chez la majorité des espèces, ne participent pas aux soins parentaux et adoptent un mode de vie solitaire ou en groupe de quelques individus et utilisent des gîtes de transit (Senior, Butlin & Altringham 2005; Safi 2008).

De par leur capacité de vol qui se limite à moins de 5 m de hauteur du sol pour 85 % des espèces (Fensome & Mathews 2016), les chauves-souris sont sujettes à un fort risque de

collisions routières (Berthinussen & Altringham 2012b). De plus, de par leur capacité de déplacement pour aller chasser et leur capacité de migration pour changer de gîtes (c.-à-d., jusqu'à des dizaines de kilomètres), elles ont de très grandes probabilités d'être confrontées quotidiennement et/ou ponctuellement aux routes. Ainsi, on s'attend à ce qu'elles évitent les routes au regard d'un fort risque de collision.

Par ailleurs, les routes pourraient avoir des effets négatifs sur la dispersion des individus, c'est-à-dire lorsqu'ils se déplacent vers les sites d'accouplement dits de « swarming » pouvant également se trouver à plusieurs kilomètres des gîtes d'été (Furmankiewicz & Altringham 2007).

Etant donné leur cycle de vie long qui se caractérise par une faible fécondité (un jeune par an et par femelle), une maturité sexuelle relativement tardive (2 à 5 ans) (Altringham 2011; Abbott *et al.* 2015), la survie des populations dépend principalement de la survie des adultes (Medinas, Marques & Mira 2013; Arthur & Lemaire 2015). Avec un tel cycle, même une diminution de quelques pourcents de la survie des adultes, occasionnée par une mortalité routière, peut impacter sévèrement la viabilité d'une population.

3.2. LES IMPACTS ACTUELLEMENT CONNUS

En raison de l'absence d'études publiées sur les effets des routes sur les chauves-souris frugivores et autres espèces tropicales (Abbott *et al.* 2015), cette partie de l'introduction s'appuie sur l'étude des chauves-souris insectivores en régions tempérées (Europe et Amérique du nord). Ainsi, les impacts des routes connus sur les chauves-souris insectivores sont : (i) la destruction de leurs gîtes et de leurs habitats de chasse, (ii) la mortalité par collision routière (iii) la rupture des continuités et l'effet barrière au mouvement des individus, (iv) la lumière et (v) le bruit.

3.2.1. Destruction de gîtes et des habitats

De par la construction des routes, des gîtes peuvent être détruits. Ces gîtes sont souvent de type arboricoles mais aussi anthropiques (ex. : dans le cadre de destruction de maisons). A titre d'exemple, concernant le contournement de Bourges, une partie des carrières occupées par des chauves-souris ont été en partie comblées et l'autre partie, renforcée avec des piliers de soutien (Lemaire *et al.* 2006). La destruction de gîtes peut avoir de profonds effets sur les populations car les chauves-souris sont fidèles d'année en année à leur gîte de parturition et dans certains paysages les gîtes sont une ressource qui limite la taille des populations (Flaquer, Torre & Ruiz-Jarillo 2006; Puig-Montserrat *et al.* 2015). La construction d'une route de par l'emprise autoroutière mais également les aménagements fonciers agricoles et forestiers (ex-remembrements) associés détruisent des surfaces de terrain de chasse, limitant une fois de plus les populations. Ainsi, les chauves-souris doivent faire face à ces deux menaces, c'est-à-dire, retrouver un gîte et de nouveaux sites de chasse.

3.2.2. Collisions routières

Le risque de collision routière pour les chauves-souris concerne celles qui volent à moins de 5 mètres de hauteur (Berthinussen & Altringham 2012b). Bien qu'il s'agisse d'un animal volant, beaucoup de chauves-souris sont sujettes au risque de collisions routières tels que les rhinolophes, oreillards et murins (Nowicki *et al.* 2016). En effet, Fensome & Mathews (2016) ont constaté, à l'échelle de l'Europe, que les espèces volant à basse altitude sont plus sujettes aux collisions routières que les espèces volant à plus haute altitude (Tab. 1, page suivante). En France, la Pipistrelle commune et les murins sont considérés comme les espèces les plus sujettes à collision routière (Capo, Chaut & Arthur 2006). Toutefois, il aurait été pertinent de ramener ces résultats à la taille des populations comme cela a déjà été réalisé pour les impacts éoliens (Roemer *et al.* 2017). Par ailleurs, ce risque de collisions routières ne se cantonne pas

Table 3. The number of bat carcasses by species reported in each study. In total, 1207 bats were recovered from roads in Europe. The one study from the USA (Russell et al. 2009) that reported casualties was excluded. The number of months during which surveys took place is shown in parentheses after the country, except for the following papers which collated incidental records from multiple sources over the following periods: 1945–1995 (Haensel & Rackow 1996); 1964–1993 (Kiefer et al. 1995); 1951–1993 (Rackow et al. 1994)

	Capo et al. (2006)	Gaisler et al. (2009)	Gonzalez- Prieto et al. (1993)	Haensel and Rackow (1996)	Iković et al. (2014)	Kiefer et al. (1995)	Lesiński (2007)	Lesiński (2008)	Lesiński et al. (2010)	Medinas et al. (2012)	Rackow et al. (1994)	
Species	France (24)	Czech Republic (5)	Spain (12)	Germany	Montenegro (14.5)	Germany	Poland (36)	Poland (16)	Poland (11)	Portugal (7.5)	Germany	Total
<i>Rhinolophus blasii</i>					1							1
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	2			1						1		4
<i>Rhinolophus hipposideros</i>			14	3	4	2	2			7	1	33
<i>Eptesicus nilsonii</i>				3		2						5
<i>Eptesicus serotinus</i>		4		35		20	15		5	4	15	98
<i>Nyctalus leisleri</i>		1		5		1	1		1	1	1	11
<i>Nyctalus noctula</i>		1		39		21	3		18		6	88
<i>Pipistrellus kuhlii</i>	4				6					67		77
<i>Pipistrellus nathusii</i>		32		2	1		3		3			41
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	47	2	33	83						21	12	198
<i>Pipistrellus pipistrellus/pygmaeus</i>		8										8
<i>Pipistrellus pygmaeus</i>		32			3					45		80
<i>Pipistrellus savii</i>			2									2
<i>Pipistrellus spp.</i>	1	12										13
<i>Barbastella barbastellus</i>	6			4		3	2		10	3		28
<i>Plecotus auritus</i>	2			25			38	7	14		2	88
<i>Plecotus austriacus</i>	3		5	11			1				1	21
<i>Plecotus spp.</i>	4			4								8
<i>Vespertilio murinus</i>				3							1	4
<i>Myotis alcathoe</i>		1										1
<i>Myotis bechsteinii</i>	1			5		4						10
<i>Myotis brandtii</i>		1		1		1	6				1	10
<i>Myotis capaccinii</i>					1							1
<i>Myotis dasycneme</i>							2					2
<i>Myotis daubentonii</i>	14	19	18	17		9	62			3	5	147
<i>Myotis emarginatus</i>	7	2										9
<i>Myotis escalerae</i>										1		1
<i>Myotis myotis</i>	2			22		13	1				1	39
<i>Myotis mysticanus</i>	8			14	1	10	9					42
<i>Myotis nattereri</i>	2	1		7		6	12	37	6		2	73
<i>Myotis spp.</i>				3			8					11
<i>Miniopterus schreibersii</i>				1		1				1		3
<i>Not determined</i>	6	2		19			2		4		12	45

Tableau 1 : Nombre de cadavres de chauves-souris retrouvés par espèce dans différentes études européenne (Fensome & Mathews 2016)

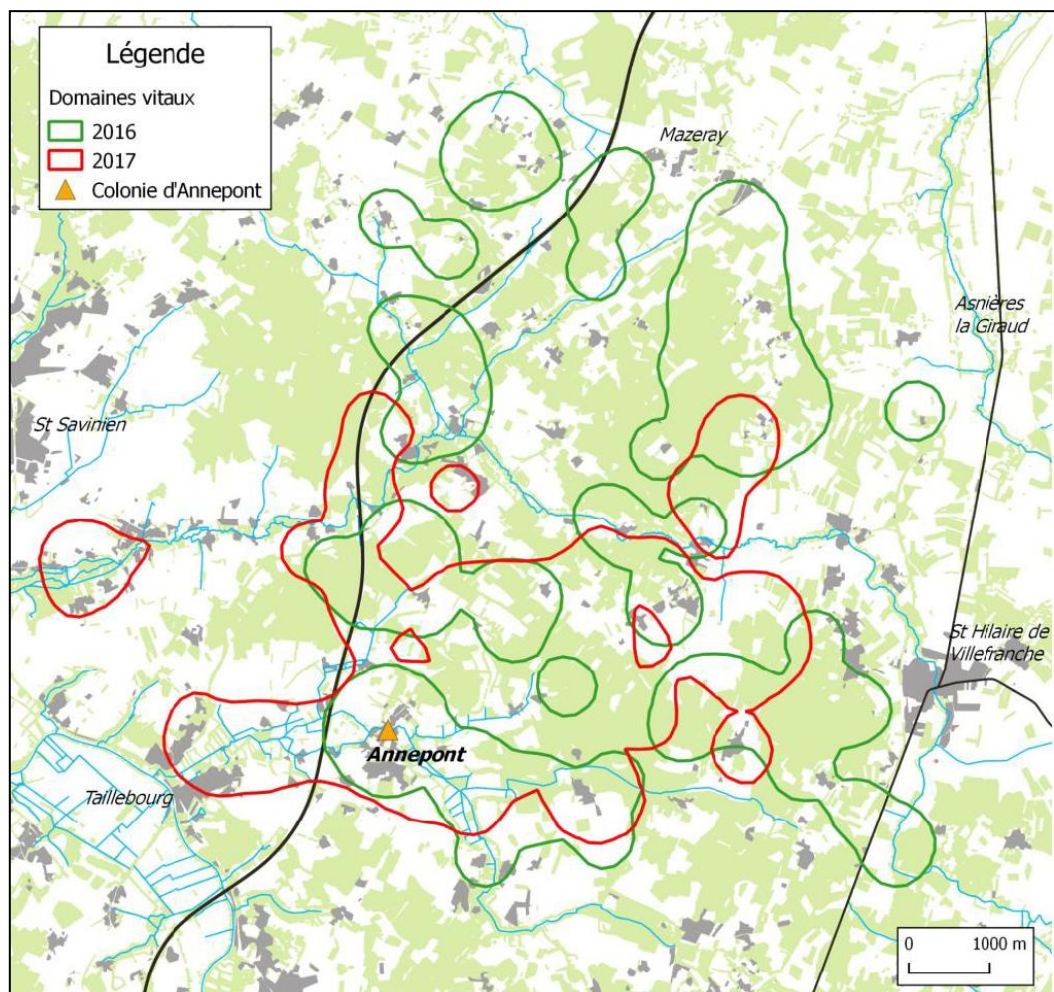
aux espèces de vols bas mais peut aussi concerner les autres. En effet, il a été relaté dans la littérature que lorsque les chauves-souris volent en milieu ouvert, elles ont tendance à voler plus bas (Russell *et al.* 2009). On peut alors considérer que le risque de collision peut toucher beaucoup plus d'espèces. De plus, les taux de mortalité routière sont les plus élevés à proximité des gîtes et des habitats d'alimentation (Medinas, Marques & Mira 2013).

3.2.3. Rupture des continuités écologiques et effet barrière au mouvement des individus

Par la rupture des habitats naturels, les routes réduisent fortement les mouvements d'individus entre les colonies et des colonies vers les zones de chasse (Bennett & Zurcher 2013). En effet, pour se déplacer, les chauves-souris évitent de voler dans les zones ouvertes et dans les zones éclairées (Azam *et al.* 2018) et utilisent les éléments linéaires structurant le paysage, tels que les haies qui offrent également une protection contre les prédateurs et le vent (Verboom & Huitema 1997; Frey-Ehrenbold *et al.* 2013; Pinaud *et al.* 2018; Lacoëuilhe *et al.* 2018).

Ce point est d'autant plus important que, pour la majorité des espèces de chauves-souris, leur activité nocturne implique un déplacement loin de leurs gîtes. Quelques exemples :

- de 0,6 à 11,7 km pour *Rhinolophus ferrumequinum*, (Flanders & Jones 2009; Dietz, Pir & Hillen 2013) (Fig. 8, page suivante) ;
- de 0,2 à 4,7 km pour *R. hipposideros* (Bontadina, Schofield & Naef-Daenzer 2002; Reiter *et al.* 2013) ;
- de 0,5 à 11,5 km pour *Eptesicus serotinus* (Catto *et al.* 1996) ;
- de 0,9 - 3,7 km pour *Pipistrellus pipistrellus* (Nicholls & Racey 2006; Davidson-Watts, Walls & Jones 2006) ;
- de 2,3 à 9,2 km pour *Myotis daubentonii* (Encarnacao *et al.* 2005; Nardone *et al.* 2015) ;
- de 1 à 13 km pour *Nyctalus leisleri* (Szentkuti *et al.* 2013).



**Figure 8 : Exemple domaines vitaux du Grand rhinolophe d'une colonie en Charente-Maritime estimés par la méthode de Kernel. Le trait noir en gras est l'autoroute A10.
[Pinaud in (Leuchtman 2018)]**

Ainsi, les routes et en particulier les autoroutes, pourraient potentiellement jouer un effet barrière en réduisant l'accès aux zones de chasse et en réduisant la capacité de certaines espèces arboricoles à pouvoir changer de gîte (Kerth & Melber 2009; Zurcher, Sparks & Bennett 2010). De plus, il a été démontré une augmentation significative de l'activité de la Pipistrelle commune en fonction de la distance à une autoroute (c.-à-d., jusqu'à 1,6 km) (Berthinussen & Altringham 2012a). Les mouvements quotidiens des chauves-souris ont donc une très forte probabilité d'être affectés par le réseau routier dans leur domaine vital (Fig. 8) et notamment dans les pays développés et fragmentés tels que la France.

3.2.4. La lumière ou éclairage artificiel durant la nuit (ALAN, *Artificial Lighting at Night*)

Bien qu'aucune étude ne se soit concentrée spécifiquement sur l'impact des phares ou des lampadaires aux abords des routes, plusieurs études montrent que l'éclairage artificiel la nuit constitue également un effet négatif pour les chauves-souris dans leurs déplacements quotidiens. En effet, Stone, Jones & Harris (2009) ont démontré que le Petit rhinolophe est affecté par la lumière le long de haies lui servant de route d'accès vers ses territoires de chasse. De plus, Lacoëuilhe *et al.* (2014) et Azam *et al.* (2018) ont démontré que de faibles intensités de lumière (inférieur à 0,1 lux) ont un impact sur le déplacement quotidien des chauves-souris et en particulier les murins jusqu'à 50 m de distance. Par ailleurs, une récente étude montre que même les espèces communes, comme la Pipistrelle commune, peuvent être négativement impactées par l'éclairage artificiel la nuit (Pauwels *et al.* in press). Ainsi, les bords de routes éclairés par des lampadaires (notamment en sortie de zones urbaines) et les phares de véhicules ont de fortes probabilités d'amplifier le phénomène de fragmentation.

3.2.5. Le bruit

Peu d'études spécifiques ont mis en avant l'effet du bruit des véhicules sur les chauves-souris. Bennett & Zurcher (2013) ont trouvé que lorsque le bruit des véhicules dépasse 88 dB, cela affecterait le déplacement des espèces de vol haut. De plus, des simulations de bruits de circulation routière en chambre close ont démontré que les chauves-souris utilisant l'écoute passive pour chasser (ex. : les murins, oreillards) étaient négativement impactées (Schaub, Ostwald & Siemers 2008; Siemers & Schaub 2011).

En conclusion, l'impact des routes sur les chauves-souris peut s'exercer à différentes échelles spatio-temporelles (Fig. 9).

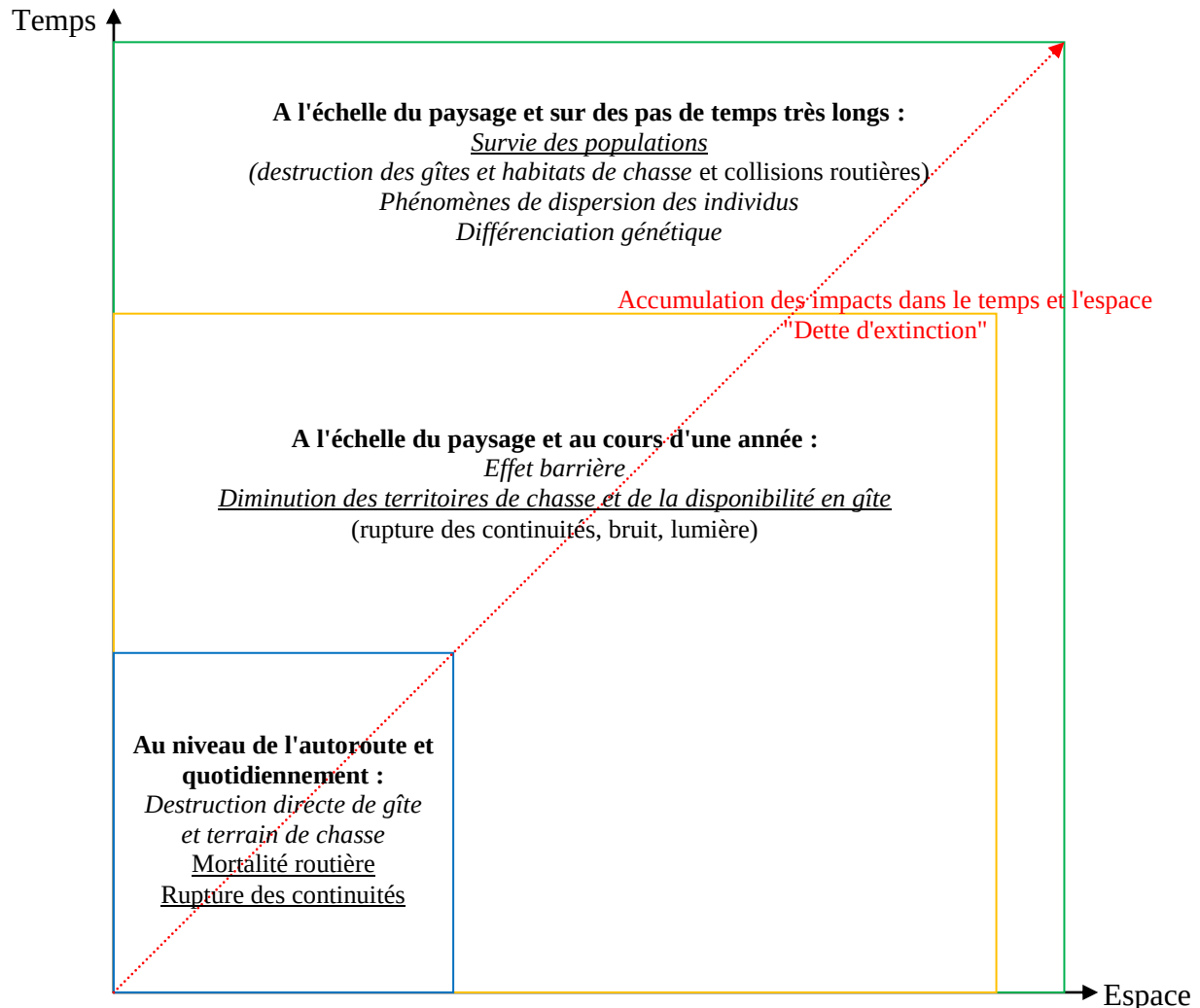


Figure 9 : Impacts spatio-temporels des routes sur les chauves-souris. En italique : lors de la phase de construction de route, souligné : lors de la phase de mise en service, italique et souligné : les deux phases

En outre, l'effet cumulé de chacun de ces facteurs peut avoir de profonds effets sur les populations de chauves-souris (Altringham & Kerth 2016). De plus, l'effet des impacts routiers s'accumule dans le temps, c'est-à-dire, qu'il peut encore être visible des années après la construction (ex. : population déclinante qui ne s'est pas encore éteinte). On peut alors parler de dette d'extinction (Fig. 9) (Tilman *et al.* 1994).

3.3. QUELS POTENTIELS IMPACTS RESTE-T-IL A ETUDIER ?

Alors que la zone d'influence des routes [c.-à-d., *road-effect zone* (Forman & Deblinger 2000)] est documenté sur plusieurs groupes biologiques (ex. : oiseaux), seulement deux études scientifiques publiées se sont intéressées à l'impact des routes (notamment autoroutes) sur l'activité des chauves-souris (Berthinussen & Altringham 2012a; Kitzes & Merenlender 2014). Toutefois, l'aire d'étude considérée de ces deux publications n'était pas à l'échelle des capacités de déplacements des chauves-souris.

Par ailleurs, alors que l'effet des routes sur la génétique des populations de plusieurs groupes biologiques (invertébrés, mammifères non volants et amphibiens) a déjà été démontré sur quelques générations (Holderegger & Di Giulio 2010), aucune étude n'a été réalisée sur le groupe des chauves-souris (Berthinussen 2013).

4. PRISE EN COMPTE DES CHAUVES-SOURIS DANS LES DOSSIERS REGLEMENTAIRES

4.1. PROJETS ROUTIERS ET REGLEMENTATION

La loi sur la protection de la nature de 1976 stipule que la biodiversité doit être considérée dans les projets d'aménagement à travers l'évaluation de leurs impacts négatifs sur la biodiversité. Des propositions de mesures d'évitement (E), de réduction (R) et de compensation (C) pour atténuer voire supprimer ces impacts doivent également être proposées (mesures "ERC") (Fig. 10, page suivante). Toutefois, c'est grâce au Grenelle de l'environnement de 2010 et son décret d'application en 2011 qui réforment le processus d'évaluation environnementale qu'a été permise la mise en œuvre systématique des mesures "ERC". Enfin, c'est la loi pour la reconquête de la biodiversité, de la nature et des paysages de 2016 qui rend certains éléments des mesures "ERC" obligatoires (ex. : l'équivalence écologique, le principe d'absence de perte nette de biodiversité...).

Dans le cadre des grands projets d'infrastructures routières, les porteurs de projets sont soumis à deux principales lois :

- la loi de protection de la nature du 10 juillet 1976 (actualisée en 2010 et 2016) qui oblige les porteurs de projet à réaliser une évaluation environnementale. Cette étude évalue les effets potentiels ou avérés du projet routier sur l'environnement. Elle permet ainsi d'analyser et de justifier les choix retenus au regard des enjeux identifiés sur le territoire concerné. Enfin c'est cette étude environnementale qui va définir les mesures "ERC" (Fig. 10). La compensation, dernière étape de la séquence ERC, consiste à mettre en œuvre des mesures susceptibles d'apporter une contrepartie en nature aux pertes résiduelles de biodiversité engendrées par un projet d'aménagement. Depuis peu, des mesures d'Accompagnement ("A") sont proposées. Ces mesures "ERC" et "A" interviennent lorsqu'un projet d'aménagement est réalisé. Des exemples de chacune de ces mesures sont détaillées ci-après ;

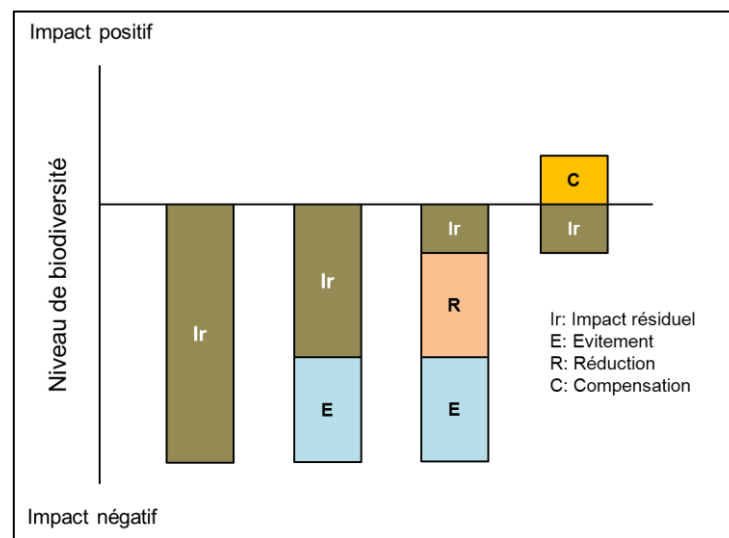


Figure 10 : Étapes de la séquence "Éviter, Réduire et Compenser" (Regnery *et al.* 2013)

- la loi d'orientation des transports intérieurs dite loi LOTI du 30 décembre 1982 qui impose la réalisation de bilan post construction. Cette loi a pour but d'évaluer si les mesures prises lors de l'évaluation environnementale sont correctes. Ces bilans devraient également permettre d'avoir des retours d'expériences pour des choix ultérieurs.

4.2. ÉVALUATION DES ENJEUX POUR LES CHAUVES-SOURIS DANS LES DOSSIERS RÉGLEMENTAIRES

Toutes les espèces de chauves-souris de France métropolitaine sont protégées depuis 1981. Ainsi, leur protection juridique impose leur prise en compte dans l'élaboration des dossiers réglementaires suscités. Bien que le renforcement de la loi de protection de la nature 1976 en 2010 puis 2016 impose de considérer la nature ordinaire, c'est bien une recherche, la plus exhaustive possible, d'indices de présence d'espèces protégées sur le site impacté, qui conditionne les évaluations environnementales. En effet, ce sont ces espèces protégées qui vont conditionner les mesures réglementaires et qui occasionnent le plus de contraintes dans la réalisation des projets d'aménagement (ex. : contentieux juridique). Une fois la présence avérée de ces espèces protégées, il est recherché la façon dont ces espèces occupent le site [abondance/densité, types de milieux utilisés et leur fonctionnalité (corridors, reproduction, chasse...)], c'est-à-dire, la fonctionnalité des habitats naturels au regard des espèces à enjeux. Enfin, le niveau d'enjeu est susceptible d'être plus ou moins fort en fonction de leur connexion avec d'autres habitats. Plusieurs méthodes d'inventaires existent pour répondre aux objectifs recherchés (Tab. 2).

Tableau 2 : Méthodes pouvant être mises en œuvre pour l'évaluation des enjeux pour les chauves-souris dans le cadre des dossiers réglementaires concernant les projets routiers.

Le coût ici présenté prend compte une seule répétition de la méthode employée et sur une journée, le matériel (sans amortissement) et la main d'œuvre et est également dépendant du type de matériel utilisé; très faible (<500 €), faible (< 1000 €), moyen (< 5000€), fort (<15 000 €), très fort (>15 000 €).

Méthodes	Présence / Absence	Recherche de gîte	Richesse spécifique	Abondance	Comportement	Continuités écologiques	Utilisation de l'habitat	Coût
Etudes de bureau								
Recueil bibliographiques (base de données publiques et associatives)	x	x	x			x		Très faible
Etudes de terrain								
Recherche sur le terrain	x	x	x	x				Faible
Capture	x		x	x				Moyen
Capture et radiopistage	x	x	x	x		x	x	Fort
Ecoutes ultrasonores avec 1 micro	x	x	x	x	x (transit/chasse)	x	x	Faible
Ecoutes ultrasonores avec plusieurs micros	x	x	x	x	x (trajectographie)	x	x	Moyen
Caméra thermique		x			x			Très fort

Par ailleurs, ces méthodes présentent chacune des avantages et inconvénients (Tab. 3).

Tableau 3 : Principaux avantages et inconvénients des méthodes pouvant être mises en œuvre

Méthodes	Avantages	Inconvénients
Etudes de bureau		
Recueil bibliographiques	Versement obligatoire des données récoltées sur le terrain issues des évaluations environnementales	Refus possible des acteurs locaux de transmettre leurs connaissances si opposants au projet
Etudes de terrain		
Recherche de gîtes	Observations de jour	Gîtes souvent supposés
Capture	Statut reproducteur	Invasive
Capture et radiopistage	Recherche du gîte	Formation obligatoire Autorisation nécessaire
Ecoutes ultrasonores avec 1 micro	Non invasive Standardisation permettant les comparaisons	Taux d'erreur dans l'identification manuelle et automatique (qui nécessite elle-même) une vérification manuelle Volume de détection faible Déteçtabilité des espèces
Ecoutes ultrasonores avec plusieurs micros	Idem précédent Informations sur les comportements et hauteur de vol (d).	
Caméra thermique	Non invasive Mesure de la température Informations sur l'altitude de vol Informations sur les comportements	Utilisation du matériel Analyses chronophages Impossible d'identifier les espèces Différenciation entre chauves-souris et oiseaux difficile

A travers les tableaux 2 et 3, nous pouvons nous rendre compte qu'en fonction des objectifs recherchés, chacune des méthodes présentent des avantages et des inconvénients et aucune ne permet d'avoir une mesure d'abondance stricte des chauves-souris au sein d'un habitat. Il s'agira dans tous les cas, d'une abondance relative. Ainsi, la méthode la plus appropriée en termes de coûts/bénéfices est la méthode acoustique avec 1 ou 2 micros (Fig. 11). C'est d'ailleurs cette méthode qui est principalement utilisée dans les dossiers réglementaires (Stahlschmidt & Brühl 2012; Newson, Evans & Gillings 2015).

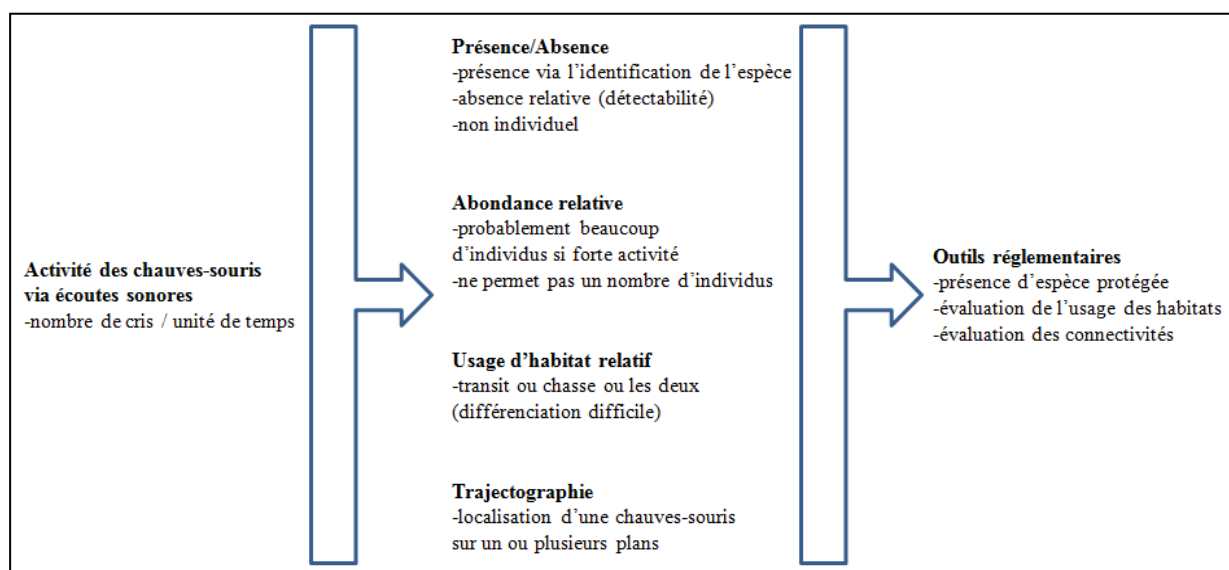


Figure 11 : Apport des écoutes acoustiques des chauves-souris dans les dossiers réglementaires

Bien que cette méthode ne permette pas d'obtenir des mesures absolues (nombre d'individus/km²), ces abondances relatives sont une estimation de l'abondance et de l'usage des habitats (chasse et/ou transit). Il s'agit, de surcroît, d'une méthode non invasive (c.-à-d., pas de perturbations au niveau des individus et de leur habitat) et permettant assez facilement une standardisation (matériel, temps d'écoute, paramétrages). Enfin, elle semble bien adaptée à l'étude des chauves-souris dans le cadre de l'évaluation des impacts d'un projet d'aménagement routier car il est possible d'établir des indices d'activités par espèce recensée (Haquart 2013; MNHN 2015).

4.3. LES MESURES "ERC" ET "A" DANS LE CADRE DE PROJETS ROUTIERS EN RAPPORT AVEC LES CHAUVES-SOURIS

Le panel de mesures est très vaste si l'on considère tous les types de projets et tous les types de taxon (qu'il soit protégé ou non) (CGDD & CEREMA 2018). Cette thèse s'intéresse aux mesures de la séquence "ERC" et d'accompagnement, mises en œuvres concernant les impacts routiers sur les chauves-souris. A noter par ailleurs, que c'est grâce aux deux réformes de la loi de protection de la nature de 1976 que les chauves-souris sont systématiquement prises en compte (Bigard *et al.* 2017).

L'évitement consiste à définir le passage du projet pour éviter que celui-ci soit réalisé sur des zones identifiées comme à forts enjeux (au regard de la réglementation). L'évitement est total si la solution retenue pour réaliser le projet garantit l'absence totale d'impact direct ou indirect sur l'environnement. Pour les chauves-souris, l'évitement signifie donc qu'il ne doit y avoir aucun impact sur l'ensemble des populations et sur les composantes physiques et biologiques nécessaires à leur maintien sur l'ensemble de leur cycle de vie (gîte d'hibernation, de parturition et de reproduction, habitats de chasse, corridors et migration). En terme

d'application, cela peut consister en un changement d'un fuseau routier pour éviter des enjeux de conservation de la biodiversité ou à la requalification du réseau existant (ex. : mise à 2X2 voies d'une route existante afin d'éviter l'amplification du phénomène de fragmentation des paysages).

Dans le cas où l'évitement des impacts est impossible, il s'agira de mettre en œuvre des mesures de réduction qui sont mises en place au niveau de l'emprise du projet routier ou à sa proximité immédiate. Il peut s'agir ici de passages supérieurs [passage à faune, chiroptéroduct (c-a-d, passages sur-routier dédiés aux chauves-souris)...], inférieurs (viaducs...), réduction de la vitesse, plantation de haies pour rediriger les chauves-souris vers des passages supérieurs ou inférieurs, pose de gîtes artificiels... (Møller *et al.* 2016).

Les mesures de compensation interviennent en réponse à un impact résiduel. C'est-à-dire, qui subsiste après les mesures "E" et "R". Par ailleurs, les mesures de compensation doivent non seulement apporter une équivalence écologique des impacts résiduels (c-a-d, *not net loss*) mais il est aussi attendu qu'elles apportent un gain de biodiversité. Ces mesures doivent être mises en place le plus proche géographiquement possible. Elles peuvent, par exemple, se traduire par une restauration d'habitat. Cependant, pour le groupe biologique des chauves-souris, compenser les pertes d'habitats de chasse causées par la fragmentation n'est quasiment jamais fait, car trop difficile à évaluer, à mettre en œuvre, et parfois même tout simplement non considéré.

Les mesures d'accompagnement, quant à elles, se rattachent à tout ce qui ne peut être considéré comme une mesure "E", "R" ou "C". Les mesures d'accompagnements sont des mesures présumées favorables à la biodiversité, sans pour autant qu'un gain puisse être

quantifié et donc entrer dans le bilan de la non perte nette de biodiversité (c-a-d., *no net loss*). Il peut s'agir par exemple, de l'acquisition de parcelles sans mise en œuvre d'action écologique complémentaire, de financement d'un programme de recherche pour améliorer les connaissances ou des mesures favorables à des composantes de biodiversité non impactées par le projet.

En synthèse, les faiblesses actuelles de la prise en compte des chauves-souris dans les dossiers réglementaires sont de plusieurs ordres :

- l'impact routier sur les chauves-souris n'a jamais été systématiquement pris en compte alors que ce sont des espèces protégées ;
- lorsqu'elles sont prises en compte, l'évaluation est réalisée :
 - au mieux, sur un cycle biologique complet (c-a-d, sans tenir compte des effets potentiels sur plusieurs générations) ;
 - sans tenir compte des capacités de déplacement, c'est-à-dire, sans évaluation de la distance d'impact des routes [c-a-d, *road-effect zone* (Forman & Deblinger 2000)] ;

Ainsi, à l'échelle d'un projet, l'évitement des impacts sur la perte d'habitats des chauves-souris est peu pris en compte et se concentre principalement sur la réduction dans le but de maintenir la connectivité entre habitat. Par ailleurs, aucune étude n'a été conduite pour évaluer si les mesures "E" et "R" sont suffisantes pour effacer les impacts et si la non-perte nette de biodiversité est atteinte grâce à ces deux types de mesures. Enfin, la question de la compensation ne s'est jamais posée pour les chauves-souris dans le cadre de projets routiers.

5. COMMENT EXPLIQUER CETTE ABSENCE DE PRISE EN COMPTE DES CHAUVES-SOURIS DANS LES DOSSIERS REGLEMENTAIRES AU REGARD DES IMPACTS CONNUS ET POTENTIELS ?

Bien que le matériel utilisé actuellement dans les évaluations environnementales pour les écoutes ultrasonores existe depuis très longtemps : depuis 35 ans pour les détecteurs à mains (Pettersson Electronic AB, Uppsala, Suède) et depuis 8 ans pour les détecteurs passifs permettant un enregistrement sur toute une nuit (Wildlife Acoustics Inc, MA, Concord, États-Unis), les méthodes d'écoutes n'ont été standardisées que récemment (Stahlschmidt & Brühl 2012) ainsi que les paramétrages de certains matériels. Par exemple, en France, c'est en 2014 que des paramétrages pour les enregistreurs acoustiques ont été standardisés entre le Muséum national d'Histoire naturelle, l'Office National des Forêts, le bureau d'étude Biotope, le Groupe Chiroptères Aquitaine et le Groupe Mammalogique Breton. Ils sont disponibles ici : <http://vigienature.mnhn.fr/>

De plus, les retours d'expériences à l'échelle locale sur les mesures de réduction des impacts routiers sur les chauves-souris, notamment sur le dimensionnement des passages sous-routiers n'ont été développé réellement que récemment (Krull *et al.* 1991; Bach, Burkhardt & Limpens 2004; Kerth & Melber 2009; Boonman 2011; Abbott, Butler & Harrison 2012; Abbott, Harrison & Butler 2012; Berthinussen & Altringham 2012b; Abbott *et al.* 2015; Bhardwaj *et al.* 2017), et les impacts et solutions à l'échelle des capacités de déplacement des chauves-souris sont encore plus récents (Berthinussen & Altringham 2012a; Kitzes & Merenlender 2014). Le retard est tel, qu'une méthode d'évaluation des impacts routiers sur l'activité des chauves-souris à plus grande échelle que celle du fuseau routier n'existe que depuis très peu de temps (Berthinussen & Altringham 2015). Cette méthode consiste en la réalisation de 12

points d'écoutes de 10 minutes disposés le long d'un transect de 1 000 m suivant une haie perpendiculaire à la route.

Ainsi, les retours de la recherche scientifique sur la standardisation des méthodes et des paramétrages du matériel d'écoute sont arrivés tardivement : 30 ans après la protection des chauves-souris en France. De plus, même en connaissance de ces impacts depuis 2012, la prise en compte des impacts routiers sur les chauves-souris à l'échelle de leur capacité de déplacement est toujours absente.

Ce manque d'application peut s'expliquer par l'écart qui existe entre les chercheurs et les aménageurs/gestionnaires/bureaux d'études. En effet, les articles scientifiques sont rarement lus (Tab. 4), les chercheurs transmettent peu leurs connaissances et vice-versa : les aménageurs/gestionnaires/bureaux alertent peu les chercheurs sur les manques de connaissances (Sutherland *et al.* 2004).

Source of information	Number	%
Common sense	55	32.4
Personal experience	37	21.8
Speaking to other managers in region	34	20.0
Other managers outside region	4	2.4
Expert advisers	17	10.0
Secondary publications	19	11.2
Primary scientific literature	4	2.4

Tableau 4 : Sources des informations utilisées par aménageurs/gestionnaires/bureaux dans une région au Royaume-Uni : "Broadland" (Sutherland *et al.* 2004)

Nous pouvons ainsi considérer que l'absence d'étude scientifique sur les chauves-souris a été très dommageable dans le cadre des dossiers réglementaires et peut continuer de l'être, le temps que les aménageurs s'en saisissent. Le rapprochement entre le monde scientifique et le monde appliqué est donc à améliorer (Sunderland *et al.* 2009).

6. PRISE DE CONSCIENCE DE LA FRAGMENTATION ET POLITIQUES PUBLIQUES

Ce n'est qu'en 2007, grâce au Grenelle de l'environnement que l'État français a souligné l'importance du phénomène de fragmentation des habitats comme l'une des causes de déclin de la biodiversité.

Cette prise de conscience a débouché sur le lancement d'une nouvelle politique sur les Trames Vertes et Bleues (TVB) à travers l'élaboration des Schémas Régionaux de Cohérence Écologique (SRCE). Les TVB sont considérées comme étant constituées de trois éléments principaux : les réservoirs de biodiversité, les corridors écologiques s'appliquant plus particulièrement aux milieux terrestres mais aussi humides, et enfin les cours d'eau (Fig. 12) (Allag-Dhuisme *et al.* 2010).

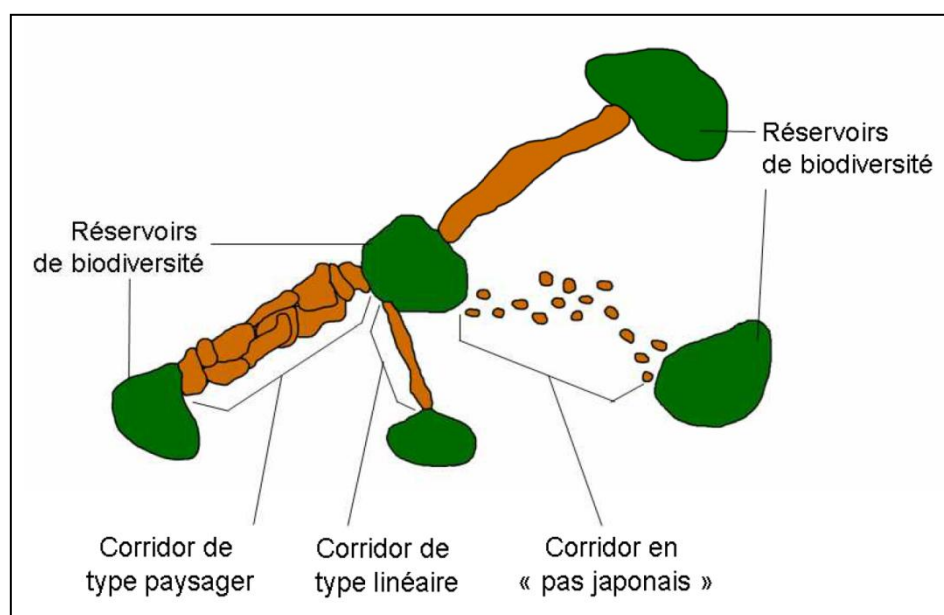


Figure 12 : Exemple d'éléments des TVB : réservoirs de biodiversité et types de corridors (Allag-Dhuisme *et al.* 2010)

Ainsi, chaque région a pour objectif de réduire les impacts de la fragmentation des habitats. Pour ce faire, les régions s'appuient sur des espèces représentatives de différents habitats, de modes de déplacements des espèces et en variant les groupes biologiques. Toutefois, afin de donner une cohérence nationale dans l'élaboration des SRCE, 39 espèces, parmi une pré-liste

de 223 espèces provenant de toutes les régions, sont dites à cohérence nationale afin d'être prises en compte dans les SRCE. Parmi celles-ci figure une espèce de chauves-souris : le Grand rhinolophe (Sordello *et al.* 2013). Les TVB identifiées dans les SCRE ne peuvent, ici, présumer de rattraper un quelconque retard, mais ont renforcé le principe de connectivité entre habitats. Désormais, les TVB sont systématiquement prises en compte dans les projets d'aménagement routiers.

Par ailleurs, des "Programmes de Recherche Interministériel sur les Transports Terrestres" (PREDIT) se sont notamment intéressés aux impacts énergétiques et environnementaux des transports terrestres. Sous l'impulsion du Grenelle de l'environnement en 2007, les conclusions du PREDIT ont permis de lancer un appel à proposition de recherche sur les points suivants : (i) quelles sont les échelles spatiales pertinentes pour prévoir et analyser les impacts d'une infrastructure ? (ii) comment penser dans la durée les impacts d'une infrastructure ? et (iii) comment intégrer un ensemble de problématiques paysagères et environnementales dans la prise de décision ? C'est ainsi que le programme "Infrastructure de Transport Terrestre Ecosystème et Paysage" (ITTECOP) est né en 2008.

L'objectif principal d'ITTECOP est de confronter les enjeux techniques des infrastructures de transport et leurs emprises (routières, ferrées, fluviales ou énergétiques), et leurs interfaces avec les territoires (gares, ports, aéroports, etc.) en incluant les dimensions paysagères et écosystémiques. Il a également pour ambition de rassembler autour de ces questions, et de manière pérenne, des acteurs d'horizons variés (chercheurs en sciences humaines et sociales et sciences de la vie, praticiens et acteurs de la société civile). Tous les groupes biologiques sont pris en compte, y compris les chauves-souris. D'ailleurs, deux projets de recherches ont été financés. En 2015, le projet TRAMENOIRE et en 2017, le projet CHIROLUM. Ces deux

programmes de recherches s'intéressent principalement à la fragmentation des habitats par l'éclairage artificiel la nuit. Concernant les impacts de la fragmentation des habitats sur les chauves-souris par les réseaux routiers, seul un projet labellisé (non financé) est référencé. Il s'agit de l'ensemble des travaux de recherches figurant dans cette thèse sous l'acronyme DECHIR. Ainsi, grâce à ITTECOP, des solutions en lien avec les acteurs de terrain sont proposées pour réduire les impacts de la fragmentation.

Enfin, suite à cette conscience collective, l'État a instauré des "Paquets verts" en 2009 qui demandent aux sociétés concessionnaires d'autoroutes de bâtir un programme d'aménagements verts. Ces paquets verts ont, en outre, comme objectif d'améliorer la protection de la ressource en eau, des riverains contre le bruit, l'éco-rénovation des aires d'autoroutes, la réduction des émissions de CO₂ et la préservation de la biodiversité. Ainsi, de 2010 à 2013, la préservation de la biodiversité a représenté 3,6 % de l'enveloppe totale (soit 42 M€). En s'intéressant à l'une de ces sociétés concessionnaires qui exploite plus de la moitié du réseau français : VINCI Autoroutes ; la société a réalisé 93 aménagements en faveur de la biodiversité et qui ont fait l'objet de suivis (Fagart *et al.* 2016). Ces paquets verts ont par ailleurs été prolongés au titre des contrats de plan des sociétés concessionnaires puis du plan de relance autoroutier en 2015. C'est alors l'engagement de 20 M€ supplémentaires en faveur de la biodiversité (VINCI Autoroutes 2018).

En conclusion, nous pouvons dire que les politiques publiques ont commencé à s'emparer du sujet pour enrayer le phénomène de fragmentation.

7. ORIENTATION ET PLAN DE LA THESE

L'insuffisance de moyens engagés explique le manque d'investigation dans l'étude des impacts des routes sur les chauves-souris, alors même que leur étude est possible depuis longtemps et que toutes les espèces de chauves-souris sont protégées. C'est pourquoi, au travers de cette thèse, les chauves-souris seront prises comme modèle biologique pour étudier l'impact des routes, et notamment des autoroutes, en France métropolitaine afin d'apporter des éléments de réponse pour leur conservation.

L'évolution du réseau autoroutier français a peu de chance d'évoluer significativement. Cependant, sa réalisation n'a pas pris en compte les impacts potentiels sur les chauves-souris. En effet, ce sont 3 727 km d'autoroutes qui ont été construits de 1960 à 1980 (Barre 1997) pour atteindre un linéaire total de 11 392 km en 2010 et de 11 599 km en 2015 (MEEM 2017). Pour rappel, ce n'est qu'après le renforcement de la loi de protection de la nature de 1976 en 2010 et 2016 que les chauves-souris sont systématiquement prises en compte (Bigard *et al.* 2017) et que l'évaluation des impacts à l'échelle des déplacements des chauves-souris et des pertes en ressources alimentaires n'a jamais été réalisé. Ainsi, on peut estimer aisément que c'est une dizaine de milliers de kilomètres d'autoroutes qui impactent, potentiellement, nos populations de chauves-souris à ce jour.

La principale question qui se pose maintenant est : comment réduire au maximum l'impact écologique des autoroutes ? La mise en place des programmes de recherche tels qu'ITTECOP, les paquets verts et les plans de relance sont des outils à mobiliser pour répondre à cette question.

Les axes de recherches que j'ai cherché à développer dans cette thèse sont : préciser quel est l'effet des routes sur les chauves-souris et comment il est possible d'en réduire l'impact dans un objectif de pouvoir transférer ces méthodes concrètement sur le terrain. Pour chacune de ces questions, j'ai utilisé et/ou développé de multiples méthodes non-invasives.

La principale méthode utilisée a été l'acoustique passive qui enregistre en continu l'ensemble des émissions ultrasonores émises par les chauves-souris lors de leurs activités de chasse et de déplacement. Cette méthode est désormais largement utilisée par les bureaux d'études ainsi qu'en recherche (Stahlschmidt & Brühl 2012; Newson, Evans & Gillings 2015). Cependant les évolutions récentes de cette technologie (diminution des coûts, augmentation des capacités de mémoires) a permis le déploiement à large échelle de cette méthodologie, avec en contrepartie, la production d'un volume considérable de données acoustiques ne permettant raisonnablement plus, une identification manuelle comme cela se pratiquait jusqu'à récemment. Il a été nécessaire de développer des méthodes robustes et efficaces pour l'exploitation de ces données acoustiques. Elle donne lieu à la rédaction de l'article suivant :

Barré K, Pauwels J, Le Viol I, Julien J.-F, Julliard R, **Claireau F**, Bas Y & Kerbiriou C. in prep. Robustness of using a semi-automatic method to account for identification errors in bat acoustic surveys. *Methods in Ecology and Evolution*.

Ensuite, il a été nécessaire d'avoir une approche robuste quant à la manipulation de ces données. C'est pourquoi, j'ai choisi l'approche par modélisation car elle permet à partir de l'échantillonnage d'un site d'étude de prédire l'activité des chauves-souris sur l'ensemble de la zone considérée. Afin d'éprouver cette méthode, il a été nécessaire de prouver son intérêt en la

validant par deux jeux de données indépendants. Cette méthode s'est traduite par la publication suivante :

Pinaud D, **Claireau F**, Leuchtmann M & Kerbiriou C. 2018. Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance. *Journal of Applied Ecology*. DOI: 10.1111/1365-2664.13228

Bien que la zone d'influence des autoroutes [c.-à-d., *road-effect zone* (Forman & Deblinger 2000)] sur les chauves-souris ait été un peu documentée, les deux publications existantes (Berthinussen & Altringham 2012a; Kitzes & Merenlender 2014) ne se sont pas intéressées à l'échelle des capacités de déplacement des chauves-souris. C'est alors que je me suis appuyé sur les deux méthodes précédemment développées et que j'ai cherché à évaluer l'impact des autoroutes sur l'activité des chauves-souris à l'échelle de leur capacité de déplacement. Cet axe de recherche a donné lieu à la rédaction du manuscrit suivant :

Claireau F, Bas Y, Pauwels J, Barré K, Machon N, Allegrini B, Puechmaille SJ & Kerbiriou C. major revision. Large negative effects of major roads on bat activity. *Biological conservation*.

Afin de répondre aux questions de recherche jusque là non-étudiées : effet des routes sur les échanges d'individus et sur la génétique des populations, il a été nécessaire de réfléchir rigoureusement au plan d'échantillonnage. Tenant à vouloir garder une certaine éthique, il a été mis en place une technique non-invasive basée sur la récolte des crottes de chauves-souris. Aucun manuscrit n'est engagé à ce jour pour cause d'analyse durant l'été 2018. En revanche,

une synthèse (n°1) sous la forme d'un manuscrit en français, est proposée dans le chapitre 2 de cette thèse.

Enfin, il est également nécessaire d'apporter des solutions pour réduire l'impact des routes sur les chauves-souris. Ces impacts sont multiples et s'effectuent à diverses échelles spatio-temporelles. D'après la figure 9 (page 17), il est possible de réduire considérablement l'effet des autoroutes sur les chauves-souris en s'attachant au rétablissement des connectivités. Les mesures de réduction étant nombreuses, je me suis attaché à l'utilisation des chiroptéroducts comme mesure permettant de rétablir la connectivité entre habitats. Tout en étant dans une logique de transfert de méthodes, j'ai établi deux outils de trajectographie permettant :

(i) de quantifier le nombre de chauves-souris franchissant une route qui a donné lieu aux deux manuscrits suivants :

Claireau F, Bas Y, Puechmaille SJ, Julien JF, Allegrini B & Kerbiriou C. 2018. Bat overpasses: an insufficient solution to restore habitat connectivity across roads. *Journal of Applied Ecology*. DOI: 10.1111/1365-2664.13288

Claireau F, Bas Y, Puechmaille SJ, Julien JF, Machon N, Allegrini B & Kerbiriou C. minor revision. Bat overpasses as an alternative solution to restore habitat connectivity in the context of road requalification. *Ecological Engineering*.

et (ii) de caractériser les comportements de vols et leur hauteur. Une série d'algorithmes permettant de détecter les chauves-souris et leur trajectoire ont été développés, réunis dans le Bat Tracking Toolbox (BTT). Aucun manuscrit n'est engagé à ce jour pour cause d'analyse durant l'été 2018 mais une synthèse est proposée (n°2).

CHAPITRE 1 : METHODES POUR EVALUER L'IMPACT DES ROUTES SUR LES CHAUVES-SOURIS

Deux manuscrits :

Barré K, Pauwels J, Le Viol I, Julien J.-F, Julliard R, **Claireau F**, Bas Y & Kerbiriou C.
in prep. Robustness of using a semi-automatic method to account for identification errors
in bat acoustic surveys. *Methods in Ecology and Evolution*.

Pinaud D, **Claireau F**, Leuchtman M & Kerbiriou C. 2018. Modelling landscape
connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance.
Journal of Applied Ecology. DOI: 10.1111/1365-2664.13228

1. CONTEXTE

1.1. Passive Acoustic Monitoring (PAM)

Dans le cadre des études réglementaires actuelles, l'évaluation des enjeux d'un projet d'aménagement sur les chauves-souris est principalement, voire totalement, basée sur les études acoustiques passives appelées PAM (*Passive Acoustic Monitoring*). Cette méthode comparée à la capture, au radiopistage ou la caméra thermique est beaucoup moins couteuse en terme de main d'œuvre et plus facile à mettre en œuvre. En effet, la pose d'un boîtier enregistreur d'ultrasons dans un habitat naturel sur une ou plusieurs nuits est assez simple à réaliser. Par ailleurs, comme vu en introduction, elle constitue une estimation inédite permettant d'obtenir (i) la présence/absence d'une espèce, (ii) une abondance relative, (iii) un usage d'habitat relatif (chasse et/ou transit) et (iv) des informations comportementales.

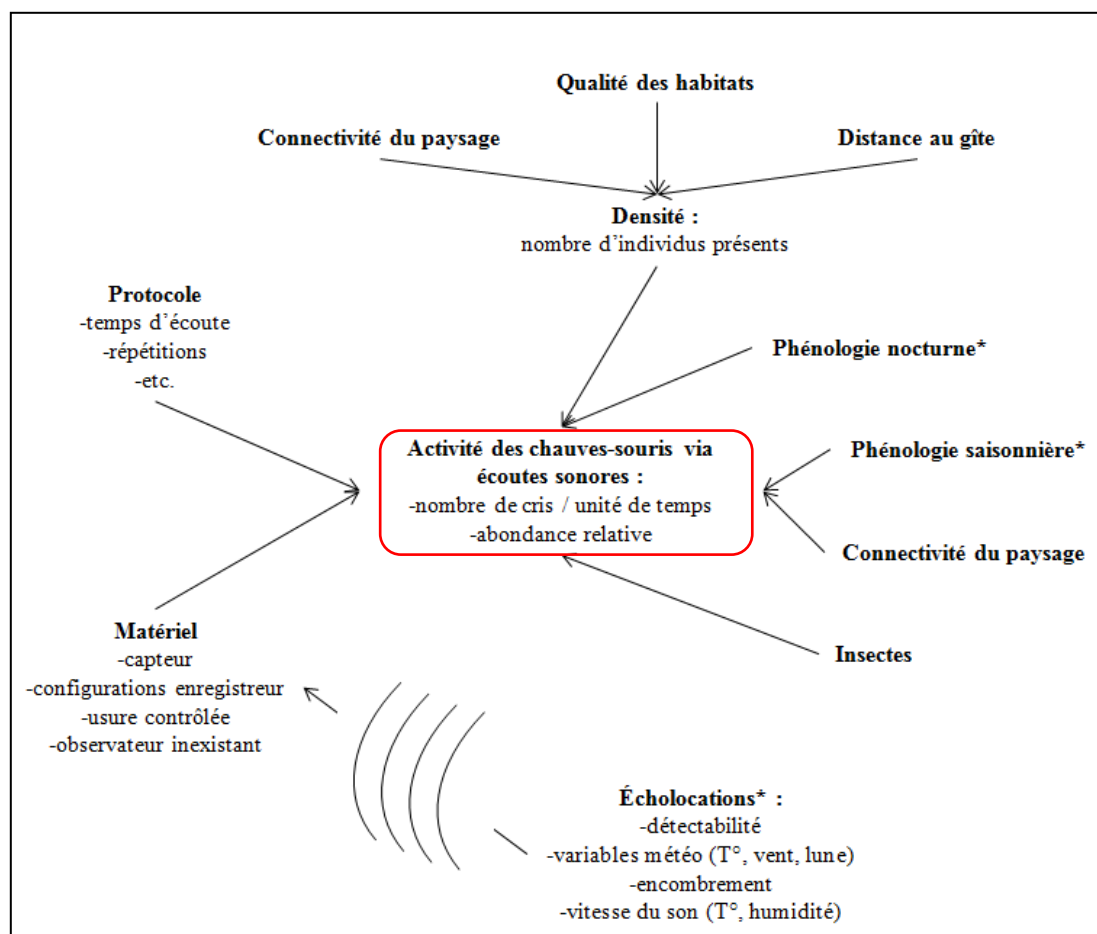


Figure 13 : Schéma expliquant comment l'activité des chauves-souris peut être influencée par plusieurs paramètres. *, biais pouvant être supprimés lors d'enregistrements simultanés

Bien que la PAM soit influencée par divers facteurs (Fig. 13), elle présente l'avantage d'éliminer, grâce à l'utilisation d'un capteur, beaucoup de biais, notamment les biais observateurs (Fig. 14) [c-a-d, incertitude sur les estimations (Erwin 1982; Cunningham *et al.* 1999; Diefenbach, Brauning & Mattice 2003; Frederick *et al.* 2003), l'expérience (Fitzpatrick *et al.* 2009), l'effet d'apprentissage (Kendall, Peterjohn & Sauer 1996; Jiguet 2009) et l'inclusion de leurs perceptions-représentations (Tuytens *et al.* 2014)]. De plus, les biais relatifs à la phénologie nocturne et saisonnière peuvent être éliminés lorsque plusieurs habitats sont échantillonnés simultanément (Fig. 13). Par ailleurs, la standardisation des paramètres au niveau national permet de rendre comparables les niveaux d'activités entre différents sites [disponibles sur le site Vigie-nature du Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN) (<https://vigienature.mnhn.fr/page/vigie-chiro.html>)].

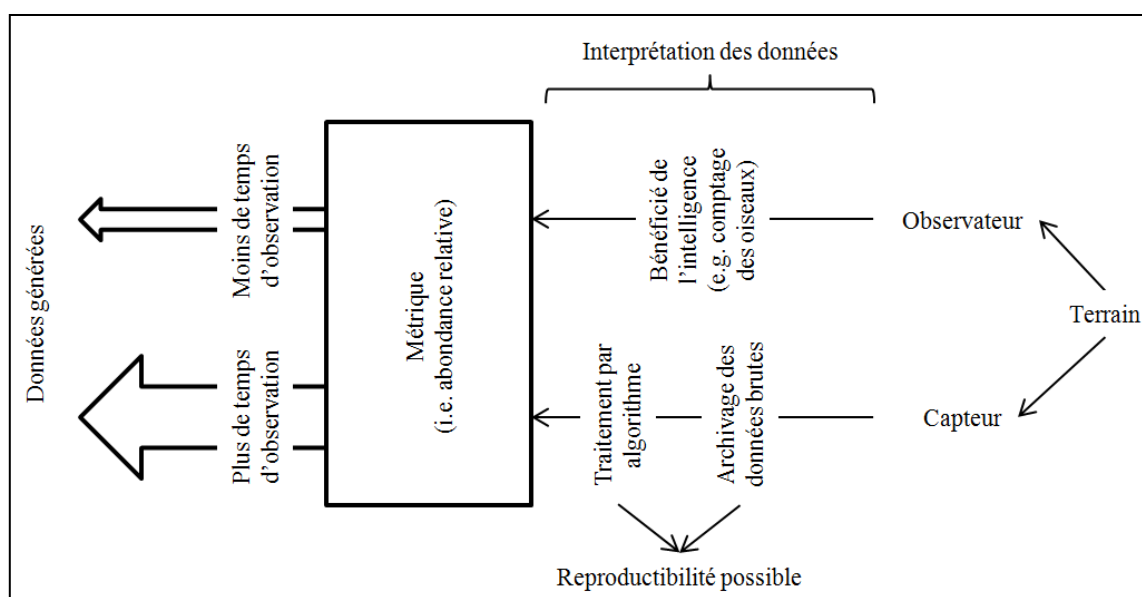


Figure 14 : Différences entre l'utilisation d'un capteur et un observateur concernant la récolte de données sur le terrain

La réduction drastique des coûts sur le matériel d'enregistrement ultrasonore (capteurs, capacité mémoire et vitesse de numérisation des cartes sons) a rendu, plus aisément, l'utilisation des inventaires chauves-souris par l'acoustique. Ceux-ci permettent désormais un d'enregistrement sur une large gamme de fréquence, pour la plupart de 8 kHz à + 96 kHz (couvrant ainsi l'ensemble des émissions ultrasonores émises par les chauves-souris lors de

leurs activité de déplacement et de chasse). La détection des sons dépend de la portée des cris d'écholocation des espèces (Barataud 2015), de la sensibilité du capteur et des paramétrages des enregistreurs (Fig. 15, page suivante) et dans une très faible mesure des caractéristiques de l'air (température, humidité) (Fig. 13). L'archivage des données brutes par la PAM est essentielle en terme de reproductibilité des analyses (Jeliazkov *et al.* 2016) mais également pour leur ré-exploitation en cas de doute sur l'identification ou d'évolution des connaissances sur les "signatures acoustiques" des espèces, notamment sur celles qui sont cryptiques comme la Pipistrelle commune et la Pipistrelle pygmée (Jones & Van Parijs 1993).

Néanmoins, la PAM génère énormément de données (Fig. 14). En effet, pour une nuit en un point donné il est aisé de produire des milliers fichiers. Pour illustrer ce propos, dans le cadre d'une de mes manipulation de terrain concernant l'effet des routes sur l'activité des chauves-souris (article 3), un total de 220 447 séquences de 5 secondes (soit 1 à 2 millions de cris) appartenant à des chauves-souris ont été enregistrés sur un total de 306 points d'échantillonnage. Afin d'aider l'utilisateur dans le traitement de ces séquences, des outils de reconnaissances automatiques ont alors été développés tels que le logiciel *Tadarida* (Toolbox for Animal Detection on Acoustic Recordings), via une série d'algorithmes (Fig. 15) (Bas, Bas & Julien 2017).

Bien que les logiciels traitent l'ensemble des séquences de plusieurs cris pour les étiqueter (c-a-d, assimilation à une espèce) tout en leur attribuant un score (c-a-d, probabilité de succès d'identification) (Fig. 14), il subsiste des taux d'erreur dans l'identification des espèces. Ces erreurs sont principalement liées au recouvrement acoustique interspécifique (Rydell *et al.* 2017). Toutefois, ces taux d'erreurs diffèrent en fonction des espèces et sont peu contexte-

dépendants contrairement par exemple à des observateurs sur un site pour lequel il existe deux effets confondus : expérience de l'observateur et caractéristique du site.

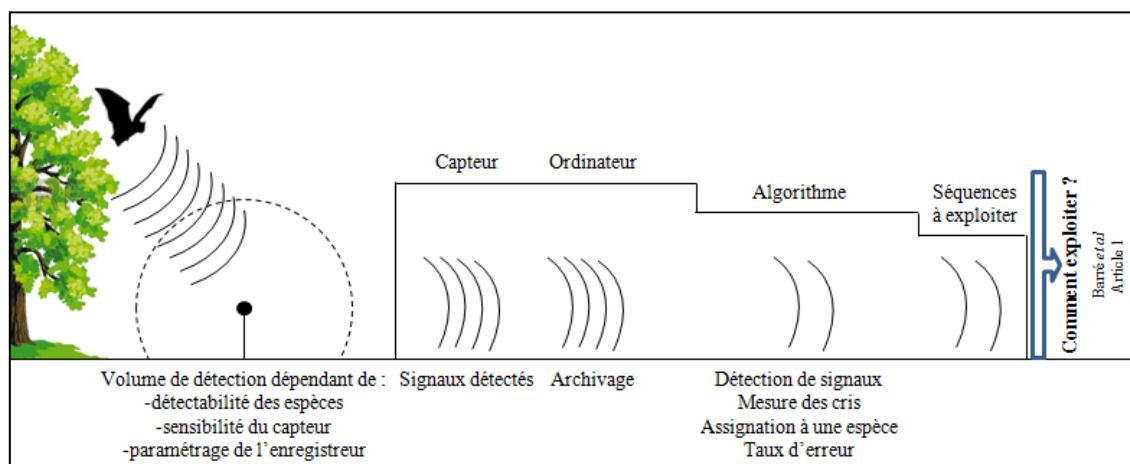


Figure 15 : Processus depuis la capture des signaux jusqu'au traitement

Au vu de ces erreurs résiduelles, il est alors nécessaire pour l'utilisateur de devoir vérifier les séquences, mais comment ? (Fig. 15). Plusieurs possibilités existent : (i) traiter les faux positifs (Banner *et al.* 2018), (ii) tout vérifier pour les espèces rares avec des signatures acoustiques faciles à identifier (article 2) et (iii) pour les espèces les plus abondantes et/ou avec des recouvrements acoustiques interspécifiques difficiles à identifier, vérifier un sous-échantillonnage stratifié des séquences sur le score obtenu (méthode actuellement utilisée en bureau d'études). Afin une vérification manuelle des séquences, nous avons développé une méthode standardisée qui permet d'exploiter le jeu de données récolté sur le terrain (articles 1 et 3).

1.2. Modélisation à partir des données issues de PAM

La PAM, lorsqu'elle est accompagnée d'un plan d'échantillonnage adapté, est également utilisée à des fins scientifiques, notamment en biologie de la conservation (articles 2, 3, 4 et 5), pour apporter des réponses concrètes de gestion du territoire et hors du cadre d'études réglementaires telles que l'étude des Trames Vertes et Bleues (TVB) à une échelle locale

(PLU, SCOT) ou régionale (SRCE) (article 2). Evaluer la connectivité paysagère pour identifier et protéger les corridors écologiques est devenu un défi crucial en écologie appliquée et en conservation (Allag-Dhuisme *et al.* 2010; Amsallem, Deshayes & Bonneville 2010). En effet, la fragmentation des habitats et l'isolement résultant des activités humaines ont été reconnus comme une grande menace pour les populations, y compris pour les chauves-souris. Apporter une meilleure compréhension de l'utilisation des éléments structurant les paysages, telles que les haies, pour les chauves-souris est un enjeu important (Frey-Ehrenbold *et al.* 2013; Lacoëuilhe *et al.* 2018). La PAM par la production de données récoltées sur le terrain peut répondre à cet enjeu et peut apporter une réelle plus-value par rapport aux autres méthodes qui sont basées sur les dires d'experts et/ou d'analyses cartographiques dans les outils d'aménagement du territoire. En effet, l'utilisation de ces données récoltées sur le terrain permet de donner de meilleures informations (Allag-Dhuisme *et al.* 2010) via par exemple, la modélisation.

La modélisation des connectivités équivaut par analogie, à un GPS indiquant à un automobiliste les chemins les plus rapides pour se rendre à sa destination en considérant par exemple la distance et la fluidité du trafic. La modélisation des connectivités écologiques peut potentiellement permettre la localisation et la qualité des corridors empruntés. Cette approche de modélisation reste cependant dépendante de l'adéquation des algorithmes utilisés par rapport à la question/modèle biologique et la qualité des données mobilisées pour le paramétrage. L'utilisation de ces outils de modélisation dans un cadre de prédiction des données (par exemple, l'activité de chasse d'une espèce sur un point non échantillonné) et d'extrapolation à l'échelle d'un paysage font actuellement débat. En effet, certaines études montrent des performances de prédiction assez médiocres (LaPoint *et al.* 2013) et la nécessité

de valider les modèles par des données indépendantes (c.-à-d., par un autre jeu de données que celui utilisé pour réaliser les analyses initiales) (Abrahms *et al.* 2017).

2. ORIENTATION DU CHAPITRE

Au cours de ma thèse, j'ai contribué au développement de méthodes robustes d'exploitation des données pour savoir s'il existe un effet des routes sur l'activité des chauves-souris (article 3) à deux niveaux :

- sur l'utilisation et l'analyse des données récoltées acoustiques de chauves-souris issues de la PAM à des fins de recherches appliquées (articles 1 et 3) ;
- l'utilisation de la modélisation spatiale comme outil prédictif (articles 2 et 3).

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Passive Acoustic Monitoring (PAM)

Comme vu précédemment, un traitement manuel des fichiers issus de PAM est possible uniquement pour les espèces rares et dont la signature acoustique est particulièrement spécifique tel que le Grand rhinolophe (article 2). Mais lorsque l'on s'intéresse à plusieurs espèces (article 3), le traitement manuel est impossible car cela est très chronophage à cause du nombre important de fichiers et du recouvrement acoustique interspécifique (Obrist, Boesch & Flückiger 2004; Wimmer *et al.* 2013; Froidevaux *et al.* 2014; Rydell *et al.* 2017).

En mobilisant l'algorithme de classification inclus dans le logiciel *Tadarida* (ici, le *random forest*) (Bas, Bas & Julien 2017), il est possible de tirer profit des scores associés (c-a-d, probabilité de succès d'identification) à chacune des identifications. Nous avons alors développé une méthode qui permet de modéliser le risque d'erreur pour chaque espèce en fonction du score produit par *Tadarida* à partir d'un sous-ensemble de vérifications manuelles considérées comme correctes (article 1). Cette méthode permet de trouver un compromis entre

le nombre de faux positifs et de faux négatifs. Toutefois, elle n'est applicable qu'à condition de réaliser un sous-ensemble de vérifications d'identification de son propre jeu de données [article 1, (Barré *et al.* 2018)].

Au cours de ma thèse, j'ai réutilisé cette méthode mais en l'appliquant à l'échelle nationale, c'est-à-dire, en utilisant les données issues du programme Vigie-chiro. C'est sur la base de 8 405 vérifications manuelles d'enregistrement de chauves-souris, auxquelles j'ai participé, que nous avons modélisé, par des régressions logistiques, la probabilité de succès de l'identification automatique en fonction du score de celle-ci. Ces données validées provenant équitablement de l'ensemble du territoire métropolitain français permettent alors d'obtenir pour chaque espèce le score requis pour un seuil de risque d'erreur donné (Fig 16 page suivante, exemple pour deux seuils de risque d'erreur : 50 % et 10 %). Ainsi, les seuils de risque d'erreur sont à distinguer du taux réel d'erreur d'identification des espèces qui constitue les faux positifs pouvant être contenu dans le seuil de risque d'erreur sélectionné. Dans le cadre de l'article 1, nous avons réalisé des Modèles Mixtes Linéaires Généralisés (GLMM) sur les données brutes et pour plusieurs seuils de risques d'erreurs (de 50 % à 10 %), modélisant la réponse des espèces à différentes variables environnementales d'intérêt pour les chauves-souris. Ceci permet d'étudier la variation de la réponse aux variables environnementales en fonction du risque d'erreur choisi.

3.2. Modélisation à partir des données issues de PAM

En réponse à une meilleure caractérisation des connectivités écologiques, nous nous sommes intéressés à une colonie de Grand rhinolophe. Pour ce faire, (i) nous avons estimé une probabilité de franchissement d'une trouée d'un élément linéaire (ex. : haies) grâce à la modélisation qui (ii) permet de définir un paramètre de friction au sein d'un paysage pour (iii)

prédire le degré de connectivité des paysages et ainsi (iv) visualiser les corridors potentiels en se basant sur des méthodes de connectivités tel que les chemins de moindres coûts (*Least Cost Path*, LCP) (article 2). Afin de connaître si nos outils étaient robustes, nous avons confronté nos résultats à deux jeux de données indépendants (l'un en acoustique et l'autre issu de radiopistage).

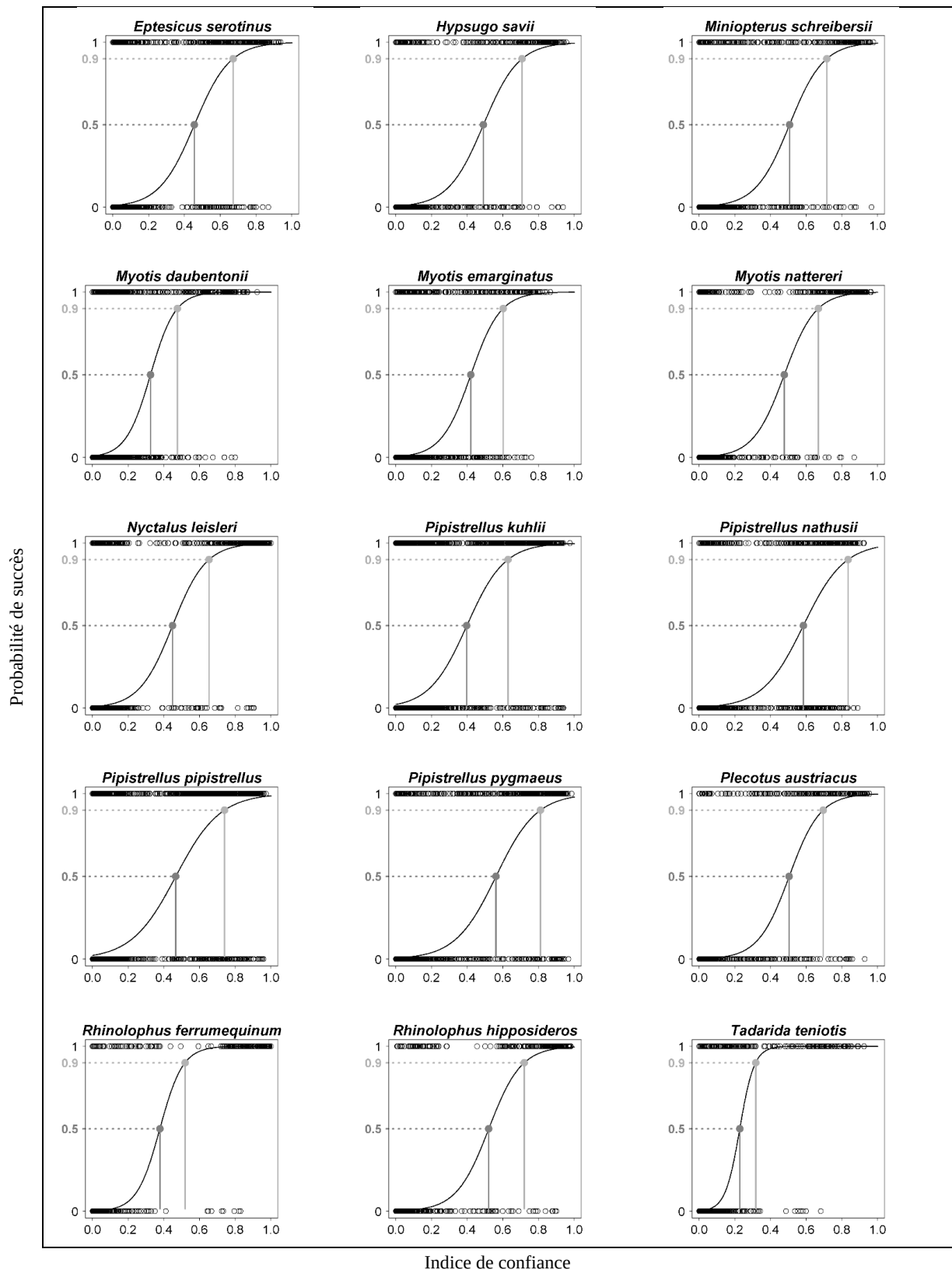


Figure 16 : Les lignes pointillées horizontales montrent les seuils de risque utilisés (0,5 et 0,9) et les lignes pleines verticales, les scores aux seuils de confiance
Chaque cercle ouvert représente une séquence de chauve-souris prenant une valeur de probabilité de réussite d'identification de 1 lorsqu'il est correctement identifié et 0 si mal identifié

4. PRINCIPAUX RESULTATS

4.1. Passive Acoustic Monitoring (PAM)

Les résultats (article 1) des GLMM sur les données brutes et pour différents seuils de risque d'erreur montrent que diminuer le risque d'erreur conduit à une limitation du nombre de faux positifs, mais que poussé à l'extrême, ceci peut conduire à l'élimination de plus de faux négatifs que de faux positifs ayant pour conséquence une perte de puissance statistique et d'effets significatifs (en particulier chez les espèces rares avec peu de données). Nous suggérons alors d'utiliser *a minima* le seuil de risque d'erreur de 50% car il est constitué l'équilibre entre faux positifs et faux négatif et il permet d'étudier les espèces rares. Par ailleurs, une inversion des effets a été constatée pour certaines espèces sur les données brutes. L'abaissement du seuil de risque d'erreur maximum à moins de 50 % ne change pas les résultats, et cause tout au plus une perte de significativité par manque de données. Pour les espèces ayant suffisamment de données : les résultats ne changent pas pour un risque d'erreur minimisé à 10 %.

4.2. Modélisation à partir des données issues de PAM

Les résultats (article 2) montrent que la probabilité de franchir une discontinuité décroît significativement avec la largeur de la trouée dans une haie. Cette diminution de la probabilité de franchir une haie est nette lorsque la trouée est inférieure à 38 m et la probabilité de franchissement est quasi nulle au-delà de 100 m (Fig. 17). A partir de ces résultats, il est possible de définir des distances maximales entre les haies à appliquer directement sur le terrain pour favoriser le déplacement des Grands rhinolophes et préserver ou recréer des corridors écologiques favorables.

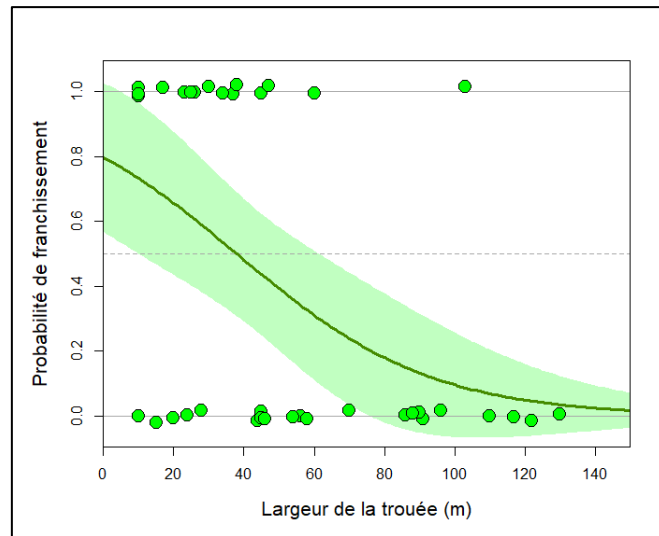


Figure 17 : Probabilité de franchissement d'une trouée en fonction de sa largeur. Les points verts réfèrent aux observations (un point par trouée, 0 : pas de franchissement ; 1 : franchissement). La ligne verte montre la modélisation de cette probabilité avec son intervalle de confiance à 95 %

Cette relation entre probabilité de franchissement et largeur de la trouée a été utilisée pour paramétrer la résistance du paysage. Les éléments structurant ce paysage à dominante agricole : haie, lisières forestières, bords des milieux urbains et vignes ont été préalablement numérisés. C'est cette matrice de perméabilité qui a été utilisée pour modéliser la connectivité (Fig. 18, gauche). Enfin, une analyse de chemin de moindre coût est appliquée à partir de la colonie, pour obtenir le coût cumulé pour chaque cellule de la carte (Fig. 18, droite).

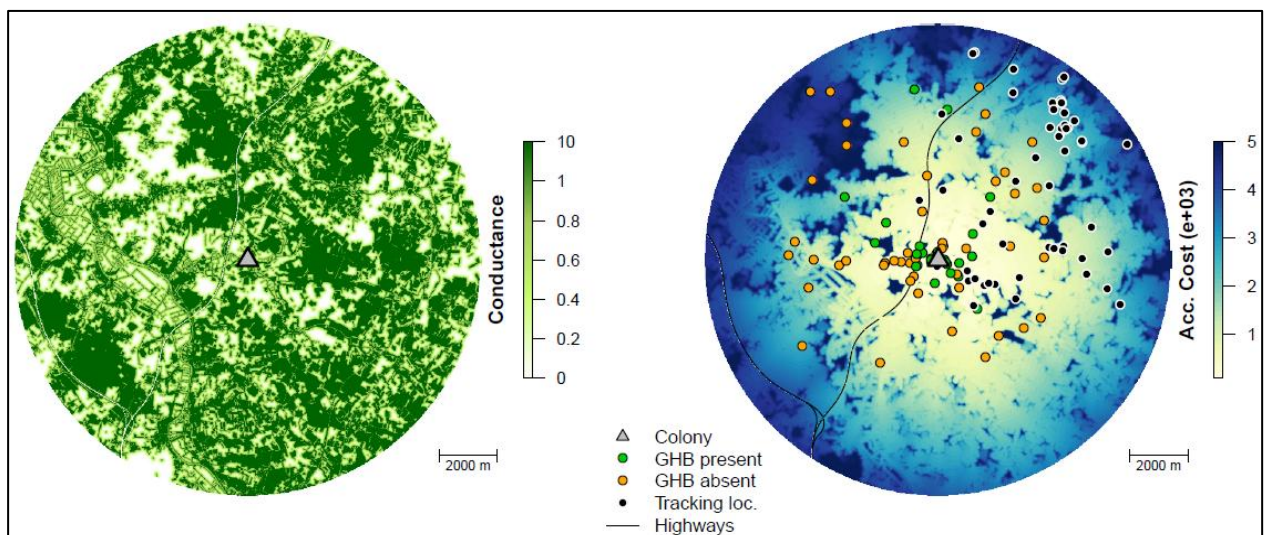


Figure 18 : Matrice de perméabilité (à gauche) et carte du coût cumulé de déplacement à partir de la colonie (à droite). Les points noirs donnent les localisations des femelles suivies en radiopistage. Les points verts/oranges la présence / l'absence de Grands rhinolophes lors d'enregistrements acoustiques passifs

5. DISCUSSION ET PERSPECTIVES

La méthodologie proposée dans l'article 1 permet de mobiliser des jeux de données conséquents provenant de PAM en optimisant l'effort dédié à la validation manuelle des identifications. Par ailleurs, cette méthode propose un taux d'erreur dans l'identification automatique sur des seuils objectifs. Ce compromis, qui se situe à un seuil de 50% de risque d'erreur permet (i) d'objectiver la sélection des données sur des grands jeux de données, raisonnablement peu traitable manuellement et (ii) d'étudier les espèces rares (c.-à-d., maintien d'un grand nombre de données). Ainsi, dans le cadre de cette thèse, les analyses ont été réalisées au seuil de risque d'erreur de 50 % et les résultats de ces analyses ont été vérifiés par un seuil de risque d'erreur minimaliste de 10 % (article 3).

Le principal objectif était de pouvoir fournir aux participants du programme Vigie-chiro (naturalistes, chercheurs, bureau d'études) des indications de seuils de risque à utiliser dans l'objectif de réaliser des analyses statistiques sans avoir à faire de vérifications manuelles sur leur jeu de données. Ainsi cette méthode peut également être utilisée dans le cadre d'études réglementaires et à des fins scientifiques (article 3). En effet, cela peut être le cas dans le cadre de dossiers réglementaires "éoliens" où le compromis entre effort d'échantillonnage et le gain d'information est recherché.

La méthodologie proposée dans l'article 2 permet de mobiliser des données récoltées sur le terrain grâce à la PAM via des outils de modélisation servant par exemple à des études de réseaux écologiques. Ces deux méthodes combinées apportent alors une application concrète directe pour les gestionnaires. En effet, il est possible de restaurer des corridors amenant à de potentiels nouveaux territoires de chasse en améliorant les connectivités écologiques.

ARTICLE N°1

**Robustness of using a semi-automatic method to account for
identification errors in bat acoustic surveys**

Kévin Barré^{1, 2}, Julie Pauwels¹, Isabelle Le Viol^{1, 2}, Jean-François Julien¹, Romain Julliard¹,
Fabien Claireau¹, Yves Bas^{1, 3}, Christian Kerbiriou^{1, 2}

¹ Muséum national d'Histoire naturelle, Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation,
UMR 7204 MNHN-CNRS-UPMC, 61 rue Buffon, 75005 Paris, France

² Muséum national d'Histoire naturelle, Station de Biologie Marine, 29900 Concarneau,
France

³ Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, UMR 5175, CNRS, 1919 route de Mende,
34293 Montpellier, France

Abstract

1. Halt threats on biodiversity and ecosystem services require large-scale and long-time studies which need to adapt monitoring methods for the understanding of biodiversity changes. Reduced costs of acoustic recorders and their huge increase of storage capacity resulted in an exponential development of Passive Acoustic Monitoring (PAM) of a very wide range of animals in a few years, in particular bats for which PAM constitutes a real efficient tool. PAM of bats lead to collect quickly a very large number of records, making manual identification increasingly time-consuming. To respond to PAM, methods for detecting sound events, extracting numerous features, and automatically identifying species have been developed. However, automatic identification can generate large rate of errors which could affect response of bats to environmental variables and pressures. This study propose a cautious method to account for identification errors in acoustic surveys without fully check records.

2. We proposed to check a representative sample of the outputs of Tadarida automatic identification software to then model the identification success probability of 10 species and 2 groups, according to the provided confidence index. We then investigated the effect of setting different Maximum error rate Tolerance (MERT) under which data should be discarded, by repeating a large-scale analysis of bat activity response to habitat variables, and checking for consistency in the results.

3. Main changes in model outputs occurred from naive (i.e. raw data) to robust analyses (i.e. MERT) with in some cases a loss of significance or an estimates inversion. Then, we did not detect major changes between 0.5, 0.4, 0.3, 0.2 and 0.1 rates of MERT, and response estimates and standard errors were highly stable.

4. We conclude that it was essential at least to sort out data with more than a 0.5 MERT to minimize the false positive rate. The method allowed to check the consistence of responses at

40 different MERT involving various balances between quantity and quality of data, in order to
41 enough minimize the MERT. This study provides new opportunities, starting with a time gain
42 in manual checking in experimental studies and allow to generalize large-scale monitoring of
43 bats improving knowledge.

44

45

Introduction

Despite some local successes and increasing responses, the rate of biodiversity loss does not appear to be slowing (Butchart et al., 2010), although halting this decline has been recognized as a crucial aim for humanity (Cardinale et al., 2012). In 2010, the 10th Conference of Parties to the Convention on Biological Diversity, adopted a new 2011–2020 global Strategic Plan for Biodiversity, in turn, EU launch a new Biodiversity Strategy (2011/2307). This strategy aims to halt biodiversity loss and the degradation of ecosystem services by 2020, restore ecosystems, and make a contribution to addressing global biodiversity loss. However to reach the target of reducing loss of biodiversity, the efforts undertaken by each country should be assessed, which in turn require large-scale and long-time studies which need to adapted monitoring methods for the understanding of biodiversity changes (Fisher, Frank, & Leggett, 2010). A significant increase of amount of information available on biodiversity is also needed to evaluate impact of various anthropogenic pressures.

Reduced costs of acoustic recorders and their huge increase of storage capacity resulted in an exponential development of Passive Acoustic Monitoring (PAM) of a very wide range of animals in a few years (Froidevaux, Zellweger, Bollmann, & Obrist, 2014; Kalan et al., 2015; Selby et al., 2016). Such approaches were widely used by researchers working for environmental consulting firms or government agencies (Adams, Jantzen, Hamilton, & Fenton, 2012). PAM is particularly adapted for cryptic taxa surveys such as nocturnal fauna (Delport, Kemp, & Ferguson, 2002; Newson, Evans, & Gillings, 2015; Jeliaskov et al., 2016), for the monitoring of pristine habitats difficult to access and survey by other approaches (Gasc, Sueur, Pavoine, Pellens, & Grandcolas, 2013). PAM have been mobilized, also, in citizen science programs (Newson, Woodburn, Noble, Baillie, & Gregory, 2005), a real efficient and essential tool in implementation of large-scale biodiversity monitoring (Newson

et al., 2015). Due to a recent exponential increase in the knowledge of acoustic identification of bat species (Russo & Jones, 2002; Obrist, Boesch, & Fluckiger, 2004; Barataud, 2015), PAM have recently been widely used by bat workers. However, PAM of bats lead to collect quickly a very large number of records, which in turn had involved changes in acoustic identification procedures: before this change, acoustic identifications were mainly performed manually with software allowing visualization of spectrogram. However, manual identification was indeed increasingly time-consuming. With the arrival in the market of such new generation of acoustic recorders affordable allowing to record several hours/days straight, such amount of acoustic data could not be deal with manual procedure (Bas, Bas, & Julien, 2017). To respond to these changes several reliable quantitative methods for detecting sound events, extracting numerous features, and automatically identifying species have been developed (Parsons & Jones, 2000; Britzke, Duchamp, Murray, Swihart, & Robbins, 2011; Adams et al., 2012; Bas et al., 2017). However, automatic identification software has recently been criticised because of significant error rates, suggesting a cautious and limited use (Russo & Voigt, 2016; Rydell, Nyman, Eklöf, Jones, & Russo, 2017). Most available softwares nonetheless provide confidence indexes in the form of probabilities or other numerical indexes (Obrist et al., 2004; Waters & Barlow, 2013), and their manuals do advocate on using confidence thresholds under which data should be discarded because of error risk, e.g. SonoChiro (Biotope, 2013) or BatClassify (Scott & Altringham, 2017). Thus, the correlation between error risk and confidence indexes is an important part of the automatic identification performance so far ignored by all previous methodological studies (Fritsch & Bruckner 2014; Rydell et al. 2017). Besides that, the level at which confidence thresholds should be set is unclear to most users, limiting the use of automatic identification in bat ecological studies. A too cautious threshold could indeed lead to high false negative rates whereas a not sufficiently cautious threshold could lead to high false positive rates. Both rates have different statistical

96 implications: false positive could lead to biases due to other species activity while false
97 negatives could lead to lack of power by discarding too much data. Given the fact that both
98 rates induce different caveats, there is no straightforward way to set confidence thresholds.
99 In this study, we proposed to check a representative sample of the outputs of Tadarida
100 automatic identification software to then model the identification success probability of 10
101 species and 2 groups, according to the provided confidence index (Bas et al., 2017). We then
102 investigated the effect of setting different maximum error rate tolerances (i.e. confidence
103 thresholds) under which data should be discarded, by first repeating a large-scale analysis of
104 bat activity response to habitat variables, and then checking for consistency in the results.

105

Materials and methods

Bat survey

Bat activity was sampled through recordings of echolocation calls on 337 points over 29 localities in northwest France (Fig. 1) dominated by agriculture (82%) and forest (11%) areas. Recordings were performed during 23 entire nights, from 30 minutes before sunset to 30 minutes after sunrise, from the 7th of September to the 8th of October 2016. Among the 23 nights, 14 were dedicated to the sampling of only one locality per night, while the other 9 nights allowed us to simultaneously sample 2 localities per night (these wind farm were in average 8.1 km distant). Standardized echolocation calls were recorded using one bat detector (Wildlife Acoustic SM2Bat+) per site. The detectors automatically recorded all ultrasounds using preconized settings of the French monitoring Vigie-Chiro (trigger level set to 6 db SNR; see for further details <http://vigienature.mnhn.fr/page/protocole-point-fixe>).

Step 1: semi-automated acoustic identification on a subset

We defined a bat activity metric (number of bat passes per night), where one bat pass was defined by a single or several echolocation calls during a 5 second interval which is a good compromise considering the mean duration of all bat species passes (Millon, Julien, Julliard, & Kerbiriou, 2015). The semi-automated identification process was performed in the step 1 in 2 parts (Fig. 1). In the first part, echolocation calls were detected and classified to the most accurate taxonomic level using the TADARIDA software (Bas et al., 2017) which allows to assign a species and a confidence index (between 0 and 1) to each recorded bat pass. In the second part, we randomly performed a double manual checking (KB and YB) of automatic identifications using BatSound© and Syrinx (John Burt, Seattle, WA, USA) software for each 0.1 class of confidence index at 10 species and 2 groups (*Myotis* and *Plecotus spp.*) levels. A

minimum of 25 bat passes per class of confidence index for each species and groups were checked, except for *Rhinolophus* species where all passes were checked thanks to the low total number. When the number of bat passes for a given species and confidence index class was <25, all passes were checked (Table 1). Groups were constructed because species were difficult to identify from each other, except one species of *Myotis* ssp., *Myotis nattereri*, for which echolocation calls are very characteristics (Obrist et al., 2004; Barataud, 2015).

Step 2: error risk modelling from the semi-automated identification

From previous manual checking (i.e. a random subset of the total dataset stratified per species and per confidence index classes), we performed generalized linear models between the success/fail of the automatic species assignation (here the response variable, a binomial variable) and the confidence index of the automatic identification (explanatory variable) (see step 2 in Fig. 1; Fig. 2). We selected the *probit* link which better fitted the binomial distribution of manual checking for all species/groups. This allowed to predict the needed confidence index from the automatic identification process to tolerate a given rate of maximum error rate: 0.5, 0.4, 0.3, 0.2 and 0.1 (Fig. 1; Table 2). Then, for each of these thresholds, we calculated the false negative and the false positive rates (Table 2).

Step 3: total dataset sorting and environmental variables modelling at different error risk thresholds

After the prediction of the needed confidence index to ensure a given maximum error rate in the automatic identification, we filtered the total dataset (i.e. including the checked and non-checked bat passes) on the 5 confidence index thresholds (see step 3 in Fig. 1; Fig. 3, Table 3). This filtering allowed to calculate for each thresholds on the total dataset the remaining number of bat passes, occurrences, and the expected real error rate (Table 3). In order to test if

the error rate in acoustic dataset affect the response of bats (estimates, standard errors and p-values) to the 5 tested environmental variables, we performed one generalized linear mixed model (GLMM, R package *lme4*) per threshold of maximum error rate (0.5, 0.4, 0.3, 0.2 and 0.1) using bat activity (number of bat passes) as response variables. As an indication of how the analysis would perform if no filtering of errors were done, a sixth GLMM was fitted to raw automatic identification data.

We included in each species GLMM the 5 environmental variables as fixed effects, scaling distance and length variables. According to the sampling design (i.e. 13-15 simultaneous recordings per night), we included the date as random effect to control for inter-night variations in weather conditions and landscape context. We applied a Poisson error or a Negative binomial distribution to GLMMs. We checked there were no multicollinearity problems performing variance inflation factors (VIF) using the *corvif* function (R package *AED*; Zuur et al. 2010) on each model. All variables showed a VIF value < 1.5, meaning there was no striking evidence of multicollinearity (Chatterjee & Hadi, 2006).

The 5 studied environmental variables are known as good predictors of bat activity: type of site i.e. hedgerow vs. open area habitat (respectively 207 sites on hedgerows and 130 in open areas located in average 86 m away from any hedgerow; Verboom & Huitema 1997; Lacoëuilhe et al. 2016), the distance in meters to forest (mean= 700; Standard Deviation=506; Boughey et al. 2011; Frey-Ehrenbold et al. 2013), the distance to urban (mean= 335; SD=170; Azam et al. 2016), the distance to wetland (mean=579; SD=363; Sirami et al. 2013; Santos et al. 2013) and the total length of hedgerows within a 1000 m radius (mean=3439; SD=1622; Verboom & Huitema 1997; Lacoëuilhe et al. 2016). The 4 quantitative environmental variables presented an important variability, and a similar gradient between sites located on hedgerows and those in open areas (Fig. S1).

180 This modelling allowed to check the response consistency of bats to environmental variables
181 in relation with the different thresholds of maximum error rate. To ensure there were no
182 acoustic biases in the bat responses, we tested the dependence of the automatic identification
183 efficiency (i.e. success/fail by manual checks) to the environmental variables, for species with
184 an enough error rate ($>10\%$; Table 1) to perform models. Only one environmental variable
185 (type of sites: hedgerow vs. open area) significantly affected the success probability of the
186 automatic identification for only one species, *Nyctalus noctula* ($P<0.001$; Table S1). Thus, for
187 this species the automatic identification was less efficient for sites located on hedgerows than
188 in open areas where calls are more steep and hard to identify (Obrist et al., 2004; Barataud,
189 2015).
190

Results

Semi-automated acoustic identification on a subset

Over the 23 complete nights sampled, 212 347 bat passes were recorded with 167 504 (79%) assigned to *Pipistrellus pipistrellus* 28 589 (13%) to *Pipistrellus kuhlii*, 6 430 (3%) to *Myotis spp.* and 5 835 (3%) to *Barbastella barbastellus* (Table 1). A total of 1910 bat passes over all classes of confidence index were manually checked (Table 1). Error rates varied a lot between species, from 0.0% for *Rhinolophus ferrumequinum* to 69.4% for *N. noctula* (Table 1). The most errors detected in manual checks concerned *N. noctula* confused with social calls of *P. pipistrellus* and non-bat noises, and *Pipistrellus nathusii* confused with *P. kuhlii*, *P. pipistrellus* and non-bat noises (Table S2).

Error risk modelling from the semi-automated identification

Successes and fails in the automatic identification noted by manual checks were modelled in relation to the confidence indexes provided by the software, allowing to predict the needed confidence index to ensure a given maximum error rate tolerance (Fig. 2). Confidence indexes corresponding to the maximum error rate rates (i.e. 0.5, 0.4, 0.3, 0.2 and 0.1) did not vary much for some species such as *B. barbastellus* (0.12-0.20), *Eptesicus serotinus* (0.18-0.29) and *Rhinolophus hipposideros* (0.39-0.45), and more for others, e.g. *Nyctalus leislerii* (0.29-0.59), *P. kuhlii* (0.16-0.44) and *Plecotus ssp.* (0.18-0.36) (Table 2). In addition, the needed confidence indexes to limit error risks were overall low for *B. barbastellus* (0.12-20), *E. serotinus* (0.18-0.29), *P. kuhlii* (0.16-0.44), *Plecotus ssp.* (0.18-0.36), *Myotis spp.* (0.21-0.42), and higher for *P. nathusii* (0.67-0.77) and *N. noctula* (0.51-0.61) (Table 2). A low maximum error rate tolerance allows to highly reduce the false positive rate (e.g. from 0.20 in raw data to 0.01 in data with a 0.1 maximum error rate for *Myotis spp.*), and even to

fully remove false positives (e.g. for *E. serotinus* and *N. leislerii* starting from the 0.1 and 0.2 rates of maximum error rate, respectively) (Table 2; Fig. 2). However, reduce the maximum error rate tolerance can also generate moderate to high false negative rates, such as for *E. serotinus* (0.15), *Myotis spp.* (0.28), *N. leislerii* (0.79), *N. noctula* (0.51), *P. kuhlii* (0.38) or *Plecotus spp.* (0.27) (Table 2; Fig. 2).

For *P. pipistrellus* errors were too rare to get a prediction of the confidence index for a maximum error rate higher than 0.1. For *P. nathusii*, the number of passes in high confidence indexes did not allowed to get a prediction of the needed confidence index for the 0.1 maximum error rate, and there were no errors for *R. ferrumequinum* preventing the error risk modelling. For all other species, it was however possible to select the part of the dataset satisfying the lowest maximum error rate tolerance (0.1).

Total dataset sorting and environmental variables modelling at different error risk thresholds
Sort out data at high confidence indexes, corresponding to low maximum error rate tolerances, can led to important losses of bat passes contained in lower confidence indexes, as well as for occurrences (Table 3). Indeed, for a changeover from a maximum error rate of 0.5 to 0.1, this implies e.g. a loss in the number of passes of 27.8% and a loss in the occurrence of 6.7% for the *Myotis spp.* group, respectively 82.1% and 10.7% for *N. leislerii* (Table 3). For other species, the number of bat passes and occurrences can be more stable despite the sorting out of data at maximum error rate thresholds, such as *B. barbastellus*, *E. serotinus*, *P. kuhlii*, *Plecotus spp.* and *R. hipposideros* (Table 3).

The sort out of data according to the maximum error rate tolerances also affect the expected real error rate. Indeed, at the higher maximum error rate (0.5), the expected real error rate is high for 3 species, *N. leislerii* (0.31), *N. noctula* (0.21) and *P. nathusii* (0.44); low (<10%) for *Myotis spp.* (0.09) and *Plecotus spp.* (0.08); and very low (<5%) for *B. barbastellus* (<0.01),

241 *E. serotinus* (0.02), *P. kuhlii* (0.03), *P. pipistrellus* (<0.01) *R. ferrumequinum* (0.00) and *R.*
 242 *hipposideros* (0.01) (Table 3). However, at the lower error risk (0.1), all species showed an
 243 error rate <0.05, except *N. leislerii* (0.08).
 244 To study the influence of these changes in amount of data, occurrences and error rates
 245 according to the error risk thresholds for which data are selected, a modelling of the bat
 246 response to environmental variables was performed at all thresholds. Main changes in model
 247 outputs occurred from naive (i.e. raw data) to robust analyses (i.e. thresholds of error risk)
 248 with a loss or gain of significance, for the open areas vs. hedgerows variable for *N. leislerii*,
 249 the distance to forest for *Myotis spp.* and *N. leislerii*, the length of hedgerows for *N. leislerii*
 250 and the distance to urban for *N. noctula* (Table 4). In addition, an estimate inversion in cases
 251 of significance for the open areas vs. hedgerows variable occurred for *N. noctula* and *P.*
 252 *nathusii* (Table 4). In all other cases, no major changes were noted either for significant or no
 253 significant variables (Table 4).
 254 Then, we did not detect major changes between the 0.5, 0.4, 0.3, 0.2 and 0.1 maximum error
 255 rates, with response estimates and standard errors highly stable (Table 4). In only two cases,
 256 we detected a loss of significance for *N. noctula* in lower maximum error rate than 0.2 and 0.3
 257 for the distance to forests and the length of hedgerows variables, respectively (Table 4).
 258 However, concerning these species, the open areas vs. hedgerows variable remains significant
 259 and highly stable at all thresholds (Table 4).
 260 All species had at least one significant habitat variable response over thresholds of maximum
 261 error rate tolerances, except *N. leislerii*. Hedgerows had significant higher number of bat
 262 passes than open areas for 7 species/groups (*B. barbastellus*, *Myotis nattereri*, *Myotis spp.*, *P.*
 263 *kuhlii*, *P. pipistrellus*, *Plecotus spp.* and *R. hipposideros*) and significant lower for 2
 264 species/groups (*N. noctula* and *P. nathusii*) (Table 4). We also found significant negative
 265 relationship between the number of bat passes and the distance to urban for 2 species/groups

266 (*E. serotinus* and *Plecotus spp.*; Table 4); a significant negative relationship with the distance
267 to forest for 2 species (*N. noctula* and *R. ferrumequinum*; Table 4); a significant negative
268 relationship with the distance to wetlands on *R. ferrumequinum* and the length of hedgerows
269 on *N. noctula*, *P. pipistrellus*, *R. ferrumequinum* (Table 4); as well as a significant positive
270 relationship with the distance to wetlands for *P. kuhlii* (Table 4).

271

Discussion

This study demonstrates that automatic acoustic identification of bats coupled to partial manual checking and error rate modelling (i.e. semi-automatic identification; Newson et al. 2015), is a key tool for knowledge improvements and the conservation of bats. Robust activity patterns could indeed be demonstrated even in cases where error rates were so far considered too high (Rydell et al. 2017). This new and robust framework takes advantage of confidence estimates provided by the automatic identification softwares, controlling error rate tolerance and checking for potential biases induced by identification errors.

Using confidence thresholds

To investigate the effect of the automatic identification errors on bat activity patterns, we studied the response of bat activity to several environmental variables known to impact bats. Most of the significant responses were, as expected, consistent with known patterns: open areas vs. hedgerows (Verboom & Huitema 1997; Lacoëuilhe et al. 2016), forest (Boughey et al., 2011; Frey-Ehrenbold et al., 2013), urban (Mckinney, 2005; Jung & Threlfall, 2016) and wetlands (Santos et al., 2013; Sirami et al., 2013).

The comparison between the analyses conducted on raw data (i.e. no sort out of data) and based on maximum error rate tolerances (i.e. sort out of data to minimize the error rate) showed however some discrepancies, with sometimes opposed significant responses, such as the effect of open areas vs. hedgerows variable on *N. noctula* and *P. nathusii*. This demonstrates that analyses conducted on raw automatic identification of data could be severely biased. In this way sort out data with high error risks is essential, in accordance with concerns expressed by Russo & Voigt (2016), and thus it is indispensable to use a semi-automatic process (Newson et al. 2015).

297 Quite logically these biases due to false positives seem to impact mostly uncommon species
298 which are acoustically close to commoner ones. Here the most impacted species is *P. nathusii*
299 which suffer of a high false positive rate due to the local abundance of *P. kuhlii* and *P.*
300 *pipistrellus*. Consequently, an analysis conducted on raw automatic identification data for this
301 species seems to be completely driven by the response of the two other Pipistrelles.
302 However, we also shown that 15 of the 18 significant activity responses at the 0.5 maximum
303 error rate tolerance were very consistent and highly stable while reducing the error risk
304 tolerance to 0.1 (Table 4). Among the three exceptions, one response did not change much in
305 magnitude but lost significance: the distance to forest for *N. noctula* (Table 4). Concerning the
306 second exception, the magnitude of the response of *N. noctula* to the length of hedgerows did
307 not change until the 0.3 error risk tolerance, but decrease then disappear at the 0.2 and 0.1
308 tolerances, respectively. Similarly, this response lost significance starting from the 0.3 error
309 risk tolerance (Table 4). The response of these two exceptions were relatively weak compared
310 to open vs. hedgerow responses, thus this discrepancy among error tolerance thresholds is
311 more likely due to a lack of statistical power in dataset sorted on low error tolerances than any
312 source of bias in higher tolerances. Indeed, major changes in these two responses occurred at
313 the 0.2 and 0.1 error risk tolerances for which the number of passes as well as the occurrences
314 were very weak and divided by 2 compared to the 0.5 tolerance (Table 3). This shows that
315 using a cautious threshold minimising false positive rates may prevent to detect subtle
316 patterns. The last exception concern *P. nathusii* for which no analysis could be conducted for
317 low error tolerances because all bat passes suffered of relatively high error risk due to
318 commoner *Pipistrellus* species (see above). However, the fact that the positive response of *P.*
319 *nathusii* to open areas vs. hedgerows was opposite to the two other species plead for a genuine
320 pattern rather than a biased one, but this response should be more cautiously interpreted than
321 other species response that were consistent with varying error risk tolerances.

Survey recommendations and limitations

This method propose a cautious method to account for identification errors in acoustic surveys, without fully check records, which aim to study the response bats in relation to environmental variables, anthropic pressures or temporal monitoring.

The maximum error rate tolerance of 0.5 is a threshold containing the minimum error rate, with an equilibrate balance between false negatives and false positives. However, false positives could more likely produce biases because their rate is strongly driven by the activity pattern of other species. In contrast, the maximum error rate tolerance of 0.1 minimise the false positive rate, but at the cost of discarding a lot of false negatives. Rather than looking for a possible optimal thresholds, our results suggest to systematically check the consistence of responses considering at least two thresholds (e.g. 0.5 and 0.1), in order to check the robustness of the obtained results and go to conclusive interpretation only when these are consistent.

A lack of consistency is particularly expected for rare species with very low abundances/occurrences (e.g. *Nyctalus spp.* in this study) and for uncommon species which are acoustically close to commoner ones such as *P. nathusii* here. For these species, either systematic manual checking or important improvement of automatic identification efficiency is needed to conduct robust analyses. However, our framework of error risk modelling is already sufficient to effectively identify these problematic species and should prevent automatic identification users to draw non robust conclusions.

This method can be applied to any ecological studies with standardized sampling but, of course, cannot help for surveys where no error could be tolerated, e.g. inventories, species distribution modelling or environmental impact assessment (Russo & Voigt 2016). However, in that case, the automatic identification indicate what bat passes to manually check in order

to identify species presence at the site scale, selecting passes having best confidence indexes and thus saving time to the user.

Conclusions and perspectives

Despite concerns emitted by Rydell et al. (2017) about global error rates in automatic identification restricting their use, this study shows that it is possible to account for these errors by using the provided confidence index of identification reliability in order to model the error risk. This allowed to check consistence of responses at different maximum error rate tolerances involving a trade-off between quantity and quality of acoustic data.

This process, named semi-automatic identification (Newson et al. 2015), is a key tool for knowledge improvements and the conservation of bats. Such a method indeed allows to use bat acoustic data containing false positive passes, checking potential influence of error rates on the response of bat activity to various factors such as environmental variables, anthropic pressures or temporal monitoring. A crucial advantage is that manually checking of a relatively small subset of bat passes ($< 1\%$) is sufficient to assess analysis robustness regarding error rates. This is especially true given that checking all data is very time-consuming and virtually impossible for such a large dataset.

Thus, this study provides new opportunities, starting with a time gain in manual checking in experimental studies. This also allows to widely generalize large-scale monitoring of bats improving knowledge on so far unknown ecological patterns (Newson et al. 2015). Current context with the recent development of citizen science programs is particularly favourable to the deployment of such large-scale acoustic monitoring, and could make it possible to study very important concerns such as population trends (Barlow et al., 2015; Jeliaskov et al., 2016), thus having an important implication for conservation of bats.

Acknowledgements

This work was supported by DIM ASTREA grants from Region Ile- de- France. We sincerely thank Agrosolutions for funding field study fees.

Author's contribution

KB, CK and YB conceived the ideas, KB designed the methodology and collected the data; KB and YB manually checked bat passes, KB analysed the data, KB and JP wrote the R scripts; all authors led the writing of the manuscript. All authors critically contributed to the drafts and gave their final approval for publication.

Data accessibility

All R codes and data used in the study will be available from Dryad Digital Repository.

References

- Adams, A. M., Jantzen, M. K., Hamilton, R. M., & Fenton, M. B. (2012). Do you hear what I hear? Implications of detector selection for acoustic monitoring of bats. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(6), 992–998. doi:10.1111/j.2041-210X.2012.00244.x
- Azam, C., Le Viol, I., Julien, J. F., Bas, Y., & Kerbiriou, C. (2016). Disentangling the relative effect of light pollution, impervious surfaces and intensive agriculture on bat activity with a national-scale monitoring program. *Landscape Ecology*, 31(10), 2471–2483. doi:10.1007/s10980-016-0417-3
- Barataud, M. (2015). *Ecologie acoustique des chiroptères d'Europe, identification des espèces, étude de leurs habitats et comportements de chasse* (Biotope Ed).
- Barlow, K. E., Briggs, P. a, Haysom, K. a, Hutson, a M., Lechiara, N. L., Racey, P. a, ... Langton, S. D. (2015). Citizen science reveals trends in bat populations : The National Bat Monitoring Programme in Great Britain. *Biological Conservation*, 182, 14–26. doi:10.1016/j.biocon.2014.11.022
- Bas, Y., Bas, D., & Julien, J. (2017). Tadarida : A Toolbox for Animal Detection on Acoustic Recordings. *Journal of Open Research Software*, 5(6), 1–8. doi:https://doi.org/10.5334/jors.154
- Biotope. (2013). Manual of SonoChiro 3.0. Retrieved 24 April 2018, from http://www.leclub-biotope.com/index.php?controller=attachment&id_attachment=13
- 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(9), 2300–2310. doi:10.1016/j.biocon.2011.06.008
- Britzke, E. R., Duchamp, J. E., Murray, K. L., Swihart, R. K., & Robbins, L. W. (2011). Acoustic identification of bats in the eastern United States: A comparison of parametric

411 and nonparametric methods. *Journal of Wildlife Management*, 75(3), 660–667.
 412 doi:10.1002/jwmg.68

413 Butchart, S. H. M., Walpole, M., Collen, B., van Strien, A., Scharlemann, J. P. W., Almond,
 414 R. E. A., ... Watson, R. (2010). Global Biodiversity: Indicators of Recent Declines.
 415 *Science*, 328(5982), 1164–1168. doi:10.1126/science.1187512

416 Cardinale, B. J., Duffy, J. E., Gonzalez, A., Hooper, D. U., Perrings, C., Venail, P., ...
 417 Naeem, S. (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 489(7415),
 418 326–326. doi:10.1038/nature11373

419 Chatterjee, S., & Hadi, A. S. (2006). *Regression analysis by example* (5th ed.). John Wiley &
 420 Sons, Inc. doi:10.1002/0470055464

421 Delport, W., Kemp, A. C., & Ferguson, J. W. H. (2002). Vocal identification of individual
 422 African Wood Owls *Strix woodfordii*: A technique to monitor long-term adult turnover
 423 and residency. *Ibis*, 144(1), 30–39. doi:10.1046/j.0019-1019.2001.00019.x

424 Fisher, J. A. D., Frank, K. T., & Leggett, W. C. (2010). Dynamic macroecology on ecological
 425 time-scales. *Global Ecology and Biogeography*, 19(1), 1–15. doi:10.1111/j.1466-
 426 8238.2009.00482.x

427 Frey-Ehrenbold, A., Bontadina, F., Arlettaz, R., & Obrist, M. K. (2013). Landscape
 428 connectivity, habitat structure and activity of bat guilds in farmland-dominated matrices.
 429 *Journal of Applied Ecology*, 50(1), 252–261. doi:10.1111/1365-2664.12034

430 Fritsch, G., & Bruckner, A. (2014). Operator bias in software-aided bat call identification.
 431 *Ecology and Evolution*, 4(13), 2703–2713. doi:10.1002/ece3.1122

432 Froidevaux, J. S. P., Zellweger, F., Bollmann, K., & Obrist, M. K. (2014). Optimizing passive
 433 acoustic sampling of bats in forests. *Ecology and Evolution*, 4(24), 4690–4700.
 434 doi:10.1002/ece3.1296

435 Gasc, A., Sueur, J., Pavoine, S., Pellens, R., & Grandcolas, P. (2013). Biodiversity Sampling

436 Using a Global Acoustic Approach: Contrasting Sites with Microendemics in New
 437 Caledonia. *PLoS ONE*, 8(5). doi:10.1371/journal.pone.0065311

438 Jeliaskov, A., Bas, Y., Kerbiriou, C., Julien, J. F., Penone, C., & Le Viol, I. (2016). Large-
 439 scale semi-automated acoustic monitoring allows to detect temporal decline of bush-
 440 crickets. *Global Ecology and Conservation*, 6, 208–218.
 441 doi:10.1016/j.gecco.2016.02.008

442 Jung, K., & Threlfall, C. (2016). Urbanization and its effect on bats: a global meta-analysis.
 443 In: Kingston T, Voigt C (eds) Bats in the anthropocene: conservation of bats in a
 444 changing world. (Springer, pp. 13–33).

445 Kalan, A. K., Mundry, R., Wagner, O. J. J., Heinicke, S., Boesch, C., & Kühl, H. S. (2015).
 446 Towards the automated detection and occupancy estimation of primates using passive
 447 acoustic monitoring. *Ecological Indicators*, 54, 217–226.
 448 doi:10.1016/j.ecolind.2015.02.023

449 Lacoëuilhe, A., Machon, N., Julien, J. F., & Kerbiriou, C. (2016). Effects of hedgerows on
 450 bats and bush crickets at different spatial scales. *Acta Oecologica*, 71, 61–72.
 451 doi:10.1016/j.actao.2016.01.009

452 Mckinney, M. L. (2005). Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biological*
 453 *Conservation*, 127(3), 247–260. doi:10.1016/j.biocon.2005.09.005

454 Millon, L., Julien, J.-F., Julliard, R., & Kerbiriou, C. (2015). Bat activity in intensively
 455 farmed landscapes with wind turbines and offset measures. *Ecological Engineering*, 75,
 456 250–257. doi:10.1016/j.ecoleng.2014.11.050

457 Newson, S. E., Evans, H. E., & Gillings, S. (2015). A novel citizen science approach for
 458 large-scale standardised monitoring of bat activity and distribution, evaluated in eastern
 459 England. *Biological Conservation*, 191, 38–49. doi:10.1016/j.biocon.2015.06.009

460 Newson, S. E., Woodburn, R. J. W., Noble, D. G., Baillie, S. R., & Gregory, R. D. (2005).

- Evaluating the Breeding Bird Survey for producing national population size and density estimates. *Bird Study*, 52(1), 42–54. doi:10.1080/00063650509461373
- Obrist, M. K., Boesch, R., & Fluckiger, P. F. (2004). Variability in echolocation call design of 26 Swiss bat species: consequences, limits and options for automated field identification with a synergetic pattern recognition approach. *Mammalia*, 68(4), 307–322. doi:10.1515/mamm.2004.030
- Parsons, S., & Jones, G. (2000). Acoustic identification of twelve species of echolocating bat by discriminant function analysis and artificial neural networks. *The Journal of Experimental Biology*, 203(Pt 17), 2641–2656. doi:10.1007/s00114-005-0622-4
- Russo, D., & Jones, G. (2002). Identification of twenty-two bat species (Mammalia: Chiroptera) from Italy by analysis of time-expanded recordings of echolocation calls. *Journal of Zoology*, 258(1), S0952836902001231. doi:10.1017/S0952836902001231
- Russo, D., & Voigt, C. C. (2016). The use of automated identification of bat echolocation calls in acoustic monitoring: A cautionary note for a sound analysis. *Ecological Indicators*, 66, 598–602. doi:10.1016/j.ecolind.2016.02.036
- Rydell, J., Nyman, S., Eklöf, J., Jones, G., & Russo, D. (2017). Testing the performances of automated identification of bat echolocation calls: A request for prudence. *Ecological Indicators*, 78, 416–420. doi:10.1016/j.ecolind.2017.03.023
- Santos, H., Rodrigues, L., Jones, G., & Rebelo, H. (2013). Using species distribution modelling to predict bat fatality risk at wind farms. *Biological Conservation*, 157, 178–186. doi:10.1016/j.biocon.2012.06.017
- Scott, C., & Altringham, J. (2017). BatClassify. Retrieved 24 April 2018, from <https://bitbucket.org/chrisScott/batclassify>
- Selby, T. H., Hart, K. M., Fujisaki, I., Smith, B. J., Pollock, C. J., Hillis-Starr, Z., ... Oli, M. K. (2016). Can you hear me now? Range-testing a submerged passive acoustic receiver

486 array in a Caribbean coral reef habitat. *Ecology and Evolution*, 6(14), 4823–4835.
 487 doi:10.1002/ece3.2228
 488 Sirami, C., Steve, D., & Cumming, G. S. (2013). Artificial wetlands and surrounding habitats
 489 provide important foraging habitat for bats in agricultural landscapes in the Western
 490 Cape , South Africa. *Biological Conservation*, 164, 30–38.
 491 doi:10.1016/j.biocon.2013.04.017
 492 Verboom, B., & Huitema, H. (1997a). The importance of linear landscape elements for the
 493 pipistrelle *Pipistrellus pipistrellus* and the serotine bat *Eptesicus serotinus*. *Landscape*
 494 *Ecology*, 12(2), 117–125. doi:10.1007/BF02698211
 495 Verboom, B., & Huitema, H. (1997b). The importance of linear landscape elements for the
 496 pipistrelle *Pipistrellus pipistrellus* and the serotine bat *Eptesicus serotinus*. *Landscape*
 497 *Ecology*, 12(2), 117–125. doi:10.1007/BF02698211
 498 Waters, D., & Barlow, K. (2013). Bat detectors: past, present and future. *British Wildlife*, 87,
 499 86–92.
 500 Zuur, A., Ieno, E., & Elphick, C. (2010). A protocol for data exploration to avoid common
 501 statistical problems. *Methods in Ecology and Evolution*, 1(1), 3–14. doi:10.1111/j.2041-
 502 210X.2009.00001.x
 503
 504

505 Table 1. Total bat passes assigned to each species by the automatic identification per
506 confidence index classes, number of bat passes manually double checked and errors noted.
507 See Table S2 for species composition in errors.

Species	Upper limits of confidence index classes of the automatic identification										Total
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	
<i>Barbastella barbastellus</i>											
Total passes	3	52	144	242	297	671	940	1312	1596	578	5835
Checked passes	3	25	25	25	25	25	25	25	25	25	228
Errors	3	5	1	0	0	0	0	0	0	0	3.9 %
<i>Eptesicus serotinus</i>											
Total passes	1	55	102	149	268	461	218	79	10	0	1343
Checked passes	1	25	25	25	25	25	25	25	9	0	185
Errors	1	13	7	0	0	0	0	0	0	0	11.4 %
<i>Myotis nattereri</i>											
Total passes	9	166	211	223	225	411	269	180	247	47	1988
Checked passes	9	9	3	6	8	2	2	10	23	25	97
Errors	8	5	1	2	1	0	0	0	0	0	17.5 %
<i>Myotis spp</i>											
Total passes	20	534	815	770	701	1708	1132	445	258	47	6430
Checked passes	20	25	25	25	25	25	25	25	25	25	245
Errors	19	14	6	6	4	0	0	0	0	0	20.0 %
<i>Nyctalus leislerii</i>											
Total passes	3	47	41	33	11	8	9	1	0	0	153
Checked passes	3	25	25	25	11	8	9	1	0	0	107
Errors	2	16	14	13	4	0	0	0	0	0	45.8 %
<i>Nyctalus noctula</i>											
Total passes	0	113	110	82	24	43	16	6	1	0	395
Checked passes	0	25	25	25	24	25	16	6	1	0	147
Errors	0	25	23	24	23	7	0	0	0	0	69.4 %
<i>Pipistrellus kuhlii</i>											
Total passes	12	223	401	667	1142	4026	6654	10222	5240	2	28589
Checked passes	12	25	25	25	25	25	25	25	25	2	214
Errors	11	10	8	4	2	2	1	0	0	0	17.8 %
<i>Pipistrellus nathusii</i>											
Total passes	0	12	33	37	93	183	153	61	5	0	577
Checked passes	0	12	25	25	25	25	25	25	5	0	167
Errors	0	11	20	20	19	17	15	9	1	0	67.1 %
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>											
Total passes	2	303	760	1636	3298	8311	14221	27205	83744	28024	167504
Checked passes	2	25	25	25	25	25	25	25	25	25	227
Errors	1	2	0	1	1	0	0	1	0	0	2.6 %
<i>Plecotus spp</i>											
Total passes	8	139	176	194	174	250	206	145	56	4	1352
Checked passes	8	30	26	25	28	25	25	25	25	4	221
Errors	5	19	8	2	1	1	0	0	0	0	16.3 %
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>											
Total passes	0	0	0	0	1	6	5	28	1	0	41
Checked passes	0	0	0	0	1	6	5	28	1	0	41
Errors	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0 %
<i>Rhinolophus hipposideros</i>											
Total passes	0	1	1	10	8	16	26	62	4	0	128
Checked passes	0	1	1	10	8	16	26	62	4	0	128
Errors	0	1	1	7	1	0	0	0	0	0	7.8 %

508

509 Table 2. Minimum needed confidence index provided by the automatic identification to
 510 ensure a given rate of maximum error rate tolerance (0.5, 0.4, 0.3, 0.2 and 0.1), and
 511 corresponding false negative and false positive rates in the manually checked subset (1910 bat
 512 passes; steps 1 and 2 in the Fig. 1).

Species	Maximum error rate tolerance					
	Raw data	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
<i>Barbastella barbastellus</i>						
Confidence index	/	0.119	0.133	0.148	0.167	0.195
False negative rate	0.000	0.009	0.018	0.027	0.046	0.087
False positive rate	0.039	0.023	0.023	0.023	0.014	0.005
<i>Eptesicus serotinus</i>						
Confidence index	/	0.180	0.200	0.221	0.246	0.285
False negative rate	0.000	0.049	0.073	0.079	0.098	0.152
False positive rate	0.114	0.066	0.044	0.032	0.020	0.000
<i>Myotis nattereri</i>						
Confidence index	/	0.229	0.271	0.317	0.373	0.458
False negative rate	0.000	0.063	0.088	0.088	0.125	0.175
False positive rate	0.175	0.051	0.052	0.039	0.014	0.015
<i>Myotis spp.</i>						
Confidence index	/	0.212	0.250	0.291	0.341	0.416
False negative rate	0.000	0.071	0.112	0.153	0.194	0.281
False positive rate	0.200	0.081	0.074	0.057	0.042	0.014
<i>Nyctalus leislerii</i>						
Confidence index	/	0.286	0.342	0.402	0.476	0.587
False negative rate	0.000	0.328	0.500	0.569	0.621	0.793
False positive rate	0.458	0.316	0.256	0.138	0.000	0.000
<i>Nyctalus noctula</i>						
Confidence index	/	0.507	0.527	0.548	0.574	0.613
False negative rate	0.000	0.111	0.156	0.222	0.422	0.511
False positive rate	0.694	0.111	0.026	0.028	0.037	0.000
<i>Pipistrellus kuhlii</i>						
Confidence index	/	0.164	0.216	0.272	0.341	0.444
False negative rate	0.000	0.051	0.097	0.153	0.233	0.375
False positive rate	0.178	0.130	0.091	0.057	0.049	0.035
<i>Pipistrellus nathusii</i>						
Confidence index	/	0.668	0.756	0.853	0.971	/
False negative rate	0.000	0.582	0.800	1.000	1.000	1.000
False positive rate	0.671	0.395	0.154	/	/	/
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>						
Confidence index	/	0.000	0.000	0.000	0.000	0.096
False negative rate	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
False positive rate	0.026	0.026	0.026	0.026	0.026	0.022
<i>Plecotus spp.</i>						
Confidence index	/	0.184	0.217	0.253	0.298	0.364
False negative rate	0.000	0.065	0.092	0.130	0.168	0.265
False positive rate	0.163	0.070	0.056	0.047	0.025	0.022
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>						
Confidence index	/	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
False negative rate	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
False positive rate	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Rhinolophus hipposideros</i>						
Confidence index	/	0.385	0.398	0.411	0.427	0.452
False negative rate	0.000	0.017	0.025	0.025	0.025	0.051
False positive rate	0.078	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009

513

514 Table 3. Changes in the number of bat passes, the occurrence (presence rate among sites) and
515 the expected error rate across the maximum error rate tolerances, calculated from a sorting of
516 the total dataset (212 347 bat passes) on corresponding minimum needed confidence indexes
517 presented in Table 2 (step 3 in the Figure 1).

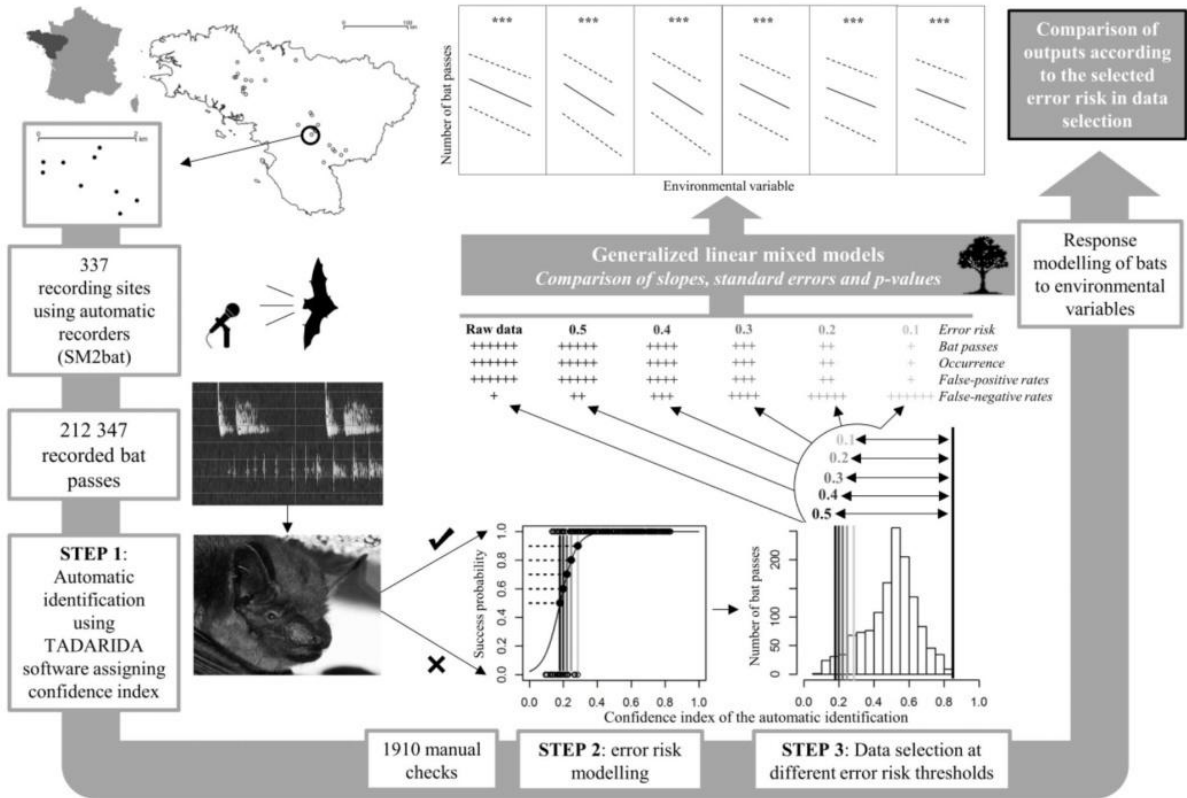
Species	Maximum error rate tolerance					
	Raw data	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
<i>Barbastella barbastellus</i>						
No. of bat passes	5835	5828	5824	5822	5809	5787
Occurrences	0.694	0.694	0.694	0.694	0.694	0.694
Error rate	0.003	0.002	0.002	0.002	0.001	0.001
<i>Eptesicus serotinus</i>						
No. of bat passes	1343	1297	1287	1273	1255	1205
Occurrences	0.373	0.339	0.336	0.333	0.324	0.312
Error rate	0.044	0.022	0.019	0.015	0.012	0.006
<i>Myotis nattereri</i>						
No. of bat passes	1986	1759	1659	1562	1436	1239
Occurrences	0.688	0.648	0.624	0.609	0.578	0.529
Error rate	0.136	0.081	0.064	0.049	0.034	0.021
<i>Myotis spp.</i>						
No. of bat passes	6428	5783	5483	5135	4747	4173
Occurrences	0.798	0.792	0.786	0.774	0.765	0.716
Error rate	0.145	0.092	0.073	0.054	0.038	0.024
<i>Nyctalus leisleri</i>						
No. of bat passes	153	67	43	28	22	12
Occurrences	0.211	0.138	0.104	0.070	0.055	0.031
Error rate	0.502	0.305	0.222	0.149	0.115	0.075
<i>Nyctalus noctula</i>						
No. of bat passes	395	61	50	41	29	22
Occurrences	0.220	0.080	0.067	0.058	0.046	0.040
Error rate	0.850	0.212	0.158	0.120	0.066	0.042
<i>Pipistrellus kuhlii</i>						
No. of bat passes	28588	28456	28305	28077	27737	26854
Occurrences	0.899	0.899	0.890	0.884	0.881	0.875
Error rate	0.033	0.030	0.028	0.026	0.023	0.019
<i>Pipistrellus nathusii</i>						
No. of bat passes	577	101	18	0	0	0
Occurrences	0.404	0.116	0.031	0.000	0.000	0.000
Error rate	0.623	0.437	0.370	/	/	/
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>						
No. of bat passes	167503	167503	167503	167503	167503	167502
Occurrences	0.954	0.954	0.954	0.954	0.954	0.954
Error rate	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007
<i>Plecotus spp.</i>						
No. of bat passes	1352	1229	1185	1129	1034	909
Occurrences	0.615	0.599	0.596	0.596	0.584	0.544
Error rate	0.128	0.079	0.065	0.051	0.034	0.019
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>						
No. of bat passes	41	41	41	41	41	41
Occurrences	0.046	0.046	0.046	0.046	0.046	0.046
Error rate	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Rhinolophus hipposideros</i>						
No. of bat passes	128	117	116	116	116	113
Occurrences	0.113	0.107	0.104	0.104	0.104	0.104
Error rate	0.078	0.011	0.007	0.007	0.007	0.003

518

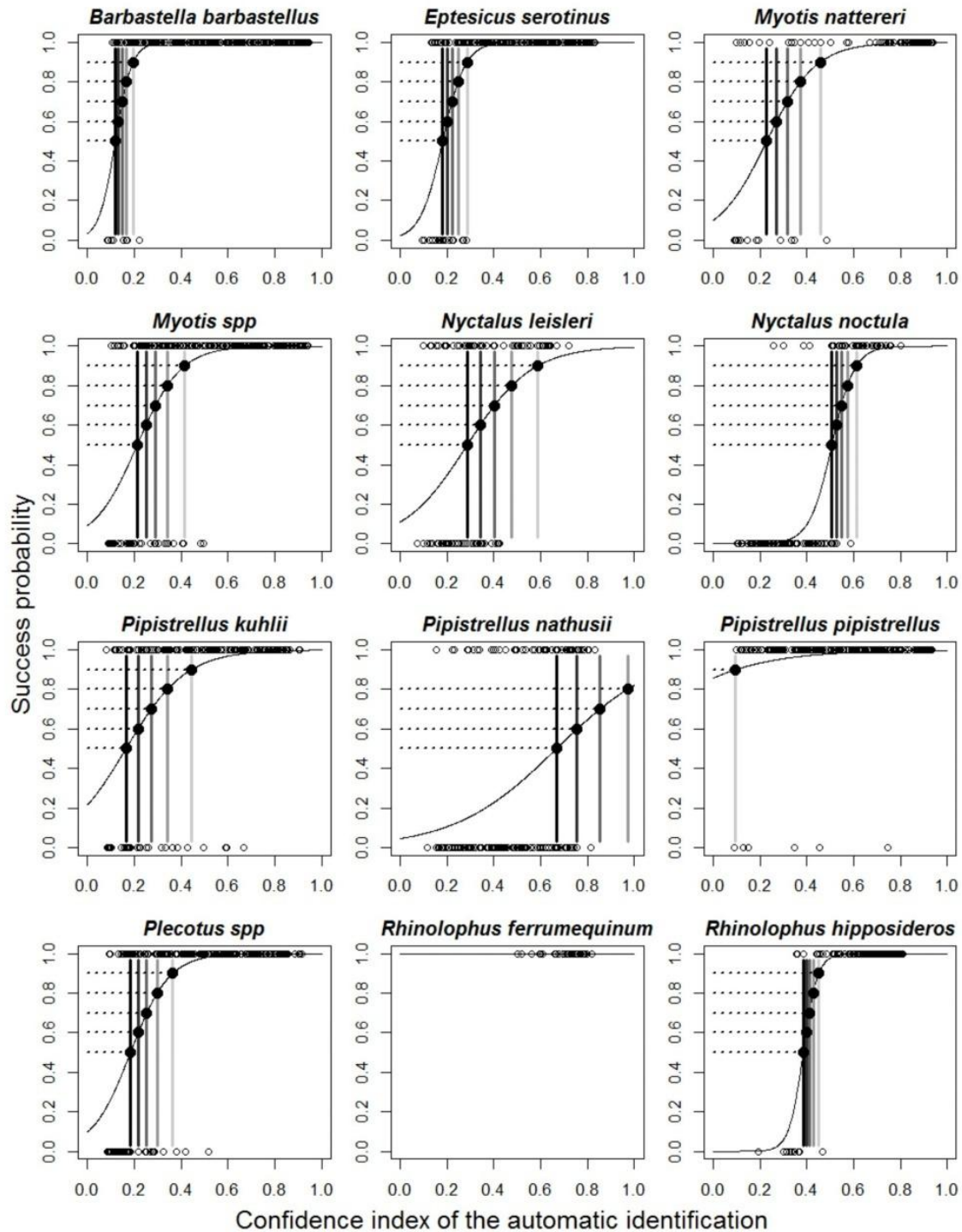
519 Table 4. Species response to environmental variables (estimates, standard errors and p-values)
 520 according to the error risk tolerances (***) $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, . $P < 0.1$).

Species	Environmental variables	Maximum error rate tolerance					
		Raw data	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
<i>Barbastella barbastellus</i>	Open areas vs. hedgerows	-2.81±0.24 ***	-2.81±0.24 ***	-2.81±0.24 ***	-2.81±0.24 ***	-2.81±0.24 ***	-2.81±0.24 ***
	Dist. to forest	0.08±0.12	0.08±0.13	0.08±0.13	0.08±0.13	0.08±0.13	0.08±0.13
	Dist. to wetland	-0.03±0.12	-0.03±0.12	-0.03±0.12	-0.03±0.12	-0.03±0.12	-0.04±0.12
	Dist. to urban	0.01±0.1	0.01±0.1	0.01±0.1	0.01±0.1	0.01±0.1	0.02±0.1
	Length of hedgerows	0.17±0.12	0.17±0.12	0.17±0.12	0.17±0.12	0.17±0.12	0.17±0.12
<i>Eptesicus serotinus</i>	Open areas vs. hedgerows	-0.57±0.38	-0.43±0.4	-0.44±0.4	-0.45±0.41	-0.43±0.42	-0.35±0.42
	Dist. to forest	-0.07±0.23	-0.15±0.24	-0.15±0.25	-0.16±0.25	-0.15±0.25	-0.13±0.26
	Dist. to wetland	0.08±0.19	0.12±0.2	0.12±0.2	0.12±0.2	0.12±0.21	0.08±0.21
	Dist. to urban	-0.7±0.19 ***	-0.8±0.21 ***	-0.79±0.21 ***	-0.78±0.21 ***	-0.77±0.21 ***	-0.77±0.22 ***
	Length of hedgerows	0.2±0.23	0.2±0.24	0.21±0.24	0.21±0.24	0.19±0.25	0.16±0.25
<i>Myotis nattereri</i>	Open areas vs. hedgerows	-1.16±0.21 ***	-1.14±0.22 ***	-1.12±0.23 ***	-1.05±0.23 ***	-1.01±0.24 ***	-1.03±0.27 ***
	Dist. to forest	0.16±0.13	0.13±0.13	0.14±0.13	0.15±0.14	0.1±0.14	0.11±0.15
	Dist. to wetland	0.17±0.11	0.21±0.12 .	0.23±0.12 .	0.24±0.12 .	0.22±0.13 .	0.21±0.13
	Dist. to urban	0.07±0.1	0.08±0.11	0.09±0.11	0.11±0.12	0.11±0.12	0.13±0.13
	Length of hedgerows	0.18±0.12	0.22±0.13 .	0.24±0.13 .	0.27±0.14 .	0.32±0.14 *	0.3±0.16 .
<i>Myotis spp</i>	Open areas vs. hedgerows	-1.66±0.19 ***	-1.64±0.19 ***	-1.6±0.19 ***	-1.55±0.19 ***	-1.54±0.19 ***	-1.61±0.26 ***
	Dist. to forest	0.24±0.12 *	0.22±0.12 .	0.22±0.12 .	0.22±0.12 .	0.22±0.13 .	0.20±0.13
	Dist. to wetland	0.1±0.1	0.11±0.11	0.1±0.11	0.11±0.11	0.1±0.11	0.10±0.11
	Dist. to urban	-0.07±0.09	-0.08±0.09	-0.08±0.1	-0.06±0.1	-0.05±0.1	-0.03±0.1
	Length of hedgerows	0.13±0.12	0.15±0.12	0.15±0.12	0.17±0.12	0.18±0.12	0.21±0.13
<i>Nyctalus leisleri</i>	Open areas vs. hedgerows	-0.8±0.22 ***	-0.26±0.29	-0.23±0.35	0.43±0.4	0.69±0.45	1.1±0.64
	Dist. to forest	0.34±0.13 **	0.16±0.17	0.21±0.21	0.08±0.26	0.14±0.28	0.49±0.35
	Dist. to wetland	0.07±0.1	-0.09±0.15	-0.02±0.19	-0.12±0.26	-0.21±0.3	-0.17±0.42
	Dist. to urban	-0.1±0.1	-0.19±0.15	-0.01±0.18	0.08±0.23	0.23±0.26	0.43±0.35
	Length of hedgerows	0.35±0.12 **	0.23±0.16	0.23±0.21	0.27±0.25	0.28±0.29	0.22±0.41
<i>Nyctalus noctula</i>	Open areas vs. hedgerows	-1.19±0.17 ***	1.46±0.31 ***	1.7±0.36 ***	1.83±0.4 ***	1.37±0.44 **	1.28±0.49 *
	Dist. to forest	-0.55±0.11 ***	-0.68±0.23 **	-0.66±0.26 *	-0.7±0.29 *	-0.26±0.32	-0.12±0.35
	Dist. to wetland	-0.07±0.06	0.02±0.18	0.16±0.21	0.25±0.24	0.3±0.27	0.34±0.34
	Dist. to urban	0.25±0.07 ***	-0.07±0.18	-0.1±0.21	-0.12±0.23	-0.01±0.25	-0.04±0.29
	Length of hedgerows	0.34±0.08 ***	0.43±0.21 *	0.49±0.25 *	0.52±0.28 .	0.16±0.31	-0.03±0.36
<i>Pipistrellus kuhlii</i>	Open areas vs. Hedgerows	-1.98±0.26 ***	-1.98±0.26 ***	-1.98±0.27 ***	-1.98±0.27 ***	-1.98±0.27 ***	-1.98±0.27 ***
	Dist. to forest	0.09±0.13	0.09±0.13	0.09±0.13	0.09±0.14	0.09±0.14	0.1±0.14
	Dist. to wetland	0.25±0.13 *	0.25±0.13 *	0.26±0.13 *	0.25±0.13*	0.26±0.13*	0.26±0.13*
	Dist. to urban	0.07±0.13	0.07±0.13	0.07±0.13	0.08±0.13	0.08±0.13	0.08±0.13
	Length of hedgerows	0.07±0.15	0.06±0.15	0.06±0.15	0.06±0.15	0.06±0.15	0.06±0.15
<i>Pipistrellus nathusii</i>	Open areas vs. Hedgerows	-0.37±0.24	1.02±0.38 **	2.57±0.84 **	/	/	/
	Dist. to forest	0.1±0.16	0.28±0.23	0.81±0.46 .	/	/	/
	Dist. to wetland	0.06±0.13	0.02±0.2	0.53±0.42	/	/	/
	Dist. to urban	-0.05±0.13	0.09±0.21	0±0.44	/	/	/
	Length of hedgerows	0.11±0.16	0.42±0.24 .	0.88±0.54	/	/	/
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	Open areas vs. Hedgerows	-2.87±0.19 ***	-2.87±0.19 ***	-2.87±0.19 ***	-2.87±0.19 ***	-2.87±0.19 ***	-2.87±0.19 ***
	Dist. to forest	0.13±0.13	0.13±0.13	0.13±0.13	0.13±0.13	0.13±0.13	0.13±0.13
	Dist. to wetland	0.04±0.11	0.04±0.11	0.04±0.11	0.04±0.11	0.04±0.11	0.04±0.11
	Dist. to urban	-0.13±0.1	-0.13±0.1	-0.13±0.1	-0.13±0.1	-0.13±0.1	-0.13±0.1
	Length of hedgerows	0.35±0.12 **	0.35±0.12 **	0.35±0.12 **	0.35±0.12 **	0.35±0.12 **	0.35±0.12 **
<i>Plecotus spp.</i>	Open areas vs. Hedgerows	-0.91±0.19 ***	-0.85±0.19 ***	-0.87±0.19 ***	-0.87±0.19 ***	-0.85±0.19 ***	-0.79±0.2 ***
	Dist. to forest	0.08±0.12	0.1±0.12	0.11±0.12	0.1±0.12	0.09±0.12	0.08±0.13
	Dist. to wetland	-0.16±0.11	-0.14±0.11	-0.15±0.11	-0.15±0.11	-0.14±0.11	-0.17±0.12
	Dist. to urban	-0.25±0.1 **	-0.25±0.1 *	-0.26±0.1 **	-0.25±0.1 **	-0.25±0.1 *	-0.23±0.1 *
	Length of hedgerows	0.1±0.12	0.09±0.12	0.09±0.12	0.08±0.12	0.11±0.12	0.11±0.13
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	Open areas vs. Hedgerows	0.26±0.39	0.26±0.39	0.26±0.39	0.26±0.39	0.26±0.39	0.26±0.39
	Dist. to forest	0.74±0.25 **	0.74±0.25 **	0.74±0.25 **	0.74±0.25 **	0.74±0.25 **	0.74±0.25 **
	Dist. to wetland	-1.2±0.29 ***	-1.2±0.29 ***	-1.2±0.29 ***	-1.2±0.29 ***	-1.2±0.29 ***	-1.2±0.29 ***
	Dist. to urban	-0.21±0.26	-0.21±0.26	-0.21±0.26	-0.21±0.26	-0.21±0.26	-0.21±0.26
	Length of hedgerows	0.83±0.29 **	0.83±0.29 **	0.83±0.29 **	0.83±0.29 **	0.83±0.29 **	0.83±0.29 **
<i>Rhinolophus hipposideros</i>	Open areas vs. Hedgerows	-3.08±0.74 ***	-2.92±0.73 ***	-2.92±0.74 ***	-2.92±0.74 ***	-2.92±0.74 ***	-2.89±0.73 ***
	Dist. to forest	0.09±0.3	-0.47±0.36	-0.5±0.37	-0.5±0.37	-0.5±0.37	-0.51±0.36
	Dist. to wetland	-0.33±0.26	-0.45±0.26 .	-0.49±0.27 .	-0.49±0.27 .	-0.49±0.27 .	-0.46±0.28 .
	Dist. to urban	-0.18±0.26	-0.17±0.26	-0.14±0.27	-0.14±0.27	-0.14±0.27	-0.15±0.27
	Length of hedgerows	0.03±0.3	0.06±0.3	0.07±0.3	0.07±0.3	0.07±0.3	0.08±0.3

Fig. 1. Schematic and chronological representation of the steps used to study the relationship between the automatic identification errors in acoustic data and the bat activity response to environmental variables.

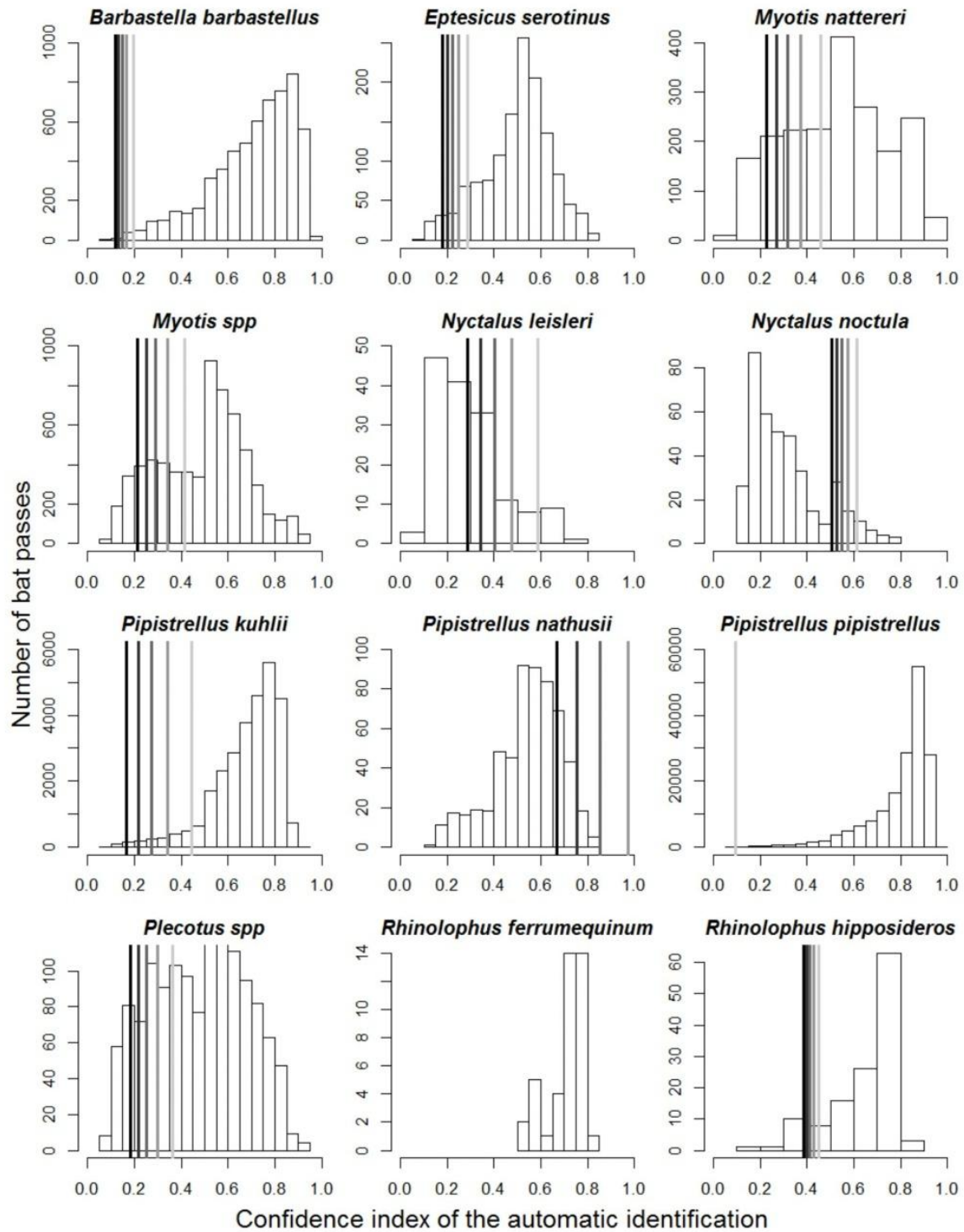


527 Fig. 2. Logistic regressions between the success probability and the confidence index of the
 528 automatic identification. The success probability was predicted from a subset manually
 529 checked assigning a success or fail of the automatic identification. Horizontal dotted lines
 530 show error risk probabilities (0.5, 0.4, 0.3, 0.2 and 0.1) used as threshold to select data in the
 531 total dataset above to the corresponding confidence indexes (vertical lines).



532

533 Fig. 3. Number of bat passes in the total dataset according to confidence index of the
 534 automatic identification. Vertical lines show the threshold above which data were selected to
 535 ensure a given rate of maximum error rate tolerance (from black to grey: 0.5, 0.4, 0.3, 0.2 and
 536 0.1).



537

Appendix

Fig. S1. Boxplots of the tested continuous variables according to the type of sampling sites (hedgerows or open areas).

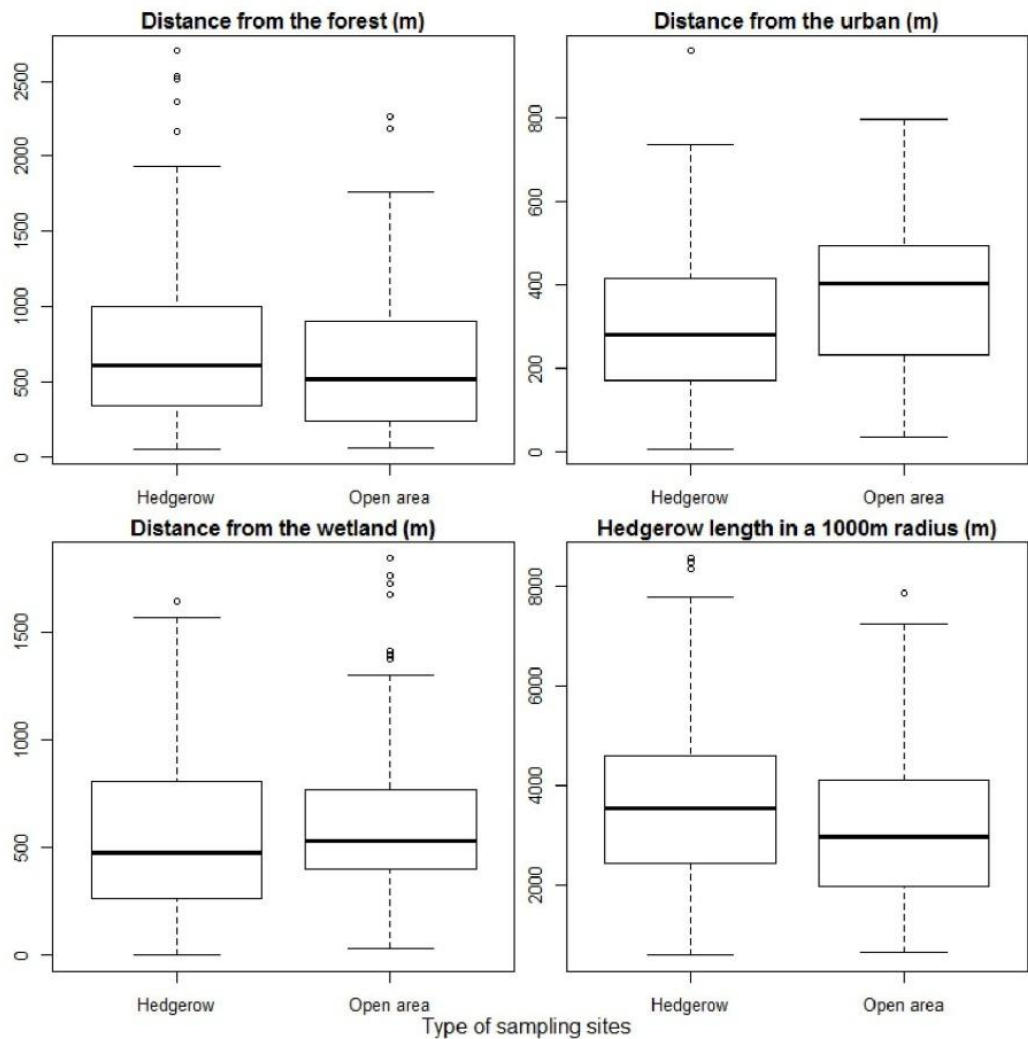


Table S1. Estimates (β) and p-values (significant values are in bold) of the test of the dependence of the automatic identification efficiency (i.e. success/fail by manual checks) to the environmental variables, for species with an enough error rate (>10%; see Table 1).

Species	Environmental variables									
	Forest		Urban		Wetland		Hedgerows		Type of site	
	β	P-value	β	P-value	β	P-value	β	P-value	β	P-value
<i>Eptesicus serotinus</i>	-0.561	0.513	-0.171	0.829	-0.499	0.664	0.202	0.834	3.929	0.442
<i>Myotis nattereri</i>	-0.312	0.785	0.767	0.636	0.162	0.890	0.192	0.872	1.322	0.721
<i>Myotis spp.</i>	-0.002	0.995	0.579	0.190	0.147	0.749	0.159	0.807	1.604	0.220
<i>Nyctalus leisleri</i>	-0.139	0.746	0.967	0.115	-0.059	0.901	0.103	0.815	3.102	0.059
<i>Nyctalus noctula</i>	0.859	0.507	0.290	0.714	-0.139	0.909	-0.335	0.766	18.167	0.000
<i>Pipistrellus kuhlii</i>	-0.595	0.412	0.101	0.909	0.486	0.565	0.721	0.442	0.033	0.987
<i>Pipistrellus nathusii</i>	0.351	0.413	0.005	0.987	-0.782	0.066	1.036	0.056	-0.464	0.582
<i>Plecotus spp.</i>	0.169	0.634	-0.055	0.858	0.262	0.372	-0.163	0.607	-0.211	0.789

Table S2. Species composition of detected errors in automatic identification from manual checking (Barbar: *Barbastella barbastellus*; Eptser: *Eptesicus serotinus*; Myosp: *Myotis spp.*; Nyclei: *Nyctalus leisleri*; Nynoc: *Nyctalus noctula*; Pipkuh: *Pipistrellus kuhlii*; Pipnat: *Pipistrellus nathusii*; Pippip: *Pipistrellus pipistrellus*; Plesp: *Plecotus spp.*; Rhifer: *Rhinolophus ferrumequinum*; Rhihip: *Rhinolophus hipposideros*).

Automatically identified species	Species composition of detected errors in the automatic identification													Total
	Barbar	Eptser	Myonat	Myosp	Nyclei	Nynoc	Pipkuh	Pipnat	Pippip	Plesp	Rhifer	Rhihip	Non-bat	
Barbar		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	8	9
Eptser	1		0	2	0	0	7	0	0	2	0	0	9	21
Myonat	2	1		/	0	0	3	0	1	0	0	0	10	17
Myosp	9	3	/		0	0	8	0	9	2	0	0	18	49
Nyclei	0	2	0	0		1	2	0	3	3	0	0	38	49
Nynoc	0	0	0	0	1		0	0	54	0	0	0	47	102
Pipkuh	6	3	0	4	0	0		2	8	0	0	0	15	38
Pipnat	0	0	0	0	0	0	63		40	0	0	0	9	112
Pippip	0	0	0	1	0	0	0	1		0	0	0	4	6
Plesp	10	4	0	1	0	0	3	0	6		0	0	12	36
Rhifer	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0
Rhihip	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		10	10

ARTICLE N°2

Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance

David Pinaud¹  | Fabien Claireau^{2,3,4}  | Maxime Leuchtmann⁵ |
Christian Kerbiriou^{2,6} 

¹Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, UMR7372 CNRS, Université La Rochelle, Villiers-en-Bois, France; ²Center for Ecology and Conservation Sciences, UMR7204 MNHN-CNRS-UPMC-Sorbonne Université, National Museum of Natural History, Paris, France; ³Zoology Institute and Museum, University of Greifswald, Greifswald, Germany; ⁴Naturalia Environnement, Avignon, France; ⁵Nature Environnement 17, Surgères, France and ⁶Biological Marine Station, National Museum of Natural History, Concarneau, France

Correspondence

David Pinaud, Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, UMR7372 CNRS/Université La Rochelle, 405 route de Prissé-la-Charrière, 79360 Villiers-en-Bois, France.
Email: pinaud@cebc.cnrs.fr

Funding information

"LISEA biodiversité" Foundation; Agence Nationale de la Recherche; "Contrat-Plan Etat-Région 2015-2020, Région Poitou-Charentes" ECONAT program; Naturalia Environment; Agence National de la Recherche et de la Technologie

Handling Editor: Matthew Struebig

Abstract

1. Habitat fragmentation and isolation as a result of human activities have been recognized as great threats to population viability. Evaluating landscape connectivity in order to identify and protect linkages has therefore become a key challenge in applied ecology and conservation.
2. One useful approach to evaluate connectivity is least-cost path (LCP) analysis. However, several studies have highlighted importance of parameterization with empirical, biologically relevant proxies of factors affecting movements as well as the need to validate the LCP model with an independent dataset.
3. We used LCP analysis incorporating quantitative, empirical data about behaviour of the greater horseshoe bat *Rhinolophus ferrumequinum* to build up a model of functional connectivity in relation to landscape connecting features. We then validated the accumulated costs surface from the LCP model with two independent datasets; one at an individual level with radiotracking data and one at a population level with acoustic data.
4. When defining resistance, we found that the probability of bat presence in a hedgerow is higher when the distance between hedgerows is below 38 m, and decrease rapidly when gaps are larger than 50 m. The LCP model was validated by both datasets: the independent acoustic data showed that the probability of bat presence was significantly higher in areas with lower accumulated costs, and the radiotracking data showed that foraging was more likely in areas where accumulated costs were significantly lower.
5. *Synthesis and applications.* Through our modelling approach, we recommend a maximum of 38 m (and no more than 50 m) between connecting features around colonies of greater horseshoe bats. Our quantitative study highlights the value of this framework for conservation: results are directly applicable in the field and the framework can be applied to other species sensitive to habitat loss, including other bats. Provided that it is parameterized with empirical, biologically relevant

data, this modelling approach can be used for restoring and evaluating green networks in agri-environmental schemes and management plans.

KEYWORDS

acoustic monitoring, bats, corridor, fragmentation, gap-crossing, landscape connectivity, least-cost modelling, *Rhinolophus ferrumequinum*

1 | INTRODUCTION

Habitat fragmentation induced by human activities has been recognized as a great threat for population viability (Kareiva, 1987; Quinn & Harrison, 1988), leading to immediate and time-delayed biodiversity loss (Krauss et al., 2010) and biotic homogenization (Clavel, Julliard, & Devictor, 2011). In order to mitigate these impacts, growing attention is being paid to connectivity between patches of habitats (Crooks & Sanjayan, 2006; Fahrig et al., 2011) relying on the creation or protection of habitat linkages; i.e. land that promotes movement or dispersal of plants or animals between core habitats (Briers, 2002). Connection between habitats facilitates dispersal (Haas, 1995), gene flow (Manel, Schwartz, Luikart, & Taberlet, 2003; Mech & Hallett, 2001) and ultimately reduce the extinction risks of species (Brown & Kodric-Brown, 1977). Connectivity is now a key aspect in applied ecology and environmental policies. For example, the EU 2020 Biodiversity Strategy requires that by 2020 ecosystems and their services are maintained and enhanced by establishing green infrastructure connecting the network of natural and seminatural protected areas.

To achieve this goal, one needs to define linkages between core habitats at the relevant (landscape) scale (Crooks & Sanjayan, 2006). This connectivity is usually assessed with landscape modelling. However, while a consensus exists regarding the role of connectivity as essential to the persistence of fragmented populations, researchers often disagree when choosing the methodology for designing linkages for conservation (Rayfield, Fortin, & Fall, 2011; Rothley & Rae, 2005). Among available methods, the least-cost path (LCP) analysis is probably the most widely used modelling approach (LaRue & Nielsen, 2008; Phillips, Williams, Midgley, & Archer, 2008; Sawyer, Epps, & Brashares, 2011). LCP analysis provides potential paths based on minimizing the cumulative cost of movements between two points where the resistance values to movement are quantified in the landscape matrix (Chardon, Adriaensen, & Matthysen, 2003), at least on an arbitrary scale (Beier, Majka, & Spencer, 2008). Resistance estimates are thus critical in providing biologically relevant LCP models (Beier et al., 2008; Sawyer et al., 2011; Zeller, McGarigal, & Whiteley, 2012). From an applied point of view, quantifying relevant links between movements and habitats and then transforming them into landscape resistance is a key aspect to provide connectivity models useful to conservation (Keeley, Beier, & Gagnon, 2016) and, at the same time, to avoid misleading and costly recommendations (Chetkiewicz, St. Clair, & Boyce, 2006). Various approaches have been used to parameterize these resistance surfaces, but they are mainly based on experts' opinions and/

or meta-analysis assessing the importance of landscape elements in facilitating the movement of individuals (Beier et al., 2008; Spear, Balkenhol, Fortin, McRae, & Scribner, 2010; Zeller et al., 2012).

In a review, Sawyer et al. (2011) pointed out three main weaknesses in connectivity studies that used LCP analysis. First, few studies assess whether (generally coarse-grain) habitat maps are suitable proxies for factors affecting animal movement with an explicit, empirical justification. In fact, modellers often use expert opinion to assign resistance values to remotely sensed landscape traits, rather than quantifying resistance as it might be perceived by the species (the so-called "functional connectivity", Kindlmann & Burel, 2008; Taylor, Fahrig, & With, 2006). They do so mainly because empirical data are sparse or nonexistent for most species (Fagan & Calabrese, 2006). Furthermore, models based on behavioural processes are expected to be more accurate and efficient to design and implement landscape linkages (Chetkiewicz et al., 2006). Among these, Resource Selection Functions (RSF, i.e. any quantitative model that yields values proportional to the probability of use of a resource unit, Boyce, Vernier, Nielsen, & Schmiegelow, 2002) calculates the probability of use of landscape variables and represents an efficient method to quantify resistance to movements (Zeller et al., 2012), on condition that the animal's behavioural state is correctly estimated (Abrahms et al., 2017). Secondly, few studies validated their model with independent, empirical data to assess the robustness of the projection in the landscape. When performed, empirical validations sometimes show poor prediction performance of modelling. For example, LaPoint, Gallery, Wikelski, and Kays (2013) observed poor prediction performance of their corridor models build with GPS-tracked fisher data when they confronted them with independent data from camera traps. Thirdly, many studies lack justification when translating LCP model outputs into optimal corridor placement of various lengths and widths, as a problem of transferability could occur. In fact, habitat linkages could be designed at a coarse-grain scale (at which the remote-sensing environmental datasets were available), but the analysis missed important biological aspects at finer scales, at which the animal perceives its habitats and the movement process operates. For example, high-quality microhabitats can be selected by animals in areas that appear unsuitable at a macro-level (Mortelliti & Boitani, 2008). In a recent review focusing on the use of RSF in connectivity modelling, Abrahms et al. (2017) made the same conclusion, observing that most studies should suffer from misleading estimates of landscape resistance and models often lack validation with independent data.

Here we used the RSF framework and quantitative, empirical behavioural data of the greater horseshoe bat, *Rhinolophus*

ferrumequinum (Schreber, 1774), to build up a LCP model of functional connectivity in relation to landscape corridor use. We then validated this model with two independent datasets, one at an individual level with radiotracking data and one at a population level with acoustic data. Landscape resistance was estimated from the probability of crossing a gap in a connecting feature as a function of this gap width (see Awade & Metzger, 2008; Hale, Fairbrass, Matthews, Davies, & Sadler, 2015; Lechner, Doerr, Harris, Doerr, & Lefroy, 2015 for a general framework) when greater horseshoe bats commute from roost to foraging areas. We focused on this short-range echolocating species (maximum range of 10 m, Barataud, 2015) because the greater horseshoe bat is known to be strongly dependant on connecting landscape features like hedgerows for foraging and commuting (Dietz, Pir, & Hillen, 2013; Duvergé & Jones, 1994; Froidevaux, Boughey, Barlow, & Jones, 2017). Furthermore, bat populations play an important role on ecosystems and appear to have suffered a large world-wide decline (see review in Jones, Jacobs, Kunz, Willig, & Racey, 2009), which is why all bat species are protected in Europe by the Annex IV of the Habitat Directive (92/433/EEC). Although the greater horseshoe bat is widely distributed in Europe and considered as least concern (LC) on the IUCN Red List, it is listed in Annex II of the Habitat Directive which implies specific designation of protected areas because of several factors that led to a drastic decline in western populations during the last century, including agricultural intensification, roost destruction and habitat changes (Hutson, Mickleburgh, & Racey, 2001). Species that are very sensitive to connectivity loss, like bats, retain more and more attention in landscape ecology studies in relation to corridor features like hedgerows (Fonderflick, Azam, Brochier, Cosson, & Quékenborn, 2015; Heim, Treitler, Tschapka, Knörnschild, & Jung, 2015; Kelm, Lenski, Kelm, Toelch, & Dziok, 2014). Furthermore, using biologically relevant connectivity models based on species sensitive to connectivity loss should offer a great opportunity to provide a general framework for designing or testing effective green networks in this context.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Ethics statement

Permission for bat capture and telemetry was granted by the association *Nature Environnement* 17, France, and delivered by the French Ministry of Sustainable Development and Ecology. The study was approved by the administration of the *Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement*.

2.2 | General information about the study area and the greater horseshoe bat's nursery colony

The study (c. 200 km²) took place in Western France, 8 km around the greater horseshoe bat's nursery colony of the village of Annepont (45°50'N; 0°37'W). This lowland landscape is mainly

covered by intensive agriculture (34%, mainly cereals, rapeseed and sunflower), deciduous forest (36%), grasslands (11%), villages (6%) and vineyards (9%). Hedgerows are mainly concentrated in valleys and around villages (density >20 m/ha) and scarce in intensive agriculture areas (density <5 m/ha). In the study area, population density is 52.6 inhabitants per km², mainly located in small villages or isolated farms where artificial lighting at night is scarce or absent. The effect of artificial lighting on connectivity (Azam, Le Viol, Julien, Bas, & Kerbirou, 2016; Hale et al., 2015) was thus not taken into account in this study.

The nursery colony of c. 100 greater horseshoe bat females (in association with c. 275 females Geoffroy's bats, *Myotis emarginatus*, E. Geoffroy, 1806) was discovered in 2013 in the roof of the city hall, and has been studied since this discovery with weekly counts at emergence during spring and summer. No other large horseshoe bat colony was found within 20 km despite intensive research with ultrasonic recorders and capture sessions. All field samplings (acoustic and radiotracking) were performed at the same period between 11 and 22 July 2016 when the majority of females were lactating. In fact, as energetic constraints for reproductive females change during the breeding season (and also resource availability in space), one should expect variability in foraging behaviour throughout this period (e.g. Flanders & Jones, 2009; Goiti, Aithartza, Garin, & Zabala, 2003). In order to ensure minimal behavioural variability over time associated to changes in energetic demands and to ensure correct interpretation of the variance observed in the data, we conducted the study over a short time period (12 days). Time is expressed at local time (GMT + 2 hr). For the study period, civil sunset occurred at c. 22.25 hr, civil sunrise at c. 05.45 hr. At this period, according to weekly counts, greater horseshoe bats first leave the colony primarily between 22.05 and 22.30 hr.

2.3 | Empirical assessment of landscape resistance using gap-crossing method

As discontinuities in corridors can act as barriers to animal movements, gap-crossing probabilities can be used to quantify empirical landscape resistance (Awade & Metzger, 2008; Hale et al., 2015). The probability of crossing a gap in a given hedgerow was estimated as a function of the width of the gap when greater horseshoe bats commute from roost to foraging grounds at the start of the night (22.00–22.55 hr local time, see Supporting Information Figure A1 in Appendix S1). We placed recorders (full-spectrum bat detector Song Meter SM3BAT, Wildlife Acoustics Inc. USA) in hedgerows with various gap widths (one gap per hedgerow, $n = 38$, from 10 to 130 m) within 1.5 km from the colony for one night (for more details see Supporting Information Appendix S2). To avoid bias in crossing events detection in small gaps (a bat approaching but not crossing could be detected behind gaps as small as 5 m), the model was set with gaps larger than 10 m. This distance corresponds to the maximum detection distance for this species (Barataud, 2015). Microphones were positioned horizontally at 1.5 m high in hedgerows just behind the gap furthest away from the colony. They were

orientated to the colony (see Supporting Information Figure A2 in Appendix S1) as greater horseshoe bats emit ultrasound waves in a very narrow beam from the front of the head (Schnitzler & Grinnell, 1977). For these two reasons, if a greater horseshoe bat was detected during the commuting period at the beginning of the night, we assumed that it crossed that specific gap. Gaps and microphone placements were carefully chosen to ensure that greater horseshoe bat detection could be clearly associated to only one gap. Ultrasound recordings were analysed with the toolbox *Tadarida* (Bas, Bas, & Julien, 2017), which identifies species-specific echolocation calls. This software automatically detects and extracts sound feature parameters of the recorded echolocation calls and classifies them into known classes according to a probability value that a call is from a specific group or bat species using a random forest algorithm (Cutler et al., 2007). All calls checked by listening the sequence with a $\times 10$ time expansion and inspecting spectrograms. As the other European *Rhinolophidae*, greater horseshoe bat, presents very specific echolocation calls with nearly constant frequency (79–83 kHz, Barataud, 2015), the resulting classification probabilities were very high.

Only presence/absence acoustic observations between 22.00 and 22.55 hr local time were considered, corresponding to the commuting period to foraging grounds (see Supporting Information Appendix S1). The probability of crossing a gap in a connecting feature during commuting (i.e. overall presence/absence of a bat behind a gap during this period, $n = 38$ gaps) was estimated with logistic modelling (GLM with a binomial error distribution, link=logit), with the width gap with its quadratic term and the distance to the colony as explanatory variables.

2.4 | Connectivity modelling

In order to model the landscape connectivity, a LCP approach was used with the R package *gdistance* (Van Etten, 2017). For calculation advantages in this package, conductance rather than resistance (conductance = permeability = $1/\text{resistance}$) was used for transition matrix, so we used this term rather than resistance in the rest of the study. Following the gap-crossing approach (Hale et al., 2015), we hypothesized that the conductance was directly related to the distance to connecting features that facilitate bat movements (hedgerows, woodlands, vineyards and suburban areas like villages and farms, Duvergé & Jones, 1994, 2003; Fonderflick et al., 2015), with a maximum value of conductance when the bat is in the connecting feature and a decreasing conductance as the bat flies away the feature.

2.4.1 | Environmental datasets

All the major connecting features that could be used by greater horseshoe bat during commuting between colony and foraging areas (hedgerows, woodlands, vineyards and suburban areas like villages and farms, Duvergé & Jones, 1994, 2003; Fonderflick et al., 2015) were digitalized within the 8 km radius circle centred on the colony, using QGIS 2.8.9 (QGIS Development Team, 2015)

and high-resolution aerial orthophotographs (taken in 2014 with 20 cm resolution, Institut National de l'Information Géographique et Forestière, France). In addition, field validations were performed during the field session in July 2016. The resulting vector layer of connecting features was rasterized (at $8\text{ m} \times 8\text{ m}$ cell resolution) and minimum Euclidean distance to the nearest feature was calculated with the R package *raster* (Hijmans & van Etten, 2016).

2.4.2 | Conductance matrix and connectivity modelling

The conductance matrix was estimated by applying the previous logistic model (probability of gap-crossing as a function of distance) on the raster of distance to the nearest connecting feature. As a result, a raster was obtained with a resolution of $8 \times 8\text{ m}$, representing the predicted probabilities of greater horseshoe bat presence according to distance to connecting features. Then these predicted probabilities were standardized (max = 1, min = 0) and values in connecting features were set at 10 to facilitate movements in connecting features (analogue to classical resistance values ranging from 1 to 100, see Sawyer et al., 2011). As large roads like highways could represent an important barrier for bats (Berthiusen & Altringham, 2012), cell values for highways (larger than 30 m) were set to 0, except at bridges or tunnels. Two highways (E5 and E602) of 30 m width are present in the study area. This conductance raster was used to calculate the between-cells transition matrix, with cells connected with their eight orthogonal and diagonal nearest neighbours. A correction by distance between cell centres ("geocorrection") was done by dividing each conductance matrix value by the distance between cell centres. Finally, the accumulated cost surface was estimated for each cell of the landscape using the colony as the origin location. The LCP between two cells on the raster and the associated distance were obtained with Dijkstra's algorithm (Dijkstra, 1959).

2.5 | Validation of connectivity model by independent and empirical data

During the same period, we carried out two additional surveys (acoustics and radiotracking) with the aim to provide an independent dataset for assessing the performance of our landscape connectivity modelling.

2.5.1 | Validation by acoustic approach

To validate the connectivity model, ultrasonic recorders were placed in 75 favourable habitats (hedgerows and woodlands, Dietz et al., 2013; Flanders & Jones, 2009) for one night at a maximum distance of 8 km from the colony (maximum distance according to our radiotracking work), with microphone directed horizontally at a 90° angle from a hedgerow (if relevant), at 1 m height (see Supporting Information Appendix S2 for details). This validation dataset was distinct from the previous one that was used for estimating the gap-crossing probability model. For validation, recorders were not

placed in unfavourable habitats like open fields to be sure to relate absence of bats as a function of connectivity and not to habitat suitability. With the aim to assess the performance of our connectivity model, we hypothesize that the probability of presence of greater horseshoe bat in favourable habitats during the commuting period should be better explained by the accumulated cost from the colony than other variables like distance to colony. To test this, distance and accumulated cost values from the colony were calculated for these acoustic locations and included in logistic models (GLM with a binomial error distribution, link=logit) explaining overall presence/absence of commuting greater horseshoe bats at an acoustic location during the commuting period ($n = 75$).

2.5.2 | Validation by radiotracking approach

Localizations of radio tagged greater horseshoe bats from the Annepont colony were investigated during their nocturnal movements. Eight lactating females were radio tagged with LB-2X radiotransmitters (Holohil Systems Ltd, Canada). Sessions of radiotracking were carried out on these individuals using the “homing in” approach (White & Garrott, 1990), which involved following the bats as closely as possible (without disturbance) to localize them when they forage (see Supporting Information Appendix S2 for more details).

To assess the performance of the connectivity model, we hypothesize that the probability of presence of foraging radio tagged bats should be higher in more connected areas, i.e. where accumulated costs are lower, taking into account distance to colony and habitats. To assess if radiotracking locations during foraging were randomly situated according to accumulated cost surface calculated from the connectivity model, we compared accumulated costs at random locations (five random fixes for one foraging fix, at the same distance and in favourable foraging habitats: forests and hedgerows) and those at observed radiotracking fixes during foraging (one individual location every 30 min to ensure temporal independence, see Supporting Information Appendix S2 for more details). This comparison used the standardized difference calculated as follows:

$$\text{StdzdDiff} = (\text{AccCost}_{\text{random}} - \text{AccCost}_{\text{foraging}}) / \text{AccCost}_{\text{foraging}}$$

$\text{AccCost}_{\text{random}}$ is the accumulated cost from the model at the random location and $\text{AccCost}_{\text{foraging}}$ is the accumulated cost from the model at the foraging location. This difference was then tested against the value 0 (i.e. expected value under the null hypothesis if greater horseshoe bats foraged randomly according to the AccCost model output) using a mixed model (GLMM with a Gaussian error distribution) with individual ID as random term on intercept. The 95% confidence interval of this difference (i.e. the intercept term) was estimated using a parametric bootstrap with 500 simulations (Bates, Mächler, Bolker, & Walker, 2015).

2.6 | Statistical analysis

All the analyses were done with R 3.3.2 (R Development Core Team, 2016). Statistical models were validated by a visual inspection of

the residuals to satisfy their conditions of application. Model selection procedure was based on the Akaike information criterion with a correction for finite sample sizes and considering best models with $\Delta\text{AIC}_c > 2$ (Burnham & Anderson, 1998). In the case of models with equivalent AIC_c or when $\Delta\text{AIC}_c < 2$, the principle of parsimony was applied, keeping the model with the lower number of parameters. Mixed models were computed with the *lme4* package (version 1.1-12, Bates et al., 2015).

3 | RESULTS

3.1 | Empirical assessment of landscape resistance using gap-crossing method

The presence of greater horseshoe bats in gaps was assessed using acoustic sampling (Figure 1) around the colony, the gap width in a corridor was significantly the best predictor explaining the probability of crossing during the commuting period (Table 1; slope = -0.036 , intercept = 1.368). The probability of crossing decreases from 0.80 for gaps smaller than 10 m to less than 0.05 for gaps larger than 130 m (Figure 2). According to this model, the value of gap width where the probability drops below 0.50 was of 38 m, and half of the maximum probability ($p = 0.40$) was reached with a gap of 49 m.

3.2 | Connectivity modelling

The gap-crossing logistic model was applied on a raster representing the distance to connecting features (hedgerows, woodland, village and vineyard) calculated for the whole study area (i.e. 8 km from the colony). The resulting raster can be viewed as representing the probability of presence of a greater horseshoe bat during commuting related to landscape features that facilitate movements. This raster was used as a permeability map for calculating accumulated cost from the colony using a LCP approach (Figure 3).

3.3 | Validation of the connectivity model

With the aim to assess the performance of our connectivity model, we first mobilized an independent acoustic dataset. During the commuting period in the beginning of the night, greater horseshoe bats were detected in 27 out of 75 sampling sites (36%). Model selection based on AIC showed that presence/absence of greater horseshoe bats was best explained by the model “Accumulated Cost” (Table 2). This model (Figure 4) showed the lowest AIC_c value and a higher value of the coefficient of discrimination, Tjur's R^2 , as a standard measure of explanatory power for logistic GLM (Tjur, 2009). The other models (*Distance to Colony* and the constant [null] model) showed less explanatory power. When considering acoustic observations for the whole night instead of during the commuting period only, presence/absence of greater horseshoe bats was significantly explained by the model *Distance to Colony* rather than *Accumulated Cost* (for details see Supporting Information Table A in Appendix S3).



FIGURE 1 Acoustic sampling locations (circles, $n = 38$) for testing the effect of gap width in connecting features. Greater horseshoe bat absence/presence refers to sampling for one night during commuting time (early night: 30 min before and 25 min after the sunset). White background refers to open space

A second assessment of our connectivity model performance was done at the individual level, using data provided by the radio-tracking session. Location data were obtained for eight reproductive females (average of 7.13 independent foraging fixes per individual, average distance of 4.22 km from the colony, maximum of 7.58 km, see Supporting Information Table B in Appendix S4 for details). The comparison between the accumulated cost values at random locations and those at foraging locations observed during the radiotracking session indicates that the difference was significantly greater than 0 (Table 3), meaning that radiotracking locations of foraging greater horseshoe bats were situated in areas where accumulated costs from the colony were significantly lower than random locations at comparable distances to colony and in favourable habitats.

4 | DISCUSSION

In this study, we used a framework combining a RSF (to provide a quantitative estimate of the landscape resistance) with a LCP analysis, to propose a connectivity model which was then validated with two independent datasets. Using the gap-crossing method, we retrieved a quantitative, empirical dataset of greater horseshoe bat behaviour to estimate a biologically relevant estimation of landscape connectivity.

We focused on reproducing (lactating) females as they are a key to explaining population dynamics and conservation. The energetic constraints for reproductive females vary during the breeding season, in addition to availability of resources, therefore variations in foraging behaviour are expected through this period (e.g. Flanders & Jones, 2009; Goiti et al., 2003). This could be also expected for the gap-crossing behaviour, so, before extrapolating

this model, one needs to validate our findings for other periods or other classes of individuals (males, juveniles, nonreproductive or pregnant females). We could also expect that the parameters of the gap-crossing model should be different in landscapes with different connectivity characteristics. We hypothesize that crossing a gap is a trade-off between cost (exposure to predation in this case) and benefit (use of a shorter path for access to a foraging area instead of longer path without gap). Across the species range, we may expect that parameters of the gap-crossing model could be different in landscapes with different connectivity characteristics. Compared to other regions where the greater horseshoe bat is present, our study area shows moderate hedgerow densities (35 m/ha, data from the French Institute of Forestry 2007, see <http://www.polebocage.fr/-Bocage-and-hedgerows-in-France,136-.html>). In the UK, for instance, densities of hedgerows around greater horseshoe bat colonies range between 20 and 65 m/ha (Froidevaux et al., 2017). In landscapes with a higher density of hedgerows, we should expect a steeper slope for the model (more negative slope value), as large gaps should be rare and less used (there are more alternatives available for large gaps). In landscapes with lower hedgerow densities, a less negative value should be expected for the slope of the model, as bats should more frequently use larger gaps to reach their foraging grounds (less alternatives for large gaps). It would be interesting to test this and conduct gap-crossing studies in different landscape contexts across the species distribution to ensure replicability. The proposed design allows testing this in different landscape configurations, and also for various species sensible to connectivity loss. Moreover, the estimated value of the slope could be a general parameter characterizing sensitivity to connectivity, useful when comparing different landscapes or species.

TABLE 1 Results of model selection for explaining gap-crossing probability of commuting greater horseshoe bat as a function of distance to the colony and gap width in connecting feature ($n = 38$)

Models	K	AIC _c	ΔAIC _c	AIC _c weight	Cum. weight	Log likelihood
~Gap width	2	46.60	0.00	0.57	0.57	-21.13
~Dist.Colony + Gap width	3	48.91	2.31	0.18	0.75	-21.10
~Gap width ² + Gap width	3	48.94	2.34	0.18	0.92	-21.12
~Gap width ² + Gap width + Dist. Colony	4	51.41	4.81	0.05	0.98	-21.10
~1	1	53.84	7.24	0.02	0.99	-25.86
~Dist. Colony	2	55.00	8.40	0.01	1.00	-25.33

Note. Models are ranked from best (top) to worst according to AIC_c. Gap width is the width in connecting feature (m). Dist. colony is the distance to the colony, Superscript “2” indicates a quadratic effect.

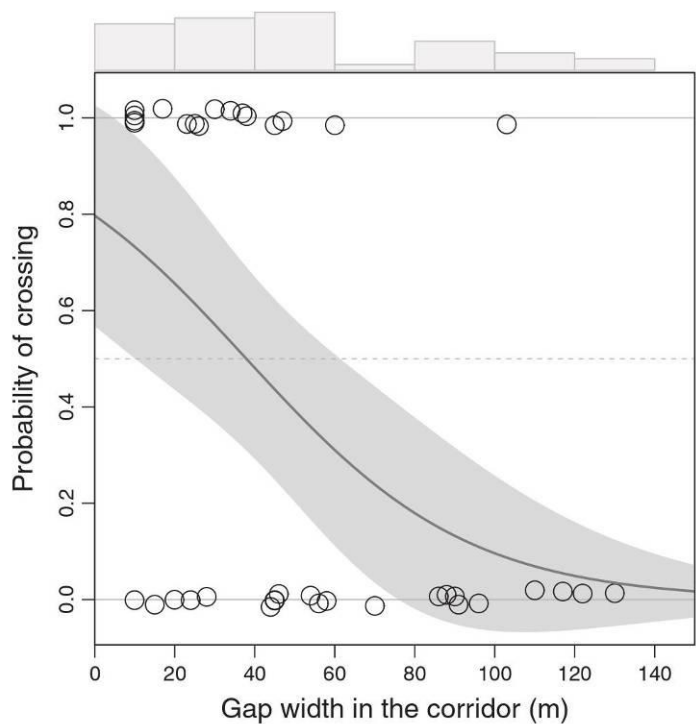


FIGURE 2 Probability of crossing a gap in a connecting feature as a function of its width during commuting period for greater horseshoe bat. Observations ($n = 38$ gaps, dots) are jittered to increase visibility. Top histogram in grey refers to the gap width distribution. The large, black line indicates the predicted probability from the selected binomial GLM model and the grey area indicates its 95% confidence interval

Reviews of Sawyer et al. (2011) and Abrahms et al. (2017) pointed out the need for connectivity modelling with empirical input based on underlying behavioural processes when defining resistance matrix and also the need for validating models with independent data. Estimating landscape resistance based on movement preferences at finer scales is expected to be more relevant to land management (Chetkiewicz et al., 2006). Here we defined landscape resistance at fine scale (grain size of 8 m), estimating empirically the probability of presence during movement period as a function of the distance to landscape features favourable for movements. Our LCP model was then validated with two independent datasets: one with radiotracked greater horseshoe bats that

were more found in areas where accumulated costs of moving were significantly lower; the other using acoustic sampling showing that probability of presence of greater horseshoe bats during the beginning of the night (commuting time to reach foraging grounds) was significantly higher in areas with lower accumulated costs. Interestingly, when considering acoustic data for the whole night, the probability of presence of greater horseshoe bats was significantly better explained by the distance to the colony rather than the accumulated cost, confirming the importance of defining the conductance based on relevant underlying behavioural processes (Abrahms et al., 2017), in this case when the bats commute at the start of their night-time forage.

Despite a growing and valuable interest for connectivity in bat conservation, to our knowledge all but one (Hale et al., 2015) of the studies focusing on connectivity modelling (for bat species) estimated a landscape resistance based on expert insight or from Species Distribution Modelling outputs (Henry, Pons, & Cosson, 2007; Le Roux et al., 2017; Razgour, 2015; Roscioni et al., 2014; Tournant, Afonso, Roué, Giraudoux, & Foltête, 2013). The “gap-crossing” framework adopted in our study could be largely used for other species or sites to obtain an empirical measure of parameters affecting movement resistance. This is particularly true for short-range echolocating species like greater horseshoe bats (maximum echolocating range: 10 m) that are rarely detected with passive acoustic recorders (Barataud, 2015). By placing acoustic recorders (or other methods, see below) with various linkage configurations to be tested (in the case of this study, several distances between hedgerows) in the vicinity of a focal point (here a breeding colony), one can define RSF as the probability of moving in these connecting features as a function of their characteristics and use these for defining resistance matrix in connectivity modelling. Importantly, attention has to be paid to correctly translating these estimates to biologically relevant resistance. Firstly, detected presence should be related to an animal leaving the focal location (i.e. known departure location). Detection of other individuals coming from other locations should have different constraints in their movements and this may introduce some noise to the data or bias when calculating the accumulated cost. In our study, the closest known greater horseshoe bat colony is as far as 20 km away, so greater

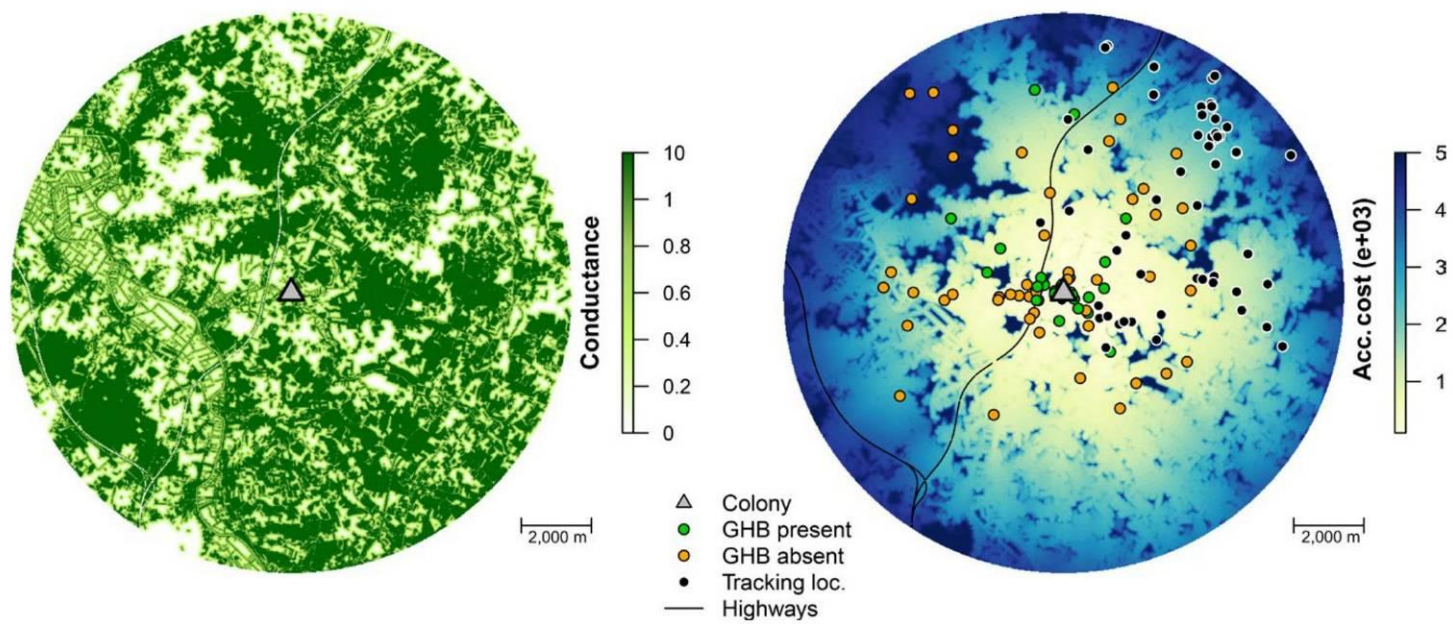


FIGURE 3 Conductance (left) and accumulated cost surface (right, colour scale according to quantiles) estimated from the colony, as predicted from the “distance to features” model. The green/yellow dots show the locations of acoustic sampling used for validation. The black dots show the locations of eight radiotracked greater horseshoe bat females also used for validation

TABLE 2 Results of model selection in order to validate the accumulated cost surface models, explaining the presence of greater horseshoe bat during the commuting period ($n = 75$ locations, for one night each) as a function of distance and accumulated cost from the colony. The last column shows the coefficient of discrimination, Tjur’s R^2 , as a standard measure of explanatory power for the two models

Models	K	AIC _c	ΔAIC _c	AIC _c weight	Cum. weight	Log likelihood	Tjur’s R^2
~Acc.Cost	2	82.85	0	0.59	0.59	−39.34	0.241
~Dist. Colony	2	83.57	0.72	0.41	1.00	−39.70	0.236
~1	1	100.07	17.21	0.00	1.00	−49.01	—

horseshoe bat detections within a 1.5 km radius could be reasonably attributed to an individual leaving and commuting from the Annepont colony. Secondly, detection should be done according to the appropriate behavioural state (see Abrahms et al., 2017), here when greater horseshoe bats commute from the colony to foraging grounds through connecting features at the beginning of the night. As hedgerows or other features could also be used for foraging by greater horseshoe bats later during the night, we only considered observations before 22.55 hr. As expected, when assessing the performance of the connectivity model, acoustic observations for the whole night (instead of data restricted to the commuting period) did not validate this model as the probability of presence was better explained by the distance to colony and not by accumulated cost. One possible explanation for this could be that bats are better channelled in the beginning of the night when commuting in relation to landscape features than later when they disperse to various habitats searching for prey. Lastly, to correctly convert fine scale behaviour characteristics defined by RSF to the estimation of resistance at the landscape scale, one needs to map the habitat features as relevant proxies at the relevant grain size according to the actual perception of the species (Sawyer et al., 2011). In our case, all potential connecting features (hedgerows and tree lines,

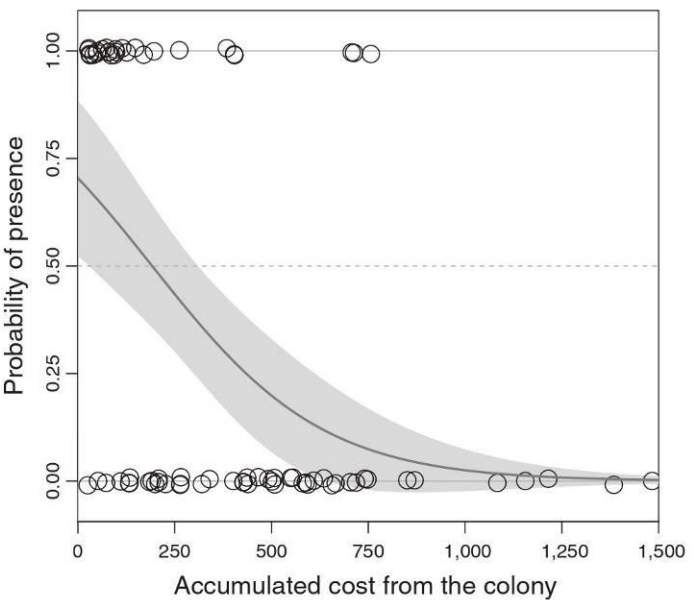


FIGURE 4 Probability of presence of a greater horseshoe bat (during commuting time) as a function of accumulated cost from the colony at sampling locations used for acoustic validation ($n = 75$). Observations (dots) are jittered to increase visibility. The large black line indicates the predicted probability from the selected binomial GLM model and the grey area is its 95% confidence interval

TABLE 3 Estimates of standardized differences between accumulated costs at random locations and accumulated costs at the tracking locations from the modelling scenario. These standardized differences were estimated with mixed models $StdzdDiff \sim 1$ with individual ID as random effect. The 95% confidence intervals were estimated with a parametric bootstrap

Parameter	Estimate	SE	t-value	2.5% CI	97.5% CI
<i>StdzdDiff</i>	0.0596	0.0264	2.254	0.0048	0.1099

forests, villages and vineyards) were digitalized and the distance to features were calculated on 8 m resolution raster, below the effect of the distance to features determined by RSF (38–50 m). By taking into account these recommendations, we think that this framework can be successfully applied to many other species to estimate landscape resistance and to identify corridors.

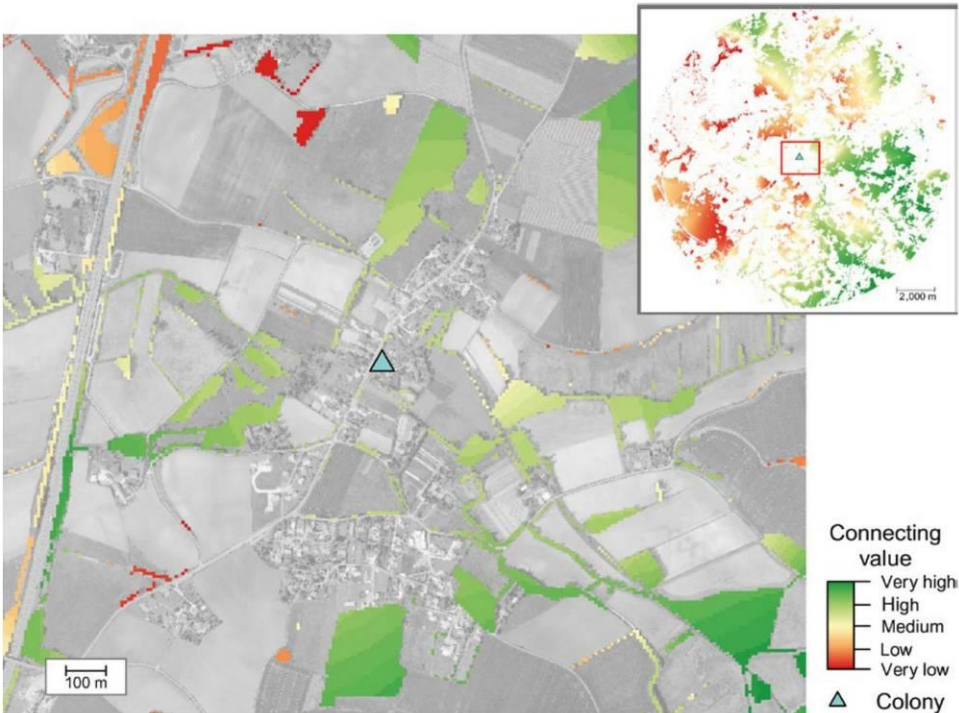
Hedgerows are known to be important for movements of several taxonomic groups (for examples see review of Davies & Pullin, 2007). Several early studies of various bat species showed that hedgerows are frequently used as foraging grounds, and also as commuting routes between roosts and feeding sites (e.g. Entwistle, Racey, & Speakman, 1996; Limpens & Kapteyn, 1991; Verboom & Huitema, 1997), including the greater horseshoe bat (i.e. Duvergé & Jones, 1994). Our study validates the important role of natural and seminatural elements like hedgerows, treelines and forests as connecting features for greater horseshoe bats. Using radiotracking in the Grand Duchy of Luxembourg, greater horseshoe bats were observed commuting along hedgerows from their roosts to their foraging grounds (Dietz et al., 2013). At a larger scale, a recent study found that greater horseshoe bat colony size in UK was positively related to density of linear features (Froidevaux et al., 2017). Using acoustic sampling, Frey-Ehrenbold, Bontadina, Arlettaz, and Obrist (2013) also showed the importance of connectivity in farmland

landscapes for bats, with shorter-range echolocating bats being particularly sensitive to habitat fragmentation, despite them not detecting any horseshoe bats in their study. In our study, we quantified the role of landscape features acting as corridors by estimating the distance between hedgerows that allows a realized connectivity for greater horseshoe bats. According to Figure 2, the probability of presence in the connecting features is high when the distance between hedgerows is lower than 38 m, and then decreases rapidly with gaps larger than 50 m with a maximum of 130 m. It may be surprising that a greater horseshoe bat can cross an open area larger than its echolocation range (maximum 10 m), but bats have important navigation abilities at several scales (from home-range up to continent when migrating), and spatial memory is believed to play an important role in navigating in a familiar environment (see review in Holland, 2007), for example by the use of landmarks (Jensen, Moss, & Surlykke, 2005). For these reasons, we expect that the distances to landscape features should be different when moving in unknown environments where the bat has to find its route with a limited perceptual range (e.g. during juvenile dispersal).

4.1 | Application for conservation

We suggest that the approach used here, combining a RSF definition with the gap-crossing method and a LCP modelling, is applicable to many other species sensitive to connectivity loss, and could provide quantitative information that can be directly applied to conservation. Our study shows that this framework is biologically relevant, as the connectivity model is validated at both individual and population levels. In this framework, a key component is the estimation of gap-crossing probabilities measured in the field, as this information is then turned into relevant resistance in the connectivity model. These gap-crossing probabilities

FIGURE 5 Relative connecting values for natural connecting features (hedgerows and woodlands) in the vicinity of the colony of Annepont (France) and for the whole study area (inset), as an illustrative example of application for conservation of the accumulated cost model



could be estimated using various techniques to provide reliable estimates for resistance of surfaces according to the target species: visual observations (e.g. Lees & Peres, 2009), playback trials (e.g. Bélisle & Desrochers, 2002), audible or ultrasonic acoustic recorders (this study), camera traps and PIT transponders (Soanes, Vesk, & van der Ree, 2015), etc. Furthermore, this probability of crossing could be directly applied in the field to orientate conservation (e.g. where to plant trees to effectively ensure connectivity). In the case of this study, we found that a distance of 38 m (maximum of 50 m) between landscape features ensures an effective connection for greater horseshoe bats in their resident environment.

As connectivity loss is recognized as a threat for many species (including bats), some authors recommend practical thresholds for linear habitat management in order to ensure effective connectivity. For example, Entwistle et al. (2001) recommends filling gaps in hedgerows as small as 10 m to benefit bats, but without explaining how this distance was defined. Such a threshold approach is relatively common in recommendations and also in gap-crossing or connectivity studies (e.g. Lechner et al., 2015). Behavioural relationships with connecting features are better described as a gradient along a continuum (framework of RSFs) and could be more effectively incorporated in connectivity modelling using probability of use. They can then be usefully applied in conservation scenarios to promote effective movements between core habitats (Chetkiewicz & Boyce, 2009). As a further application for conservation, the model output provides quantitative spatial predictions that can be used as an efficient mapping tool for landscape planners and conservationists. One can calculate and map the relative connecting values for corridors (here hedgerows and woodlands, see Figure 5 and Supporting Information Appendix S5 for calculation details), in order to identify the need for protecting high connecting elements and for enhancing or restoring low connecting ones. The framework presented here for estimating resistance can be used on many other species, to assess their sensitivity in connectivity loss, and ultimately provide relevant insights to be integrated in connectivity modelling and corridor planning. Such models are also able to provide quantitative predictions to be tested as a tool (see Supporting Information Appendix S6 for an example) for evaluating green infrastructure policies.

ACKNOWLEDGEMENTS

First, we sincerely thank all the field workers and volunteers involved in the field session: Nais Aubouin, Emilien Jomat, Jean-Baptiste Pons, Ondine Filippi-Codaccioni, Alice Chéron, Matthieu Dorfiac, Sabrina Maiano, Marius Ruchon, Anthony LeGuen, Olivier Roques, Jérémy Dechartre, Gaëlle Kania, Rémi Jaouen. We thank the Mairie d'Anepont that allowed us to do our study and for protecting the bat colony. F.C.'s PhD work is funded by Naturalia Environment and the Agence National de la Recherche et de la Technologie. This study was funded by the "LISEA biodiversité" Foundation and the "Contrat-Plan

Etat-Région 2015-2020, Région Poitou-Charentes" involving the "ECONAT" programme. We are grateful to the associate editor Dr Matthew Struebig and the two anonymous reviewers for providing valuable comments that greatly strengthened this manuscript.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

D.P., F.C., C.K. and M.L. conceived the ideas and designed methodology; D.P., F.C. and M.L. collected the data; D.P. and F.C. analysed the data; D.P. led the writing of the manuscript. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

DATA ACCESSIBILITY

Acoustic data are available via the Dryad Digital Repository <https://doi.org/10.5061/dryad.g1t3680> (Pinaud, Claireau, Leuchtman, & Kerbiriou, 2018a).

Raw acoustic data are also archived and available via the French citizen science programme "VigieChiro" <http://vigienature.mnhn.fr/page/participer-vigie-chiro>, at the portal <http://vigiechiro.herokuapp.com/> with the following site ID: 170692, 170732, 170733, 170734, 170735, 170774, 170776, 170777, 170817, 170818, 170858, 170859 and 170861.

Tracking data are available via Movebank <https://doi.org/10.5441/001/1.3pk82706> (Pinaud, Claireau, Leuchtman, & Kerbiriou, 2018b).

ORCID

David Pinaud  <http://orcid.org/0000-0003-0815-9668>

Fabien Claireau  <http://orcid.org/0000-0003-3848-7427>

Christian Kerbiriou  <http://orcid.org/0000-0001-6080-4762>

REFERENCES

- Abrahms, B., Sawyer, S. C., Jordan, N. R., McNutt, J. W., Wilson, A. M., & Brashares, J. S. (2017). Does wildlife resource selection accurately inform corridor conservation? *Journal of Applied Ecology*, 54, 412–422. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12714>
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2008.01857.x>
- Azam, C., Le Viol, I., Julien, J.-F., Bas, Y., & Kerbiriou, C. (2016). Disentangling the relative effect of light pollution, impervious surfaces and intensive agriculture on bat activity with a national-scale monitoring program. *Landscape Ecology*, 31, 2471–2483. <https://doi.org/10.1007/s10980-016-0417-3>
- Barataud, M. (2015). *Acoustic ecology of european bats: Species identification, study of their habitats and foraging behaviour*. Paris, France: Biotope & National Museum of Natural History.
- Bas, Y., Bas, D., & Julien, J.-F. (2017). Tadarida: A toolbox for animal detection on acoustic recordings. *Journal of Open Research Software*, 5, 6.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67, 1–48.

- Beier, P., Majka, D. R., & Spencer, W. D. (2008). Forks in the road: Choices in procedures for designing wildland linkages. *Conservation Biology*, 22, 836–851. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.00942.x>
- Bélisle, 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. <https://doi.org/10.1023/A:1020260326889>
- Berthiusen, A., & Altringham, J. (2012). The effect of a major road on bat activity and diversity. *Journal of Applied Ecology*, 49, 82–89. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2011.02068.x>
- Boyce, M. S., Vernier, P. R., Nielsen, S. E., & Schmiegelow, F. K. A. (2002). Evaluating resource selection functions. *Ecological Modelling*, 157, 281–300. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(02\)00200-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(02)00200-4)
- Briers, R. A. (2002). Incorporating connectivity into reserve selection procedures. *Biological Conservation*, 103, 77–83. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(01\)00123-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(01)00123-9)
- Brown, J. H., & Kodric-Brown, A. (1977). Turnover rates in insular biogeography: Effect of immigration on extinction. *Ecology*, 58, 445–449. <https://doi.org/10.2307/1935620>
- Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (1998). *Model selection and inference. A practical information-theoretic approach*. New York, NY: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2917-7>
- Chardon, J. P., Adriaensen, F., & Matthysen, E. (2003). Incorporating landscape elements into a connectivity measure: A case study for the Speckled wood butterfly (*Pararge aegeria* L.). *Landscape Ecology*, 18, 561–573. <https://doi.org/10.1023/A:1026062530600>
- Chetkiewicz, C.-L. B., & Boyce, M. S. (2009). Use of resource selection functions to identify conservation corridors. *Journal of Applied Ecology*, 46, 1036–1047. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01686.x>
- Chetkiewicz, C.-L. B., St. Clair, C. C., & Boyce, M. S. (2006). Corridors for conservation: Integrating pattern and process. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, 317–342. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110050>
- Clavel, J., Julliard, R., & Devictor, V. (2011). Worldwide decline of specialist species: Toward a global functional homogenization? *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9, 222–228. <https://doi.org/10.1890/080216>
- Crooks, K. R., & Sanjayan, M. (2006). Connectivity conservation: Maintaining connections for nature. In R. K. Crooks, & M. Sanjayan (Eds.), *Connectivity conservation* (pp. 1–19). New York, NY: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511754821>
- Cutler, D. R., Edwards, T. C., Beard, K. H., Cutler, A., Hess, K. T., Gibson, J., & Lawler, J. J. (2007). Random forests for classification in Ecology. *Ecology*, 88, 2783–2792. <https://doi.org/10.1890/07-0539.1>
- Davies, Z. G., & Pullin, A. S. (2007). Are hedgerows effective corridors between fragments of woodland habitat? An evidence-based approach. *Landscape Ecology*, 22, 333–351. <https://doi.org/10.1007/s10980-006-9064-4>
- Dietz, M., Pir, J., & Hillen, J. (2013). Does the survival of greater horseshoe bats in Western Europe depend on traditional cultural landscapes? *Biodiversity and Conservation*, 22, 3007–3025. <https://doi.org/10.1007/s10531-013-0567-4>
- Dijkstra, E. W. (1959). A note on two problems in connexion with graphs. *Numerische Mathematik*, 1, 269–271. <https://doi.org/10.1007/BF01386390>
- Duvergé, P. L., & Jones, G. (1994). Greater horseshoe bats – activity, foraging behaviour and habitat use. *British Wildlife*, 6, 69–77.
- Duvergé, P. L., & Jones, G. (2003). Use of farmland habitats by greater horseshoe bats. In F. Tattersall & W. Manley (Eds.), *Conservation and conflict. Mammals and farming in Britain* (pp. 64–81). London, UK: The Linnean Society.
- Entwistle, A., Hutson, A. M., Racey, P. A., Walsh, A. L., Gibson, S., Hepburn, I., ... Bennet, N. (2001). *Habitat management for bats: A guide for land managers, land owners and their advisors*. Peterborough, UK: Joint Nature Conservation Committee.
- Entwistle, A. C., Racey, P. A., & Speakman, J. R. (1996). Habitat exploitation by a gleaning bat, *Plecotus auritus*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 351, 921–931. <https://doi.org/10.1098/rstb.1996.0085>
- Fagan, W. F., & Calabrese, J. M. (2006). Quantifying connectivity: Balancing metric performance with data requirements. In K. R. Crooks, & M. Sanjayan (Eds.), *Connectivity conservation* (pp. 297–317). New York, NY: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511754821>
- Fahrig, L., Baudry, J., Brotons, L., Burel, F. G., Crist, T. O., Fuller, R. J., ... Martin, J. L. (2011). Functional landscape heterogeneity and animal biodiversity in agricultural landscapes. *Ecology Letters*, 14, 101–112. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01559.x>
- Flanders, J., & Jones, G. (2009). Roost use, ranging behavior, and diet of greater horseshoe bats (*Rhinolophus ferrumequinum*) using a transitional roost. *Journal of Mammalogy*, 90, 888–896. <https://doi.org/10.1644/08-MAMM-A-352.1>
- Fonderflick, J., Azam, C., Brochier, C., Cosson, E., & Quékenborn, D. (2015). Testing the relevance of using spatial modeling to predict foraging habitat suitability around bat maternity: A case study in Mediterranean landscape. *Biological Conservation*, 192, 120–129. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.09.012>
- 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. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12034>
- Froidevaux, J. S. P., Boughey, K. L., Barlow, K. E., & Jones, G. (2017). Factors driving population recovery of the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) in the UK: Implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*, 26, 1601–1621.
- Goiti, U., Aithartza, J. R., Garin, I., & Zabala, J. (2003). Influence of habitat on the foraging behaviour of the Mediterranean horseshoe bat, *Rhinolophus euryale*. *Acta Chiropterologica*, 5, 75–84. <https://doi.org/10.3161/001.005.0106>
- Haas, C. A. (1995). Dispersal and use of corridors by birds in wooded patches on an agricultural landscape. *Conservation Biology*, 9, 845–854. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1995.09040845.x>
- Hale, J. D., Fairbrass, A. J., Matthews, T. J., Davies, G., & Sadler, J. P. (2015). The ecological impact of city lighting scenarios: Exploring gap crossing thresholds for urban bats. *Global Change Biology*, 21, 2467–2478. <https://doi.org/10.1111/gcb.12884>
- Heim, O., Treitler, J. T., Tschapka, M., Knörnschild, M., & Jung, K. (2015). The importance of landscape elements for bat activity and species richness in agricultural areas. *PLoS ONE*, 10, e0134443. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134443>
- Henry, M., Pons, J. M., & Cosson, J. F. (2007). Foraging behaviour of a frugivorous bat helps bridge landscape connectivity and ecological processes in a fragmented rainforest. *Journal of Animal Ecology*, 76, 801–813. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2007.01258.x>
- Hijmans, R. J., & van Etten, J. (2016). Raster: Geographic data analysis and modeling.
- Holland, R. A. (2007). Orientation and navigation in bats: Known unknowns or unknown unknowns? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 61, 653–660. <https://doi.org/10.1007/s00265-006-0297-7>
- Hutson, A. M., Mickleburgh, S. P., & Racey, P. A. (2001). *Microchiropteran bats: Global status survey and conservation action plan*. Gland, Switzerland: IUCN. <https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2001.SSC-AP.1.en>
- Jensen, M. E., Moss, C. F., & Surlykke, A. (2005). Echolocating bats can use acoustic landmarks for spatial orientation. *Journal of Experimental Biology*, 208, 4399–4410. <https://doi.org/10.1242/jeb.01901>
- 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. <https://doi.org/10.3354/esr00182>
- Kareiva, P. (1987). Habitat fragmentation and the stability of predator-prey interactions. *Nature*, 326, 388–390. <https://doi.org/10.1038/326388a0>
- Keeley, A. T. H., Beier, P., & Gagnon, J. W. (2016). Estimating landscape resistance from habitat suitability: Effects of data source

- and nonlinearities. *Landscape Ecology*, 31, 2151–2162. <https://doi.org/10.1007/s10980-016-0387-5>
- Kelm, D. H., Lenski, J., Kelm, V., Toelch, U., & Dzioc, F. (2014). Seasonal bat activity in relation to distance to hedgerows in an agricultural landscape in Central Europe and implications for wind energy development. *Acta Chiropterologica*, 16, 65–73. <https://doi.org/10.3161/150811014X683273>
- Kindlmann, P., & Burel, F. (2008). Connectivity measures: A review. *Landscape Ecology*, 23, 879–890.
- Krauss, J., Bommarco, R., Guardiola, M., Heikkinen, R. K., Helm, A., Kuussaari, M., ... Steffan-Dewenter, I. (2010). Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels. *Ecology Letters*, 13, 597–605. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01457.x>
- LaPoint, S., Gallery, P., Wikelski, M., & Kays, R. (2013). Animal behavior, cost-based corridor models, and real corridors. *Landscape Ecology*, 28, 1615–1630. <https://doi.org/10.1007/s10980-013-9910-0>
- LaRue, M. A., & Nielsen, C. K. (2008). Modelling potential dispersal corridors for cougars in midwestern North America using least-cost path methods. *Ecological Modelling*, 212, 372–381. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2007.10.036>
- Le Roux, M., Redon, M., Archaux, F., Long, J., Vincent, S., & Luque, S. (2017). Conservation planning with spatially explicit models: A case for horseshoe bats in complex mountain landscapes. *Landscape Ecology*, 32, 1005–1021.
- Lechner, A. M., Doerr, V., Harris, R. M. B., Doerr, E., & Lefroy, E. C. (2015). A framework for incorporating fine-scale dispersal behaviour into biodiversity conservation planning. *Landscape and Urban Planning*, 141, 11–23. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2015.04.008>
- Lees, A. C., & Peres, C. A. (2009). Gap-crossing movements predict species occupancy in Amazonian forest fragments. *Oikos*, 118, 280–290. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2008.16842.x>
- Limpens, H. J. G. A., & Kapteyn, K. (1991). Bats, their behavior and linear landscape elements. *Myotis*, 29, 63–71.
- 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. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00008-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00008-9)
- Mech, S. G., & Hallett, J. G. (2001). Evaluating the effectiveness of corridors: A genetic approach. *Conservation Biology*, 15, 467–474. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2001.015002467.x>
- Mortelliti, A., & Boitani, L. (2008). Interaction of food resources and landscape structure in determining the probability of patch use by carnivores in fragmented landscapes. *Landscape Ecology*, 23, 285–298. <https://doi.org/10.1007/s10980-007-9182-7>
- Phillips, S. J., Williams, P., Midgley, G., & Archer, A. (2008). Optimizing dispersal corridors for the Cape Proteaceae using network flow. *Ecological Applications*, 18, 1200–1211. <https://doi.org/10.1890/07-0507.1>
- Pinaud, D., Claireau, F., Leuchtman, M., & Kerbiriou, C. (2018a). Data from: Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance. *Dryad Digital Repository*, <https://doi.org/10.5061/dryad.g1t3680>
- Pinaud, D., Claireau, F., Leuchtman, M., & Kerbiriou, C. (2018b). Data from: Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance. *Movebank Data Repository*, <https://doi.org/10.5441/001/1.3pk82706>
- QGIS Development Team. (2015). *QGIS geographic information system*. Beaverton, OR: Open Source Geospatial Foundation.
- Quinn, J. F., & Harrison, S. P. (1988). Effects of habitat fragmentation and isolation on species richness: Evidence from biogeographic patterns. *Oecologia*, 75, 132–140. <https://doi.org/10.1007/BF00378826>
- R Development Core Team. (2016). *R: A language and environment for statistical computing*. v 3.3.2. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Rayfield, B., Fortin, M.-J., & Fall, A. (2011). Connectivity for conservation: A framework to classify network measures. *Ecology*, 92, 847–858. <https://doi.org/10.1890/09-2190.1>
- Razgour, O. (2015). Beyond species distribution modeling: A landscape genetics approach to investigating range shifts under future climate change. *Ecological Informatics*, 30, 250–256. <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2015.05.007>
- Roscioni, F., Rebelo, H., Russo, D., Carranza, M. L., Di Febbraro, M., & Loy, A. (2014). A modelling approach to infer the effects of wind farms on landscape connectivity for bats. *Landscape Ecology*, 29, 891–903. <https://doi.org/10.1007/s10980-014-0030-2>
- Rothley, K. D., & Rae, C. (2005). Working backwards to move forwards: Graph-based connectivity metrics for reserve network selection. *Environmental Modeling & Assessment*, 10, 107–113. <https://doi.org/10.1007/s10666-005-4697-2>
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2011.01970.x>
- Schnitzler, H.-U., & Grinnell, A. D. (1977). Directional sensitivity of echolocation in the horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum*. *Journal of Comparative Physiology A*, 116, 51–61. <https://doi.org/10.1007/BF00605516>
- Soanes, K., Vesk, P. A., & van der Ree, R. (2015). Monitoring the use of road-crossing structures by arboreal marsupials: Insights gained from motion-triggered cameras and passive integrated transponder (PIT) tags. *Wildlife Research*, 42, 241. <https://doi.org/10.1071/WR14067>
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04657.x>
- Taylor, P. P. D., Fahrig, L., & With, K. K. A. (2006). Landscape connectivity: A return to the basics. In K. R. Crooks, & M. Sanjayan (Eds.), *Connectivity conservation* (pp. 29–43). New York, NY: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511754821>
- Tjur, T. (2009). Coefficients of determination in logistic regression models – A new proposal: The coefficient of discrimination. *The American Statistician*, 63, 366–372. <https://doi.org/10.1198/tast.2009.08210>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.04.013>
- Van Etten, J. (2017). R package gdistance: Distances and routes on geographical grids. *Journal of Statistical Software*, 76, 1–21.
- Verboom, B., & Huiteima, H. (1997). The importance of linear landscape elements for the pipistrelle *Pipistrellus pipistrellus* and the serotine bat *Eptesicus serotinus*. *Landscape Ecology*, 12, 117–125. <https://doi.org/10.1007/BF02698211>
- White, G. C., & Garrott, R. A. (1990). *Analysis of wildlife radio-tracking data*. San Diego, CA: Academic Press.
- Zeller, K. A., McGarigal, K., & Whiteley, A. R. (2012). Estimating landscape resistance to movement: A review. *Landscape Ecology*, 27, 777–797. <https://doi.org/10.1007/s10980-012-9737-0>

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

How to cite this article: Pinaud D, Claireau F, Leuchtman M, Kerbiriou C. Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance. *J Appl Ecol*. 2018;00:1–12. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13228>

Supporting information

“Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance”

Published in Journal of Applied Ecology, 2018

David Pinaud¹, Fabien Claireau^{2, 3, 4}, Maxime Leuchtmann⁵ & Christian Kerbiriou^{2, 6}

Correspondence: David Pinaud, Email: pinaud@cebc.cnrs.fr

¹ Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, UMR7372 CNRS/Université La Rochelle, 405 route de Prissé-la-Charrière, 79360 Villiers-en-Bois, France

² Center for ecology and conservation sciences, UMR7204 MNHN-CNRS-UPMC-Sorbonne Université, National Museum of Natural History, 43, rue Buffon, 75005 Paris, France

³ Zoology Institute and Museum, University of Greifswald, Soldmann-Str. 14, D – 17 489 Greifswald, Germany.

⁴ Naturalia environnement, Site Agroparc, 20 rue Lawrence Durell, 84911 Avignon, France

⁵ Nature Environnement 17, 2 Avenue Saint-Pierre, 17700 Surgères, France

⁶ Biological Marine Station, National Museum of Natural History, 29900 Concarneau, France

Appendix S1: details for identifying commuting period

Within this study, time is expressed at local time (GMT + 2 h). For the study period, civil sunset occurred at c. 22:25, civil sunrise at c. 05:45. At this period, according to weekly counts, greater horseshoe bats leave first the colony, mainly between 22:05 and 22:30.

The greater horseshoe bat activity in hedgerows around the colony was not constant through the night and two peaks occurred (see Fig. A1): one in the beginning (30 min before and 25 min after the sunset) and one at the end (60 min before and 20 min after the sunrise). As we focused on the commuting period (our significant behavioural state for corridor identification, Abrahms *et al.* 2017) the greater horseshoe bat detections were taken into account only during these peaks of the night (22:00-22:55 local time), as detections in hedgerows outside this period reflected mainly individuals while foraging and less while commuting. In addition, the second peak in the morning was not taken into account because, according to our observations with radio-tracked greater horseshoe bats during

this study, some bats returned near the colony at the end of the night and foraged for some time in the immediate vicinity (< 2 km) before going in the colony building. Then it was not possible to exclude foraging activity at this time.

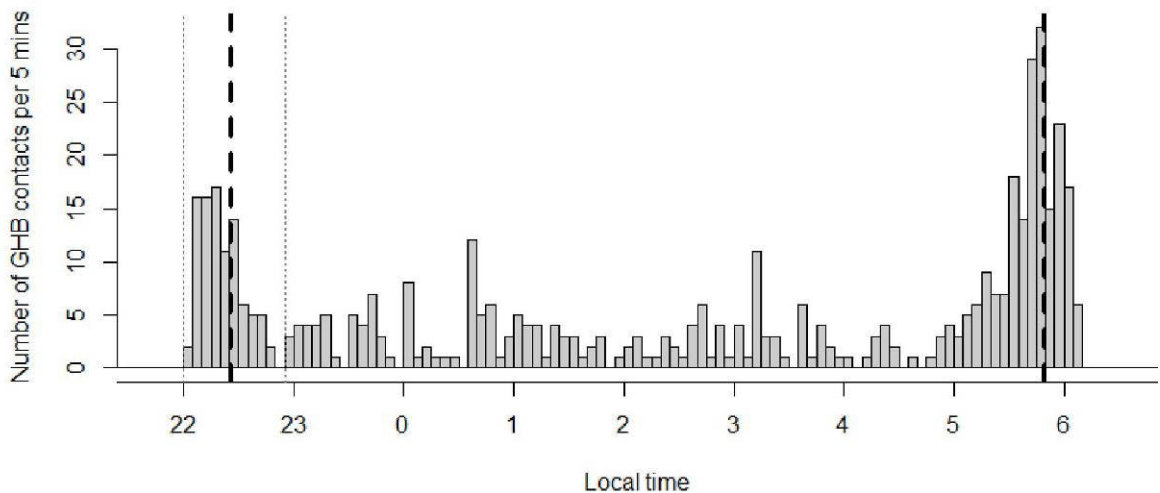


Fig. A1. Number of *Rhinolophus ferrumequinum* contacts per 5 mins lag. Large, black, dotted lines indicate sunset and sunrise time (local). Grey dotted lines indicate commuting period for sunset.

S2: Details on surveys

Acoustic sampling

Unattended full-spectrum recordings (at 384 kHz sampling rate in WAC and WAV format depending of acoustic recorders) were done for a whole night (from 30 min before civil sunset to 30 min after civil sunrise) using Song Meter (SM2BAT+ and SM3BAT) units fitted with omnidirectional ultrasonic microphone (Wildlife Acoustics Inc. USA). As these microphones present not exactly the same characteristics (with a possible small difference in sensitivity), we conducted preliminary tests on the field to find the accurate parameters in trigger thresholds, in order to obtain the same sensitivity in detection. In order to validate this, we compared a posteriori the results (accounting for habitats) and found no difference in the ratio of detection between the two types of microphone in our dataset. We used a trigger level threshold of -12 dB for SM3BAT and -6 dB for SM2+BAT, for frequencies

between 12 and 384 kHz. Recordings were performed only during favourable weather conditions, *i. e.* no rain, low wind speed and air temperature higher than 15°C.

Radio-tracking

On 08/07/2016 and on 17/07/2016, respectively 6 and 5 lactating GHB were fitted with LB-2X radio-transmitters (Holohil Systems Ltd, Canada) glued on fur between the shoulder blades with Skinbond® surgical adhesive. The weight The mass of the transmitter (0.31 g) plus adhesive never exceeded 5% of body weight (Aldridge and Brigham 1988, Wilkinson and Bradbury 1988) Bats were captured by placing two Austbat Harptraps (Faunatech/Austbat, Australia) closed to the colony at a place where they usually commute at the beginning of the night. Weekly counts at emergence showed no effect of capture sessions. Body mass and forearm length were measured respectively with a digital scale to the nearest 0.1 g and a calliper to the nearest 0.1 mm. Sex was assessed by inspecting genitalia and finger joints of wings were trans-illuminated to distinguish juveniles from adults (Anthony 1988). Only lactating females were equipped, lactation status was determined by the occurrence of enlarged nipples surrounded by a hairless skin area and. Transmitter mass represented on average 2.5% of the body mass, and never exceeded the recommended limit of 5% (Aldridge & Brigham 1988). Three bats lost quickly their transmitter (probably because of fur moulting that begins at this period), so 8 individuals were effectively tracked.

From dusk to dawn from 11/07/2016 to 22/11/2016, bats were radio-tracked by four to five trained tracking teams in cars or on foot, coordinated with cellphones and equipped with radio-receivers (Australis 26k Scanning Receiver, Titley Scientific, Columbia USA) and hand-held three-element Yagi antennae. Tracking began 1-2 days after equipment to ensure a recovery after capture. Between three and five bats were tracked each night for as long as the radio transmitter batteries functioned. Bats were mainly tracked by the “homing in” technique, which involved following the bats closely as possible (without disturbance) to localize them and identifying their commuting routes and foraging areas *in situ* (White & Garrott 1990). In some cases where homing-in technique could not be applied, synchronized cross bearings were used from two or three coordinated teams with azimuth measures taken within five seconds. In this case, positions of bats from its bearings were estimated later using

the “triangulation” QGIS plugin (Borys Jurgiel, Faunalia, Italy). Using field experiments with a hidden transmitter, the accuracy of this technique was estimated to be < 100m. The bats' locations and behaviours were recorded at five minute intervals over the entire night and reported as precisely as possible on 1:25 000 topographic maps (*Institut National de l'Information Géographique et Forestière*, France). Rapid, directional movements between distant sites were classified as commuting; while a bat kept flying in a relatively small area was classified as foraging. To assess habitat use from tracking, locations classified as commuting were excluded later from the analysis.

To avoid temporal autocorrelation, we considered tracking locations to be independent when at least 30 min separated two consecutive locations (White & Garrott 1990). Locations with a lower interval were then excluded from the analysis. This duration corresponds to the minimum time needed for a bat to move from one end of its home range to the other; it was estimated according to some observations of our tracked GHB returning to the colony (for example 15 min for a return from a distance of 4 km away). The radio-tracked individuals leave generally the colony between 22:10 and 22:30 and reach rapidly their foraging areas within 30 min. On various occasions, we observed at least two radio-tracked individuals commuting in vineyards when leaving the colony's village.

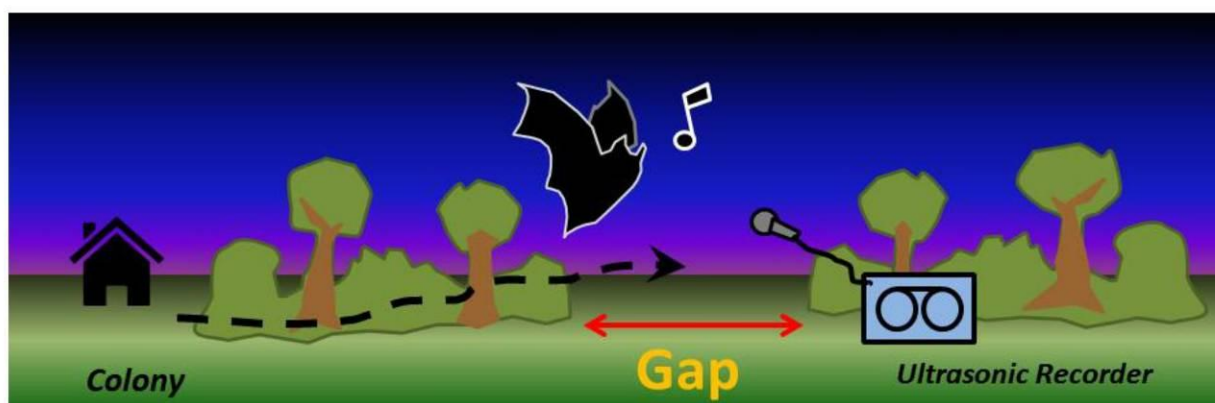


Fig. A2. Schematic view of the acoustic sampling for recording greater horseshoe bat given a gap in corridors around the colony.

S3: Assessment of connectivity models with acoustic data considering presence / absence of greater horseshoe bats during the whole night

Models	K	AICc	Δ AICc	AICc weight	Cum. weight	Log Likelihood	Tjur's R ²
<i>~Dist. Colony</i>	2	92.91	0.00	0.86	0.86	-44.37	0.171
<i>~Acc. Cost</i>	2	96.58	3.66	0.14	1.00	-46.21	0.129
<i>~1</i>	1	104.41	11.49	0.00	1.00	-51.18	-

Table A. Results of model selection in order to validate the accumulated cost surface model, explaining the presence of greater horseshoe bat during the whole night (n = 75 locations, for one night) as a function of distance and accumulated cost from the colony. The last column shows the coefficient of discrimination Tjur's R², as a standard measure of explanatory power for the two models.

S4: Details about the radio-tracked greater horseshoe bats

Bat ID	A	B	C	D	E	F	G	H
Date of capture	11/07/2016	11/07/2016	11/07/2016	11/07/2016	11/07/2016	11/07/2016	17/07/2016	17/07/2016
Sex	Female	Female	Female	Female	Female	Female	Female	Female
Status	Lactating	Lactating	Lactating	Lactating	Lactating	Lactating	Lactating	Lactating
Forearm Length (mm)	55.3	55.7	55.0	56.1	55.9	54.1	54.6	57.7
Weight (g)	20.3	17.2	16.7	18.2	18.9	17.6	21.8	22.6
N independent locations	7	5	12	8	11	1	6	7
Average (Max.) distance to colony (m)	5814 (7582)	3774 (6950)	6024 (6645)	6912 (7555)	4532 (6433)	218 (-)	4623 (7164)	1879 (2850)

Table B. Details about the 8 greater horseshoe bats radio-tracked during the study.

S5: Calculating relative connecting values for corridors

As an efficient mapping tool for landscape planners and conservationists, one can calculate and map the relative connecting values for natural corridors (hedgerows and woodlands) in the vicinity of the colony, in order to identify the need for protecting high connecting hedgerows and for enhancing / restoring low connectivity elements. This could be done by calculating the residuals from a regression model of the accumulated cost from Least-Cost Path (LCP) analysis as a function of distance to the colony (here the scaled-Pearson residuals from a GAM, see Fig. A3). Then one could map these residuals as relative connecting values in a specific landscape independently of the distance to the colony.

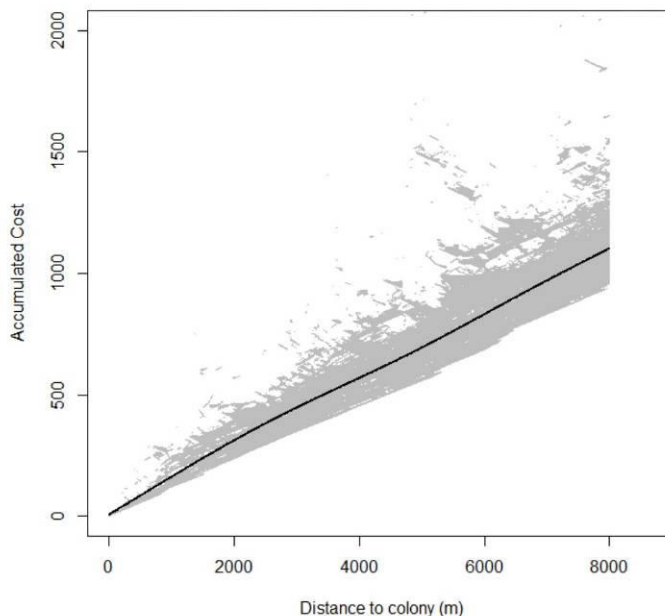


Fig A3. Predicted Accumulated cost from LCP analysis as a function of distance to the colony for each pixel of the map. Black line indicates prediction from a GAM model.

S6: Testing different scenarios on connectivity

The proposed framework can be used to test different scenarios on connectivity. By changing values of conductance / resistance for some habitats / pixels, one can calculate accumulated costs with LCP and compare the different scenario using independent dataset to validate those scenarios. As an

example of application, we present two scenarios with different conductance values for highways. In fact, large roads like highways could represent an important barrier for bats (Berthinussen & Altringham 2012), we created two connectivity submodels with two different (extreme) values for highways (larger than 30 m): set like every open space (i. e. related to the distance to the closest connecting feature) or set to null (meaning impassable, except at bridges or tunnels). The corresponding rasters of conductance were calculated and the accumulated cost surface estimated for each cell of the landscape using the colony as the origin location. The two connectivity sub-models (highways considered as passable or impassable by bats) performance were assessed using these both independent datasets with the same statistical comparisons as the paper.

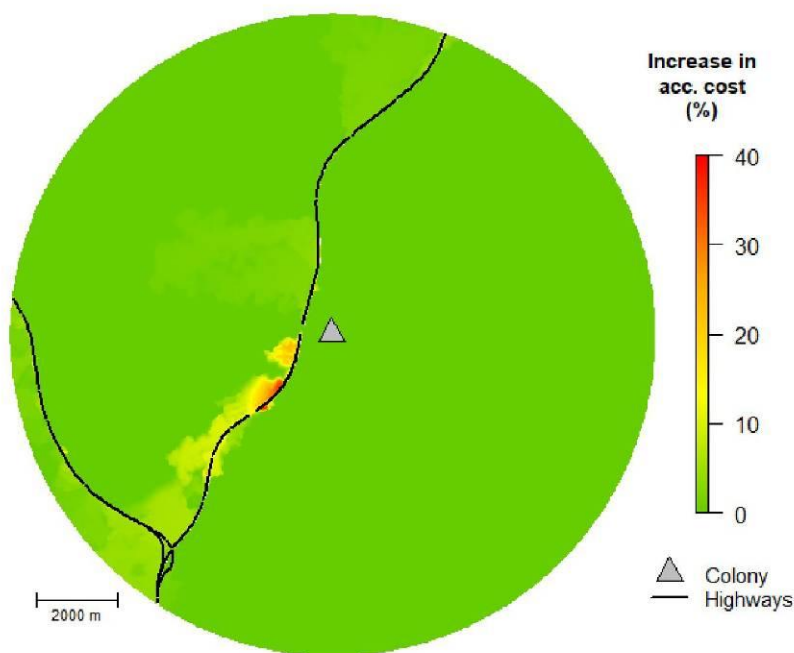


Fig. A4: Relative difference (in %) in accumulated cost between the both scenarios (impassable highways and passable highways).

Models	K	AICc	Δ AICc	AICc weight	Cum. weight	Log Likelihood	Tjur's R ²
~ Acc.Cost IH	2	82.85	0.00	0.38	0.38	-39.34	0.2410
~ Acc.Cost PH	2	83.03	0.18	0.35	0.73	-39.43	0.2382
~ Dist. Colony	2	83.57	0.72	0.27	1.00	-39.70	0.2362
~ 1	1	100.07	16.44	0.00	1.00	-49.01	-

Table C. Results of model selection in order to validate the accumulated cost surface models with the both scenarios: Impassable Highways (IH) and Passable Highways (PH), explaining the presence of greater horseshoe bat during the commuting period ($n = 75$ locations, for one night) as a function of distance and accumulated cost from the colony. The last column shows the coefficient of discrimination Tjur's R², as a standard measure of explanatory power for the 3 models.

Parameter	Estimate	Std. Error	t-value	2.5% CI	97.5% CI
StdzdDiff IH	0.0596	0.0264	2.254	0.0048	0.1099
StdzdDiff PH	0.0504	0.0252	1.998	-0.0043	0.1043

Table D. Estimates of standardized differences between accumulated costs at random locations and accumulated cost at the tracking locations from both modelling scenarios "Impassable Highways" (IH) and "Passable Highways" (PH). These standardized differences were estimated with mixed models *StdzdDiff* ~ 1 with individual ID as random effect. The 95% confidence intervals were estimated with a parametric bootstrap.

According to these results, a small impact of highways was detected, limited in space. The overall impact needs to be confirmed with a specific sampling design for detecting the loss of connectivity in the landscape due to these roads.

REFERENCES

- Abrahms, B., Sawyer, S.C., Jordan, N.R., McNutt, J.W., Wilson, A.M. & Brashares, J.S. (2017) Does wildlife resource selection accurately inform corridor conservation? *Journal of Applied Ecology*, **54**, 412–422.
- Aldridge, H.D.J.N. & Brigham, R.M. (1988) Load carrying and maneuverability in an insectivorous bat: a test of the 5% 'rule' of radio-telemetry. *Journal of Mammalogy*.
- Anthony, E. (1988) Age determination in bats (*Chiroptera*). *Ecological and behavioural methods for the study of bats* (ed T.H. Kunz), pp. 47–58. Smithsonian Institution Press, Washington.

- 177 Barataud, M. (2015) *Acoustic Ecology of European Bats : Species Identification, Study of Their*
178 *Habitats and Foraging Behaviour*. Biotope & National Museum of Natural History, Paris.
- 179 Bas, Y., Bas, D. & Julien, J.-F. (2017) Tadarida: a toolbox for animal detection on acoustic recordings.
180 *Journal of Open Research Software*, **5**.
- 181 Berthinussen, A. & Altringham, J. (2012) The effect of a major road on bat activity and diversity.
182 *Journal of Applied Ecology*, **49**, 82–89.
- 183 White, G.C. & Garrott, R.A. (1990) *Analysis of Wildlife Radio-Tracking Data*. Academic Press, San
184 Diego.
- 185

CHAPITRE 2 : EFFETS DES AUTOROUTES SUR L'ACTIVITE CHIROPTEROLOGIQUE ET LA GENETIQUE DES POPULATIONS

Un manuscrit :

Claireau F, Bas Y, Pauwels J, Barré K., Machon N, Allegrini B, Puechmaille SJ & Kerbiriou C. major revision. Large negative effects of major roads on bat activity. *Biological conservation*.

Une synthèse :

Claireau F*, Jan PL*, Petit E, Kerbiriou C, Allegrini B, Machon N† & Puechmaille SJ†.
Effet des autoroutes ou 2X2 voies contigües sur la structuration génétique et les échanges d'individus de Chiroptères.

* : co-premier auteur, ordre alphabétique ; † : co-dernier auteur

1. CONTEXTE

Les infrastructures de transports (ex. : routes) ont été identifiées comme l'une des dix principales pressions sur la biodiversité (Maxwell *et al.* 2016). La circulation des véhicules induit une mortalité directe par collision, entraîne des nuisances lumineuses et sonores et une pollution chimique (Forman & Alexander 1998; Forman 2000; Trombulak & Frissell 2000). Ces changements dans les configurations du paysage ont des conséquences à plusieurs niveaux : du comportement individuel à la dynamique des populations en passant par le fonctionnement global des écosystèmes (Quinn & Harrison 1988; Saunders, Hobbs & Margules 1991; Fischer & Lindenmayer 2007; Krauss *et al.* 2010). Bien que la zone d'effet des routes [c.-à-d., road-effect zone (Forman & Deblinger 2000)] ait été très bien documentée pour les mammifères terrestres, les oiseaux et les amphibiens, les études sur l'effet des routes sur les chauves-souris font défaut. En effet, seulement deux études ont été publiées à ce jour et qui se limitent aux abords des axes majeurs (c-a-d, inférieur à 1,6 km de distance à la route) (Berthinussen & Altringham 2012a; Kitzes & Merenlender 2014) et non à l'échelle des capacités de déplacement des chauves-souris qui vont au-delà.

Par ailleurs les routes peuvent avoir des effets négatifs sur la structuration et la diversité génétique des populations. Ces conséquences peuvent être l'abaissement du taux d'hétérozygotie et du polymorphisme génétique (Forman & Alexander 1998). Là aussi, plusieurs groupes biologiques ont déjà fait l'objet d'études génétiques en lien avec la fragmentation et donc la rupture des continuités écologiques comme par exemple les grands mammifères (Hartl *et al.* 2005), les amphibiens (Cushman 2006), les reptiles (Clark *et al.* 2010), les insectes (Keller & Largiader 2003), les arachnides (Ramirez & Haakonsen 1999). Mais aucune littérature n'est disponible en ce qui concerne la fragmentation des paysages par

les routes sur la structuration génétique des populations de chauves-souris (Berthinussen 2013).

Ce chapitre a donc pour objet de s'intéresser à l'impact des autoroutes¹ à l'échelle des capacités de déplacement des chauves-souris, ce sur différents pas de temps (Figs. 19 et 20, pages suivantes).

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'effet des autoroutes sur l'activité de chasse et de transit des chauves-souris (Fig. 19). Notre hypothèse principale est que l'activité des chauves-souris sera plus forte dès lors que l'on s'éloigne de l'autoroute jusqu'à une stabilisation à une distance à laquelle l'autoroute n'a plus d'effet. En effet, les routes jouent potentiellement un rôle de barrière, représentent un risque de collision routière, dérangent les espèces par le bruit et la lumière des phares émis par les véhicules, et rompent des corridors. Ces effets cumulés constituent une zone d'effet des routes non estimé à ce jour pour les chauves-souris (Fig. 19) [c.-à-d., *road-effect zone* (Forman & Deblinger 2000)]. Ainsi, nous nous attendons à un évitement des autoroutes par les chauves-souris dans leurs déplacements quotidiens liés à la recherche de nourriture. Par exemple, les zones de chasse au niveau de l'autoroute ou de l'autre côté d'un gîte seraient évitées en faveur des zones de chasse plus proches du gîte (Fig. 19). Par ailleurs, les connaissances actuelles montrent un effet négatif significatif linéaire des autoroutes sur l'activité d'une espèce de chauves-souris : *Pipistrellus pipistrellus* jusqu'à 1,6 km de distance (Berthinussen & Altringham 2012a). Il est donc

¹ Étant définies comme autoroutes : les autoroutes concédées, les Voies Rapides Urbaines de type 50 (VRU50) et les Voies à Caractère Autoroutier (VCA) (<https://www.ecologique-solidaire.gouv.fr/louverture-des-donnees-du-reseau-routier-national>)

possible que cet effet linéaire aille au-delà de 1,6 km et puisse par ailleurs concerner de nombreuses autres espèces.

Pour tester cela, nous avons mené des campagnes acoustiques sur trois sites en France à différentes distances d'une autoroute et dans différents habitats. Puis, nous avons testé l'effet de la distance par rapport aux autoroutes sur l'activité des chauves-souris en considérant les variables d'habitats dans lesquels les enregistreurs ont été posés (article 3).

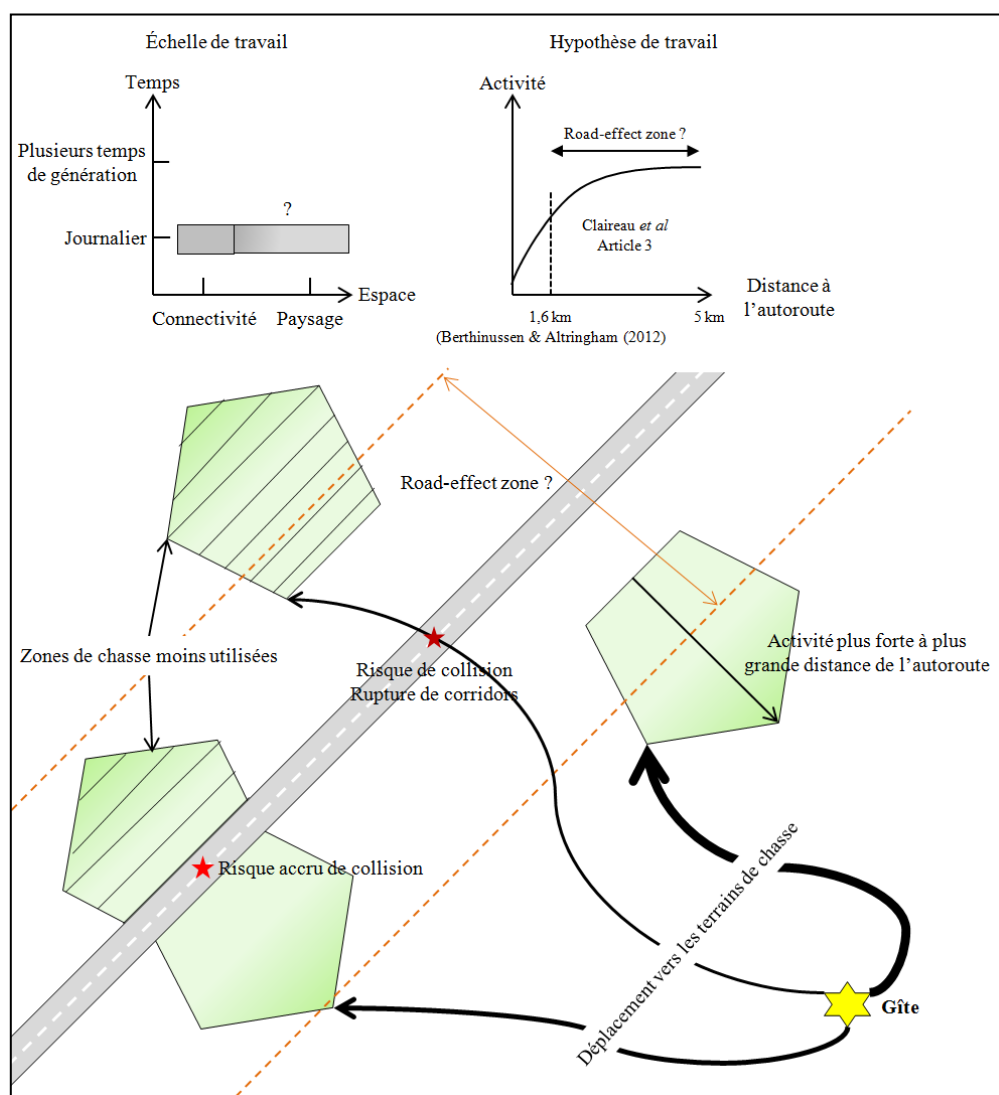


Figure 19 : Schéma illustrant l'hypothèse de travail de l'article 3

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à savoir si les autoroutes ont un impact sur la structuration génétique des populations et la dispersion des individus (c.-à-d., échanges d'individus) (Fig. 20). Notre hypothèse de travail est d'avoir moins d'échanges d'individus entre colonies séparées par une autoroute qu'entre colonies du même côté de l'autoroute. En effet, avec l'effet barrière de l'autoroute et ses effets associés (ex. : risque de collision) on peut s'attendre à un évitement du franchissement de la route. Néanmoins, l'avantage de pouvoir se reproduire peut-être beaucoup plus fort (c-a-d, fitness) que les effets négatifs associés aux autoroutes. Ainsi, l'hypothèse posée nécessite d'être vérifiée.

Pour tester cela, nous avons échantillonné cinq sites dans une zone traversée par une autoroute comportant des colonies de parturition de Petit rhinolophe (*Rhinolophus hipposideros*) (synthèse 1).

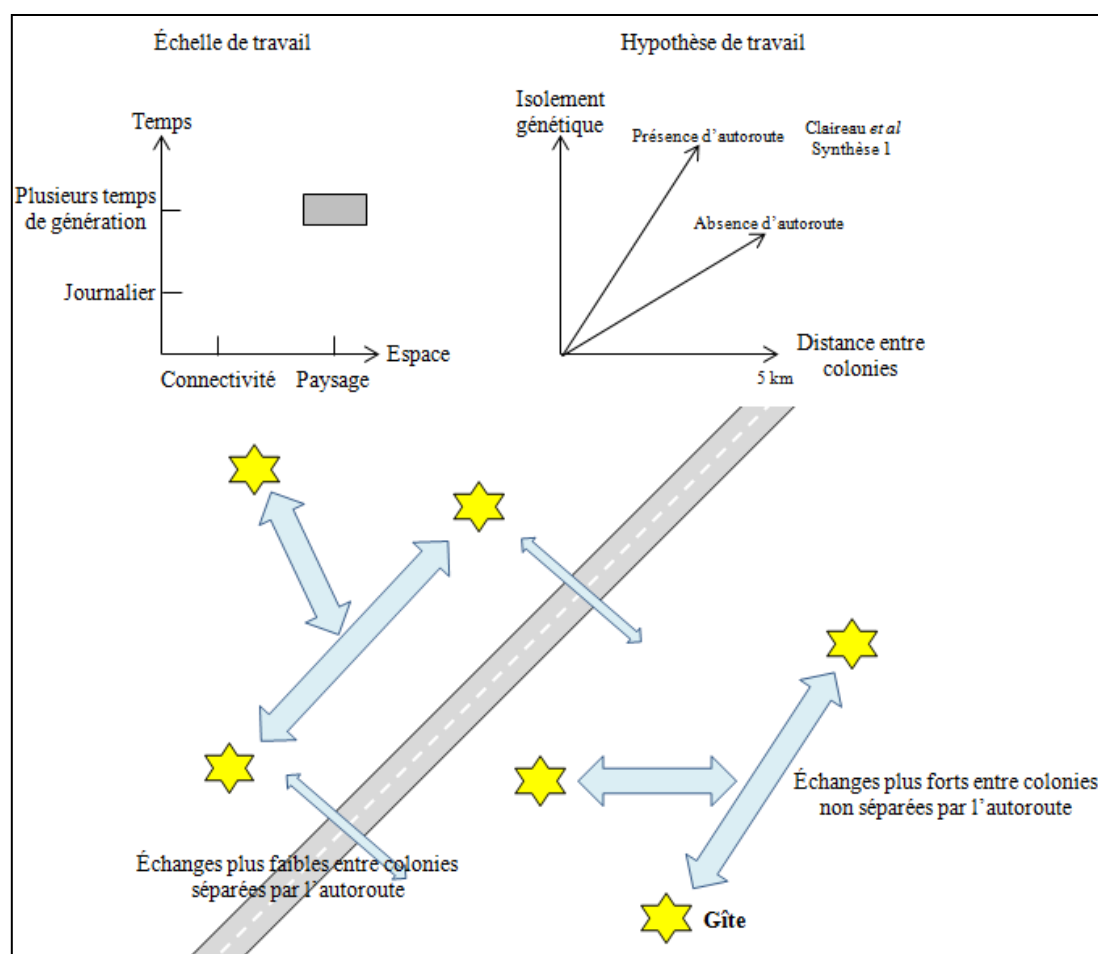


Figure 20 : Schéma illustrant l'hypothèse de travail de la synthèse 1

2. MATERIEL ET METHODES

Afin d'évaluer l'impact des autoroutes sur l'activité des chauves-souris, nous avons disposé des enregistreurs acoustiques à différentes distance de l'autoroute, dans cinq grands types d'habitats et dans trois sites de plaines en France : l'un dans un contexte d'agriculture intensive, le deuxième dans un site bocager et le dernier, étant l'intermédiaire entre les deux autres. Les aires d'études étaient de 10 km² et centrées sur l'autoroute afin de correspondre aux capacités de déplacement des chauves-souris. Ensuite, nous avons utilisé la méthode développée dans l'article 1 pour le traitement des données acoustiques. Puis, nous avons utilisé des modèles mixtes tenant compte de la distance à la route en fonction des habitats autour des points d'échantillonnage. Par ailleurs, nous avons approfondi cette modélisation afin d'observer si les effets observés étaient linéaires ou non. Enfin et en fonction des résultats obtenus des modèles mixtes, nous avons évalué (par extrapolation) la zone d'influence totale exercée [c.-à-d., *road-effect zone* (Forman 2000)] par les autoroutes sur l'activité des chauves-souris à l'échelle de l'Europe et les sites Natura 2000 (article 3).

De plus, dans le but d'évaluer l'effet sur la génétique des populations, nous avons échantillonné plusieurs colonies de Petits rhinolophes (*Rhinolophus hipposideros*) en France séparées par une autoroute. Nous avons choisi cette espèce car elle est réputée pour être sensible à la fragmentation des habitats (cf. article 3) et pour laquelle des marqueurs microsatellites ont été développés (Puechmaille, Mathy & Petit 2005; Zarzoso-Lacoste *et al.* 2018). Dans un premier temps, nous avons regardé les mouvements d'individus entre les colonies puis nous nous sommes intéressés à la structuration génétique de la population. Afin de compléter ces résultats, nous avons également étudié l'assignation de population et de parenté de chaque individu échantillonné (synthèse 1).

3. PRINCIPAUX RESULTATS

Concernant notre première étude (article 3), parmi les 13 taxons de chauves-souris étudiés, l'activité de cinq taxons semblent significativement affectés par les grands axes routiers. Ces taxons sont : les "clutters" (c.-à-d., les espèces volant au plus proche du feuillage), *Eptesicus serotinus*, *Myotis spp.*, *Pipistrellus pipistrellus* and *R. hipposideros*. En effet, l'activité des chauves-souris diminue fortement dès lors que l'on se rapproche des autoroutes. Cet effet semble très important car il ne disparaît pas, même à 5 km (Fig. 21, exemple pour *R. hipposideros*).

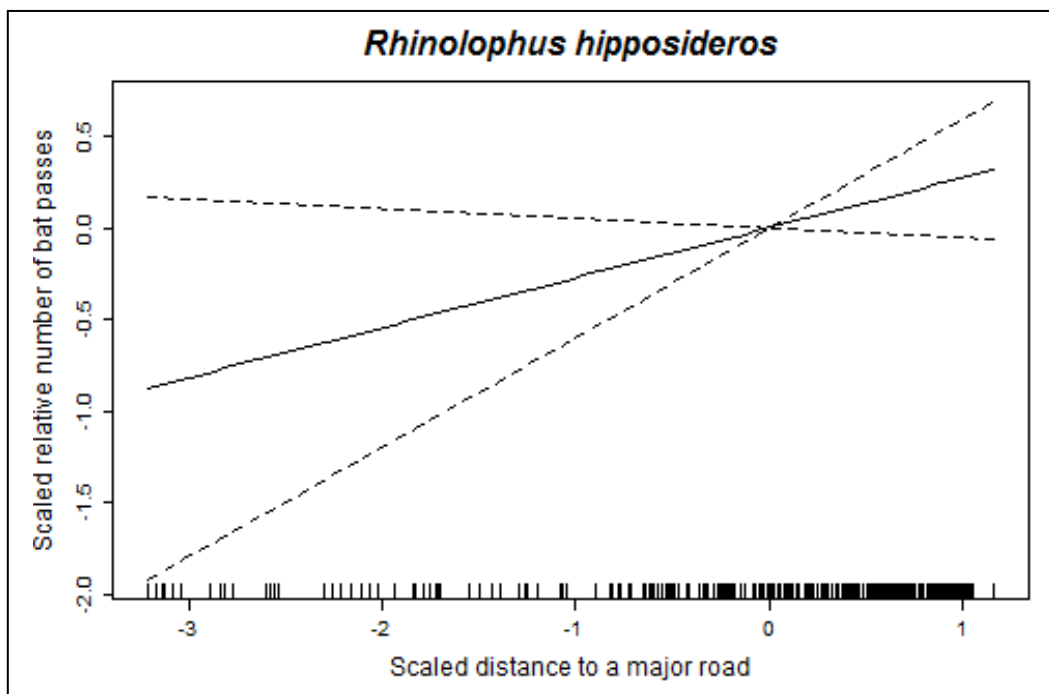


Figure 21 : Modèle mixte additif généralisé (GAMM) pour le Petit rhinolophe négativement impactés

Par ailleurs, compte tenu de ces résultats, la zone d'effet des autoroutes serait de 35,32 % du territoire de l'Union européenne (28 pays) et de 5,19 % des zones Natura 2000 (Fig. 22).

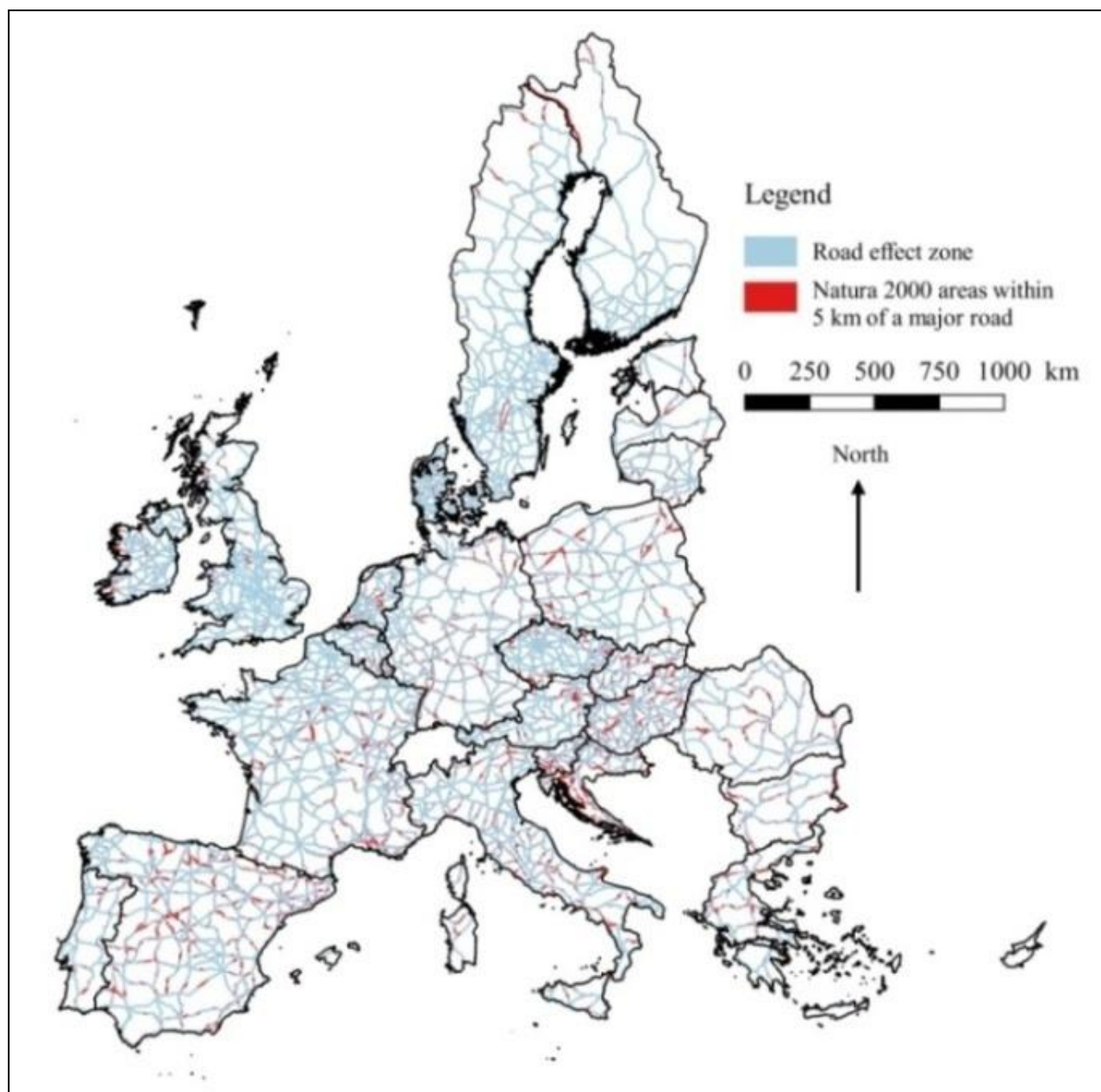


Figure 22 : Cartes des surfaces impactées par les autoroutes en Union européenne (28 pays) dont nous disposons les données autoroutières datant de 2005. Les données Natura 2000 datent de 2017

Dans notre seconde étude (synthèse 1), nous avons trouvé une structuration génétique significative entre les colonies de Petit rhinolophe étudiées dont la barrière aux flux géniques correspond au tracé de la nationale N2 (2X2 contigües) (Fig. 25). Cette barrière a été confirmée par une analyse par bootstrap.

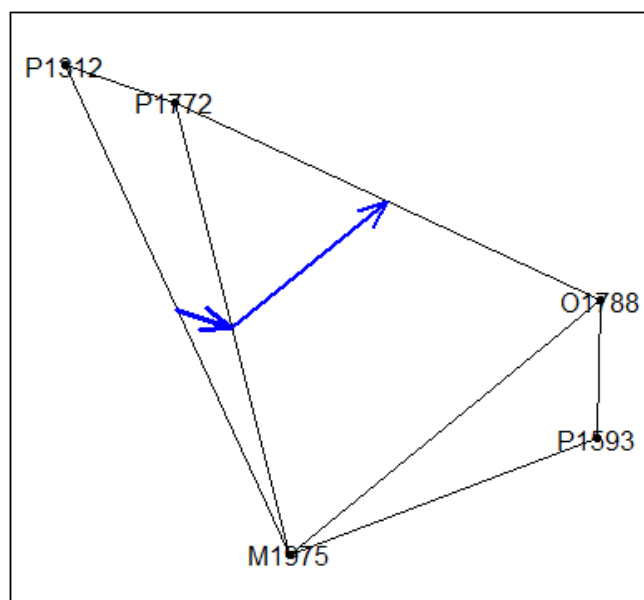


Figure 23 : Barrière génétique (trait bleu) qui correspond au tracé de la nationale 2

4. DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Avec ces deux études, nous avons ainsi montré que les autoroutes agiraient négativement sur l'activité des chauves-souris ayant ainsi des conséquences sur la structuration génétique des populations (article 3 et synthèse 1) et sur la taille des colonies causée par la perte d'habitat de chasse (Froidevaux *et al.* 2017). Ainsi, on peut dire que malgré une emprise foncière faible des autoroutes, elles constituent une véritable pression sur la biodiversité au même titre que l'agriculture intensive.

Ces résultats inquiétants doivent être pris en compte dans l'aménagement du territoire et dans les dossiers réglementaires. En effet, ces études ont mis en évidence un effet majeur qui est souvent négligé dans la hiérarchie d'atténuation des impacts qu'impose la séquence ERC

(Bigard, Pioch & Thompson 2017). Il est impératif de penser à des alternatives comme la requalification des routes (ex. : éviter de construire de nouvelles routes dans des habitats de bonne qualité pour les chauves-souris et/ou d'élargir les routes existantes), tenir compte de ces effets à grande échelle et préserver autant que possible les corridors écologiques.

Si l'évitement total des impacts des routes sur la biodiversité est impossible, il est nécessaire de réduire, voire d'effacer, l'effet de barrière provoqué sur les chauves-souris. En premier lieu le tracé de la route doit éviter les zones d'intérêt pour les chauves-souris et protégées (ex. : zone Natura 2000) à plus de 5 km (c.-à-d., évitement partiel). Après cet évitement partiel, de nombreuses mesures d'atténuation peuvent être proposées afin de rétablir la connectivité des habitats, notamment la mise en place de passages supérieurs (passages à faune, chiroptéroducts), passages inférieurs (ponts), réduction de la vitesse, dissuasion et dérivation (plantation de haies) et amélioration de l'habitat (Møller *et al.* 2016). Des études récentes ont suggéré que les passages à faune et les passages inférieurs pourraient constituer la meilleure solution pour restaurer les continuités écologiques, tandis que les chiroptéroducts semblent être moins efficaces (cf. article 4) (Berthinussen & Altringham 2012b).

Lorsque l'évitement des impacts et les mesures de réduction des impacts ne suffisent pas, il est impératif de proposer des mesures compensatoires afin d'atteindre le *no net loss*. Ces mesures peuvent être la restauration des zones d'alimentation et de la connectivité des habitats dans le paysage autour des colonies comprises dans la *road-effect zone*.

Enfin, pour la construction de routes futures, nous préconisons l'évaluation de la perte de connectivité et d'activité des chauves-souris avant et après construction dans le but d'évaluer les gains obtenus par les mesures d'atténuation et de compensation. Ce type d'étude permettra

de comprendre si les mesures employées sont pleinement efficaces ou non pour évaluer la non perte nette demandée par la réglementation.

ARTICLE N°3

Major roads have important effects on insectivorous bats activity

Claireau Fabien ^{1,2,3,*}, Bas Yves ¹, Pauwels Julie ^{1,4}, Barré Kévin ^{1,5}, Machon Nathalie ¹, Allegrini Benjamin ³, Puechmaille Sébastien J. ^{2,6}, and Kerbiriou Christian ^{1,5}

Affiliations:

¹ Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation (CESCO), Muséum national d'Histoire naturelle, Centre National de la Recherche Scientifique, Sorbonne Université, CP 135, 57 rue Cuvier 75005 Paris, France.

² University of Greifswald, Zoological Institute and Museum, Loitzer-Str. 26, D – 17 489 Greifswald, Germany.

³ Naturalia environnement, Site Agroparc, Rue Lawrence Durell, 84 911 Avignon, France.

⁴ Auddicé environnement, Roost-Warendin, France.

⁵ Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation (CESCO), Muséum national d'Histoire naturelle, Station de Biologie Marine, 1 place de la Croix, 29900 Concarneau, France

⁶ ISEM, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France.

*** Corresponding author:**

f.claireau@naturalia-environnement.fr

Word counts: abstract=234 (max 250); main text and keywords=4673; authors' contributions=53; acknowledgements=94; data accessibility=13; ORCHID=17; table and figure legends=209; references=2282; total=7 575 (max 8 000)

Authors' contributions

FC, YB, SJP, BA and CK designed the study. FC and CK implemented the methodology. FC collected the data and digitalized environmental data. FC and CK analysed the data with the assistance of JP and led manuscript writing. All authors critically contributed to manuscript drafts and gave final approval for publication.

Acknowledgements

We thank Pierre Jorcin for his help with GIS analysis and the World Bat Library for providing publications. Naturalia Environment is an environmental consultancy involved in Environmental Impact Assessment studies. Two of the authors, Fabien Claireau and Benjamin Allegrini were employees at Naturalia Environment at the time of submission. Authors thus declare a direct conflict of interest according to Elsevier ethics. Authors furthermore take complete responsibility for the integrity of the data sampling and the accuracy of their analysis. Funding for this work was supported by “Naturalia Environnement” and ANRT [grant number: 2015/0893].

Data accessibility

Acoustic data was delivered to the citizen science program “VigieChiro” (<https://vigiechiro.herokuapp.com/>)

ORCID

Fabien Claireau: <https://orcid.org/0000-0003-3848-7427>

Yves Bas: <https://orcid.org/0000-0003-4249-1429>

Sébastien J. Puechmaille: <https://orcid.org/0000-0001-9517-5775>

Jean-François Julien: <https://orcid.org/0000-0003-2791-8543>

Christian Kerbiriou: <https://orcid.org/0000-0001-6080-4762>

Major roads have important effects on insectivorous bats activity

Running title: Roads and bat activity

Highlights

- Major roads affect activity in five of the thirteen studied taxa
- Low-flying species are more affected than those flying in the open
- Road impacts may be due to road kills, traffic disturbance and rupture of connectivity

Abstract (234/250)

The development of transport infrastructures has been identified as one of the ten main pressures on biodiversity. Although the effects of transport infrastructures have been very well documented for terrestrial mammals, birds and amphibians, there is a lack of studies investigating the effects of roads on bats. To assess the impact of road on bat activity, we carried out full-night acoustic recordings of bat calls at 306 sampling points at different distances from a major road in three study sites in France. To assess the relationship between bat activity and the distance to the major road, we performed generalized linear mixed models for thirteen different taxa, and additionally explore non-linear effect with generalized additive mixed models. Our results showed a significant negative effect of major roads on bat activity for five taxa extending at least 5 km away from the road. Considering this strong effect of roads, causing a decrease of bat activity up to five km away from the road, we estimated that 35 % of the European Union and 5 % of Natura 2000 areas in the European Union are impacted. These worrying results must be taken into account in landscape management. It is necessary to find alternatives to the construction of new roads. Finally, to improve habitat

connectivity and foraging areas in the current road-effect zone, efficient mitigations and offset measures should be implemented and sized proportionally to the disturbance caused.

Keywords

Chiroptera, barrier effect, foraging activity, habitat fragmentation, habitat degradation, road-effect zone

1 Introduction

Transport has been identified as one of the ten main pressures on biodiversity (Maxwell *et al.* 2016) because it contributes to habitat destruction, causes habitat degradation and fragmentation barrier effects, leads to light and noise disturbance, chemical pollution and direct mortality by collision with vehicles (i.e., road kills) (Forman & Alexander 1998; Forman & Deblinger 2000; Trombulak & Frissell 2000). These dramatic changes in landscape configurations have consequences on the overall functionality of ecosystems, from individual behaviour all the way up to population dynamics (Quinn & Harrison 1988; Saunders, Hobbs & Margules 1991; Krauss *et al.* 2010). Indeed, the cumulative ecological effect of roads on biodiversity at the landscape scale (i.e., the road effect-zone) can extend to several hundreds of meters away depending the type of road, the traffic volume and the habitat crossed by the road (Forman 2000; Forman & Deblinger 2000).

By 2050, the global road infrastructure is expected to have increased by roughly 60% compared to the 2010 levels (Dulac 2013). In this context, several studies have been carried out, in recent year, with the aim to document the road effects on biodiversity and ecosystem functioning [i.e., road ecology (Forman 1998)]. Studies currently cover a variety of taxa, terrestrial mammals, amphibians and birds (Fahrig *et al.* 1995; Benítez-López, Alkemade & Verweij 2010). Surprisingly little is comparatively known about the impact of roads on bat

activity (Berthinussen & Altringham 2012b; Kitzes & Merenlender 2014), while the effects of roads on bats are potentially numerous including habitat loss, reduced habitat quality, mortality by collision and, barrier effects among habitats (Lodé 2000; Bontadina, Schofield & Naef-Daenzer 2002; Zurcher, Sparks & Bennett 2010; Siemers & Schaub 2011; Bennett & Zurcher 2013; Frey-Ehrenbold *et al.* 2013; Medinas, Marques & Mira 2013; Kitzes & Merenlender 2014; Abbott *et al.* 2015; Fensome & Mathews 2016; Møller *et al.* 2016). The cumulative effects of these factors could be deleterious to bat populations (Altringham & Kerth 2016).

Most bat species use linear elements, such as hedges, to commute nightly (Frey-Ehrenbold *et al.* 2013) partly because a majority of them are reluctant to fly in the open or due to their avoidance of light (Azam *et al.* 2018). Major roads act as barriers for bat movement because they disconnect existing flight paths along linear features (e.g. hedges) and interrupt bat commuting movements between roosts and foraging areas (Bennett & Zurcher 2013). Even small gaps in linear element can affect drastically the probability of crossing. Indeed, in Indiana (USA), gaps of 5 m in tree or shrub cover along flight routes have been shown to significantly impact bat commuting movements (Bennett & Zurcher 2013). A study undertaken in the United Kingdom demonstrated that a gap of only 10 m may disturb bat commuting (Entwistle *et al.* 2001). Furthermore, Pinaud *et al.* (2018) demonstrated that bat movements were significantly affected by gap width: the probability of crossing a gap dropped below 0.5 for gaps larger than 38 m which corresponds to a width similar to the gap caused by major roads. Moreover, Hale *et al.* (2012) demonstrated that bat foraging and commuting activity in a habitat patch increased with the patch's degree of connectivity to the surrounding landscape. This is of utmost importance because, for a majority of bat species, individuals move far from their roosts [0.6 - 11.7 km for *Rhinolophus ferrumequinum*, (Flanders & Jones 2009; Dietz, Pir & Hillen 2013); 2.3 - 9.2 km for *Myotis daubentonii*

(Encarnacao *et al.* 2005; Nardone *et al.* 2015); 1 - 13 km for *Nyctalus leisleri* (Szentkuti *et al.* 2013)]. The necessity for bats to travel long distances implies a high probability for them to be impacted by the network of roads within their home range.

Many European bats are endangered throughout much of their range and numerous causes have been identified, including habitat loss and degradation and road kills which can be caused by roads (Temple & Terry 2007). According to their life cycle (i.e. low fecundity, late maturation), the population growth rate heavily depends on adult survival. Thus, adult mortality by road collision is expected to have significant negative impacts on populations (Medinas, Marques & Mira 2013). All bats are legally protected in European countries through national or European laws (Council Directive, 1992; Convention on Migratory Species, 1985–2008, and Agreement on the Conservation of Populations of European Bats). Among these protections, some require that a development project must evaluate its effect on biodiversity and any negative effect must be limited and/or compensated through mitigation hierarchy (avoiding, reducing, restoring, and offsetting effects) with the aim to achieve a no net loss of biodiversity or a net environment (Regnery, Couvet & Kerbiriou 2013). Although bats benefit from a strict protection status in many countries and negative road impacts appear important for bats, surprisingly, bats are very rarely taken into account in projects designing road. Indeed, most road mitigation measures dedicated to bats in Europe are more focused on restoring connectivity via for example bat overpasses but rarely consider the compensation of habitat loss (Møller *et al.* 2016). Moreover, only two studies focussing on road impact on bat activity have been published (Berthinussen & Altringham 2012b; Kitzes & Merenlender 2014). Berthinussen & Altringham reported correlations between bat activity and the distance to a major road. They found a decline of bat activity for a common species, *P. pipistrellus*, to a distance of at least 1.6 km (i.e. the maximum distance considered) on both sides of a road in Cumbria (United Kingdom). Kitzes & Merenlender also found a negative effect of roads on

bat activity within 300 m (corresponding to the maximum distance considered) for 4 common bat species in California (USA), *Tadarida brasiliensis*, *Eptesicus fuscus*, *Lasiurus cinereus* and *Lasionycteris noctivagans*.

According to bats home range size and the importance of landscape connectivity for bats daily movements, we hypothesise that road may affect bat activity at larger distances. We conducted acoustic surveys in three sites of 100 km² each centred on a major road. We tested the effect of the distance to major roads on several bat taxa activity while controlling for the habitat.

2 Materials and methods

2.1 Study sites

The study was carried out in France that experienced an increase of 12% of roads between 1995 and 2015 (MEEM 2017). We selected three sites located in rural areas in western France including for each site, at a central position, a highway. Each study site is a 100 km² square with different land uses (Fig. 1 & A.1). The size of the area was selected to study the potential impact of the road at a scale that compares to a majority of bat home-ranges (Flanders & Jones 2009; Szentkuti *et al.* 2013; Dietz, Pir & Hillen 2013). The first site was surrounded by intensive farming and located near Niort (46°24'N, 0°35'W) and centred on the highway A83 (operational since 2001; road with tarmac; 4 lanes with emergency lane on both sides; speed limit: 130 km/h, 2015 average daily traffic: 16 218 vehicles). The second site was mainly surrounded by woodlands and grasslands and located near La Rochelle (45°50'N, 0°37'W) and centred on the highway A10 (operational since 1994; same features as A83; 2015 average daily traffic: 27 377 vehicles). The last site was mainly surrounded by woodlands and grasslands, located near Rennes (48°2'N, 14°57'W) and centred on the national road N24 (operational since 1981; road with tarmac; 4 lanes without emergency lanes; speed limit: 110

km/h; 2015 average daily traffic: 33 800 vehicles). Finally, there are no road lights on the highways' portions studied, except along a service station for the A10 (800 m on both sides of the road).

2.2 Sampling design

To assess the influence of major roads on bat activity, we performed acoustic recordings of bat activity at each site: 100 points for the A83, 94 points for the A10 and, 112 points for the N24. We sampled five main habitats at each site (wetlands, woodlands, agricultural lands, urban areas and hedgerows) at different distances from the road (from 25 to 5420 meters). Each habitat was sampled on average 61 ± 5 times spread across twelve classes of distance to the road (average of 5 ± 2 sampling for every class of 400 m; Table A.1). To avoid correlation between night condition and variables tested (habitats and distance to the major road), the five main habitats were simultaneously sampled each night along a gradient of distance to the major road (Table A.2).

2.3 Acoustic surveys

The fieldwork was carried out, during the seasonal peak of bat activity, between the 28th of May and the 17th of August 2016. Recordings were conducted during night successive nights for the A83 (in May-June), eight successive nights for the A10 (in July) and ten successive nights for the N24 (in August).

Bat activity was assessed by recording bat calls using Song Meter SM2Bat+ devices (Wildlife Acoustics Inc., Concord, MA, USA) fitted with omnidirectional ultrasonic microphones SMX-US (Wildlife Acoustics Inc., Concord, MA, USA) placed 1 m above the ground. We systematically tested microphone sensitivity when we installed and removed each device. Recordings were performed during the whole night (from 30 min before civil sunset to 30 min after civil sunrise).

With such passive acoustic recordings, the detectors automatically recorded all sounds in full spectrum with a sample rate of 384 kHz. We used a trigger level threshold of 6 dB signal-to-noise-ratio for frequencies and a trigger window of 2 seconds, following the protocol of the French Bat Monitoring Programme (FBMP): <http://vigienature.mnhn.fr/page/protocole-point-fixe>

2.4 Species identification

We analysed the ultrasound recordings with the software *Tadarida* in its latest version [(Bas, Bas & Julien 2017), online repository: <https://github.com/YvesBas>]. This software automatically detects and extracts sound parameters of recorded echolocation calls and classifies them into known classes according to a confidence index value that a call is from a specific group/bat species using a random forest algorithm (Breiman 2001).

To assess the influence of identification uncertainty on result, we followed the Barré *et al.* (2018) approach proposing a cautious method to account for identification errors in acoustic surveys without fully checking recordings. This first consisted in modelling the error rate in automated identification, performing logistic regressions between manual checks (i.e., success/failure in automatic species assignation) and confidence indexes provided by the automated-identification software (i.e., 0 to 1). Manual checks were performed on 8 405 independent bat passes recorded throughout France as part of the FBMP. This then allowed the computation of the minimum confidence index used to ensure the error rate was below the chosen thresholds (methodology detailed in appendix B). Then we filtered out bat passes having smaller confidence indexes than required to ensure two targeted maximum error rates (i.e., 0.5 and 0.1) at which analyses were performed. Filtering the data with two different thresholds allowed us to check for consistency in results and ensure limited biases occurred the dataset (i.e., false positive rate) in relation to tested variables (Barré *et al.* 2018).

First, we studied the activity for all species together and then the activity of two groups of species based on their flying and foraging strategies. The aerial species group is composed of five species which are medium to high-altitude fast-flying species: *E. serotinus*, *N. leisleri*, *N. noctula*, *P. kuhlii* and *P. pipistrellus* (Blake *et al.* 1994; Roemer *et al.* 2017). The clutter species group is composed of low-altitude slow-flying species that generally forage in cluttered vegetation: *Barbastella barbastellus*, *R. ferrumequinum* and *R. hipposideros* and two genera: *Myotis spp.* and *Plecotus spp.* which cannot be identify at the species level with certainty (Obrist, Boesch & Flückiger 2004). In addition, we conducted a separate analysis for each of the eight species and the two genera.

We measured bat activity as the number of files (i.e. bat passes) containing calls. The 5-seconds length of files is considered a good compromise according to bat pass duration among species (Millon *et al.* 2015; Kerbiriou *et al.* 2018b).

2.5 Environmental variables

To assess the effect of the distance to major roads on bat activity while accounting for the surrounding environment at each sample point, we extracted 57 variables which correspond to habitat/configuration variables that have been identified to influence bat activity in several studies (Verboom & Huitema 1997; Russo & Jones 2003; Kaňuch *et al.* 2008; Rainho & Palmeirim 2011; Boughey *et al.* 2011b; Frey-Ehrenbold *et al.* 2013; Kelm *et al.* 2014; Lacoëuilhe *et al.* 2016) (Table A.3). These variables are either distances (e.g. to the major road, to hedges) or the proportion of area of each habitat (wetlands, woodlands, agricultural lands, urban areas and hedgerows) calculated for different buffer sizes (50, 200 and 500 m). We tested different buffer sizes because depending on the taxa and the landscape variable considered, bat activity may be affected at a different spatial scale (Table A.3) (Grindal &

Brigham 1999; Lacoëuilhe et al. 2016; Kerbiriou et al. 2018a). As hedgerows are linear elements, we also computed the density of hedgerows within each buffer (Table A.3).

Landscape data were obtained through a manual digitization by photo-interpretation (Fig. A.1) and distances, lengths and proportions were calculated using QGIS 2.18.14 (QGIS Development Team 2017).

2.6 Bat activity modelling

We assessed if bat activity (i.e. our response variable is the number of bat passes) was influenced by the distance to the road using Generalized Linear Mixed Model (GLMM) with the *glmmTMB* function [R package *glmmTMB* v0.2.1.0 (Brooks et al. 2017)]. Due to the nature of the response variable (i.e. count data with overdispersion), we used a negative binomial distribution with a log link (Zuur et al. 2009). When bat occurrence was below 50% of the overall sampling points for the three study sites, we conducted the models with a zero-inflation parameter. According to the balanced sampling design (i.e., simultaneous recordings of bat activity the same night in different habitat at different distance classes in successive nights), we included a two level random effect to take into account the spatial structure (sampling points nested within site) as recommended in Bates et al. 2014.

To assess the effect of road distance on bat activity while accounting for surrounding habitat influence, we included the distance to the road and landscape co-variables as fixed effect in the models. We also explored interactions between the distance to the road and two key habitats in agricultural land: hedges [distance or density (Boughey et al. 2011a; Fonderflick et al. 2015)] and wetlands [proportion or distance, (Rainho & Palmeirim 2011)]. All fixed effects were scaled so that the regression coefficients were comparable in magnitude and their effects were biologically comparable (Schielzeth 2010). To avoid over-parametrization, we selected the best scale of covariates (i.e., 50, 200 or 500 m) before

including them in the full model, using hierarchical partitions [R package *hier.part* v 1.1-4(Walsh & Mac Nally 2013)]. This selection process led us to choose the 5 best covariates among the 56 included in the full model (Table A.3). Thus, our full models included 8 environmental covariates (6 simple effects and 2 interactions) and were structured in the following way:

Bat activity ~ Distance to major road + Landscape co-variables + Interaction terms + 1|Site/Point

To avoid potential multicollinearity problems, we systematically evaluated the correlations among explanatory variables using Spearman's rho, no correlation >0.7 were detected (Dormann *et al.* 2013). In addition, we assessed the Variance Inflation Factor (VIF). Following Chatterjee & Bose (2000) and Zuur, Ieno & Elphick (2010) approaches, as all variables showed a VIF value <3 and the mean VIF values was <2, there was no evidence of multicollinearity. We also checked the non-spatial autocorrelation of residuals of each selected model using Moran's I test [R package *ape* v5.1 (Paradis & et al 2018)].

From the full model, we performed a backward selection based on Akaike's information criterion (AIC). Furthermore, we evaluated the quality of our models by comparing it to the null model (including only the random effects) using Akaike's information criterion (AIC) (Burnham, Anderson & Huyvaert 2011; Mac Nally *et al.* 2017). To assess the robustness of our result in relation to the level of identification uncertainty, we performed analyses sorting out data on the 0.5 maximum error rate (see 2.4) then we confirmed p-values and estimates produced on a more restrictive threshold of 0.1.

Finally, the potential non-linear effect of the distance to the road was checked by visual inspection of the plot from Generalized Additive Mixed Models [GAMM, R package *mgcv* v1.8-23 (Wood 2018)].

2.7 Road-effect zone

Following Forman & Deblinger (2000) approach, we assessed the potential extent of the "road-effect zone" at the scale of the European Union. Drawing on the results obtained in our models by species, we estimated the proportion of area throughout which bat activity could be impacted by major roads in the European Union and in Natura 2000 areas.

3 Results

3.1 Bat monitoring

In the dataset allowing for a maximum error rate of 0.5, there was a total of 223 601 bat passes for ten species across the three study sites. Bat activity levels for aerial species ($n=200\ 072$ bat passes; 89.4%) were higher than for clutter species ($n=23\ 729$ bat passes; 10.6%). The most abundant species were *Pipistrellus* spp. ($n=191\ 546$ bat passes; 85.6%) and *Myotis* spp. ($n=18\ 282$ bat passes; 8.2%) and the least abundant species were *Nyctalus* spp. ($n=3\ 383$ bat passes; 1.5%), *Rhinolophus* species ($n=1\ 354$ bat passes; 0.6%) and *Plecotus* species ($n=1\ 257$ bat passes; 0.5%) (Table 1).

3.2 Impact of major roads on bat activity

At the ten species level, our results showed a significant negative effect of major roads on bat activity for four species among the ten studied, i.e. for these four species, bat activity increased with the distance to the major road. These species were *E. serotinus* ($P = 0.03$), *Myotis* spp. ($P < 0.001$), *P. pipistrellus* ($P = 0.02$) and *R. hipposideros* ($P < 0.01$) (Table 2 & C.1). We also found a significant negative effect of the interaction between the distance to major roads and the distance to hedges for *Myotis* spp. and *P. pipistrellus* ($P = 0.01$) and a significant negative effect of the interaction between the distance to major roads and the density of hedge in buffer of 200 m for *E. serotinus* ($P = 0.05$) (Table 2 & C.1). At the three

taxa level, we found a significant negative effect of major roads only for the activity of clutter species ($P < 0.001$) (Table 2). Moreover, we found a significant effect of the interaction between the distance to major roads and the distance to hedges ($P < 0.01$) (Table C.1). The effect magnitude of the distance to the major road is equivalent to 40 % of the effect of the distance to hedges for *P. pipistrellus* and 50 % for *R. hipposideros* and 100 % for *Myotis spp.* (Fig. 2). Overall of the interactions showed that *Myotis spp.*, *P. pipistrellus* and *E. serotinus* and clutter species group exhibit a relative greater activity at hedges in the vicinity of a major road (Fig. C1). Finally, all selected models had a lower AIC value than their respective null models ($\Delta AIC > 2$) (Table C.2).

3.3 Additional analyses with GAMM

Among the species which activity was affected by the distance to major roads, we only detected a non-linear effect for the clutter species group and the genera *Myotis spp.* For both, major roads had a much stronger negative effect at distances smaller than one km to the road (Fig. 3).

3.4 Influence of error rate

To ensure that our results were robust independently to the level of identification's uncertainty, we ran the analyses with a more restrictive tolerance of 0.1 maximum error rate (i.e., minimizing false positives rate). We found qualitatively similar results for all taxa, except for the effect of distance to major road on *P. pipistrellus* which lost significance when filtering out the with the 0.1 maximum error rate.

3.5 Road-effect zone

We assessed the "road-effect zone" detected previously in our results which highlighted an impact of major road on bat activity up to five km for five taxa. We applied it at the scale of the European Union and on Natura 2000 areas and we found that in 35 % of the European Union and 5 % of Natura 2000 areas, bat activity is potentially negatively influenced by the proximity of major road (Fig. 4) suggesting an important but hidden habitat loss.

4 Discussion

4.1 Road effects

Among the thirteen bat taxa studied, five taxa were negatively impacted by major roads and none was positively affected. The five impacted taxa included the clutter species group and four species: *R. hipposideros*, *Myotis spp.*, *E. serotinus* and *P. pipistrellus*. Our results showed an avoidance of major roads by bats up to five km away from the road without noticeable slope change according to the distance to major road [except clutter species and *Myotis spp.* where major roads had a much stronger negative effect at distances smaller than 1 km to the road (Fig. C.1)]. Furthermore, it is possible that the impact of major roads on bat activity is underestimated because the impact detected extends over our entire study area (i.e. acoustic surveys up to five km from the major road for each study site). Moreover, our results showed that the effect of major roads was not limited to a few meters as in Kitzes & Merenlender (2014) but had an impact at the landscape scale, highlighting possible impacts at population scales. Such impact at landscape scale are congruent with Berthinussen & Altringham (2012b) study that showed that bat activity was 3.5 times higher at a distance of 1600 m than at major roads.

Furthermore, clutter species such as *R. hipposideros* and *Myotis spp* were the most sensitive species to major roads. Indeed the magnitude (i.e., β) is the highest compared to other species and the effect size of the distance to the major road is equivalent to 50 % of the

effect of the distance to hedges for *R. hipposideros* and 100 % for *Myotis spp.* These results could be linked to the species' ecology. Indeed, clutter species are more gleaner than aerial species, and thus forage more in woodlands and fly less in open space. Moreover, our results are congruent with Fensome & Mathews (2016) who found, in Europe, that low-flying species are more prone to road kills than high-flying species and our results are congruent. Moreover, in France, *Myotis spp.* are considered the species with the most road fatalities (Capo, Chaut & Arthur 2006). And, we also found a significant interaction between the distance to major roads and the hedges for clutter species, *E. serotinus*, *Myotis spp.* and *P. pipistrellus*. These species appeared to commute and/or forage closer to hedges when flying closer to a major road, suggesting a possible behavioural response - bats seeking refuge in the surrounding of hedges - when exposed to a situation perceived as risky.

Another non-exclusive hypothesis to explain the effect of major roads on bat activity could be that bats avoid areas with light and noise from traffic. Indeed, vehicles headlights impact biodiversity (Gaston & Holt 2018) and especially bats which can be impacted while commuting or foraging and at different spatial scales (i.e. 50 m to landscape scale) (Stone, Jones & Harris 2009; Hale *et al.* 2015; Azam *et al.* 2016). Furthermore, artificial light at night can induce habitat loss (Azam *et al.* 2018). In addition, noise induced by traffic is known to disturb the movements of bats and their foraging efficiency (Schaub, Ostwald & Siemers 2008; Siemers & Schaub 2011; Bennett & Zurcher 2013).

A last but non-mutually exclusive hypothesis to explain bats' avoidance of the neighbourhood of major roads is the rupture of habitat connectivity by bisecting the hedges which when intact are used as commuting routes. Although bats are able to cross large roads of up to 100 m (Abbott, Butler & Harrison 2012; Claireau *et al.* 2018), the probability of crossing gap decreases with an increase in gap width (Entwistle *et al.* 2001; Bennett & Zurcher 2013; Pinaud *et al.* 2018). Overall, there is a consensus regarding the importance of

preserving connected linear features to facilitate bat commuting within the landscape (Hale *et al.* 2012).

Further studies should be carried out to assess the relative importance of these different mechanisms explaining the observed decrease of bat activity in the surrounding of roads. This avoidance could have negative impacts for bats to access foraging areas, involving longer commuting routes, decreasing home range quality thus potentially affecting their fitness and population dynamics (Froidevaux *et al.* 2017).

4.2 Limitations and robustness of results

Our results are robust whatever the level of error rate considered, except for *P. pipistrellus* where the influence of distance to major roads became not significant when we considered a 0.1 maximum error rate. A 0.5 maximum error rate threshold seems to be a satisfying trade-off to retain a good quantity of data while limiting the number of false-positives. More restrictive thresholds aiming to reduce the false positives rate can also generate false negatives by discarding true positives. This constitutes a possible explanation for the loss of significance detected for *P. pipistrellus*.

We are convinced that our sampling design (3 sites, 306 points sampled, high proportion of simultaneously sampling) provides a powerful analysis. Hence we hypothesize that if there is an effect of major road on the other tested species, it should be weak. It is astonishing to note that we did not detect an effect on *R. ferrumequinum* which is ecologically (gleaner species, use of linear element) similar to *R. hipposideros*. This can be due to the distribution of data, mostly at one site (A10 site, 91 % of *R. ferrumequinum* passes) and influenced by the fact that the colony of Annepont is close to the highway (740 m; Pinaud *et al.* 2018) which might bias the results for this species (table C.2). However, we did not found

effect on *B. barbastellus* though it is a clutter species. This absence of effect requires further investigations.

4.3 Road-effect zone

This study highlight that road should be consider as a major pressure on bats, because potentially 35 % of the European Union and 5 % of Natura 2000 areas are impacted by major roads. From now on, road construction must take into account the road zone effects for bats. Considering that other taxa are also impacted by roads, e.g. Forman (2000) found a road effect zone covering about one-fifth of the USA land area for bird species, it seems urgent to consider the road zone effect in land uses policies and to implement drastic conservation practices for species of conservation concern.

4.4 Recommendations

This study highlights a major effect often neglected in mitigation hierarchy (Bigard, Pioch & Thompson 2017). It is necessary to develop strategies to limit the impact of roads on bats through, for example, road requalification instead building new roads in habitats of good quality for bats. The effect of roads must be considered at the landscape level to efficiently preserve habitats and commuting routes and especially in areas of particular importance for conservation such as Natura 2000 areas.

If avoidance of road impacts is impossible (i.e., major road impact bat foraging areas), it is necessary to improve habitat connectivity. Many mitigation measures have been proposed to restore habitat connectivity such as the implementation of overpasses (e.g., wildlife crossings), underpasses (e.g., viaducts), speed reduction, deterrence and diversion (e.g., planting hedges), and habitat improvement (Møller *et al.* 2016). Recent studies have suggested that wildlife crossings and underpasses could be the best solution to restore

ecological continuity, whereas bat overpasses seem to be less effective (Berthinussen & Altringham 2012a; Abbott, Butler & Harrison 2012; Abbott *et al.* 2015; Møller *et al.* 2016; Claireau *et al.* 2018). When avoidance of impacts and mitigation measures are not sufficient, it is imperative to propose offset measures that have been proved to be efficient (Quétier & Lavorel 2011). Finally, other pressures exist on bat populations such as agricultural practices, thus a land use planning integrating conservation of biodiversity and human activities is necessary.

References

- Abbott, I.M., Berthinussen, A., Stone, E., Boonman, M., Melber, M. & Altringham, J. (2015) Bats and roads. *Handbook of Road Ecology*, pp. 290–299. John Wiley & Sons, Ltd.
- Abbott, I.M., Butler, F. & Harrison, S. (2012) When flyways meet highways – The relative permeability of different motorway crossing sites to functionally diverse bat species. *Landscape and Urban Planning*, **106**, 293–302.
- Altringham, J. & Kerth, G. (2016) Bats and Roads. *Bats in the Anthropocene: Conservation of Bats in a Changing World* (eds C.C. Voigt & T. Kingston), pp. 35–62. Springer International Publishing, Cham.
- Azam, C., Le Viol, I., Bas, Y., Zissis, G., Vernet, A., Julien, J.-F. & Kerbiriou, C. (2018) Evidence for distance and illuminance thresholds in the effects of artificial lighting on bat activity. *Landscape and Urban Planning*, **175**, 123–135.
- Azam, C., Le Viol, I., Julien, J.-F., Bas, Y. & Kerbiriou, C. (2016) Disentangling the relative effect of light pollution, impervious surfaces and intensive agriculture on bat activity with a national-scale monitoring program. *Landscape Ecology*, **31**, 2471–2483.
- Barré, K., Le Viol, I., Bas, Y., Julliard, R. & Kerbiriou, C. (2018) Estimating habitat loss due to wind turbine avoidance by bats: Implications for European siting guidance. *Biological Conservation*, **226**, 205–214.
- Bas, Y., Bas, D. & Julien, J.-F. (2017) Tadarida: A Toolbox for Animal Detection on Acoustic Recordings. *Journal of Open Research Software*, **5**, 8.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B.M. & Walker, S. (2014) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *arXiv preprint arXiv:1406.5823*.
- Benítez-López, A., Alkemade, R. & Verweij, P.A. (2010) The impacts of roads and other infrastructure on mammal and bird populations: A meta-analysis. *Biological Conservation*, **143**, 1307–1316.
- Bennett, V.J. & Zurcher, A.A. (2013) When corridors collide: Road-related disturbance in commuting bats. *The Journal of Wildlife Management*, **77**, 93–101.

- 432 Berthinussen, A. & Altringham, J. (2012a) Do bat gantries and underpasses help bats cross roads
433 safely? *PloS one*, **7**, e38775.
- 434 Berthinussen, A. & Altringham, J. (2012b) The effect of a major road on bat activity and diversity:
435 Effect of a major road on bat activity. *Journal of Applied Ecology*, **49**, 82–89.
- 436 Bigard, C., Pioch, S. & Thompson, J.D. (2017) The inclusion of biodiversity in environmental impact
437 assessment: Policy-related progress limited by gaps and semantic confusion. *Journal of*
438 *Environmental Management*, **200**, 35–45.
- 439 Blake, D., Hutson, A.M., Racey, P.A., Rydell, J. & Speakman, J.R. (1994) Use of lamplit roads by
440 foraging bats in southern England. *Journal of Zoology*, **234**, 453–462.
- 441 Bontadina, F., Schofield, H. & Naef-Daenzer, B. (2002) Radio-tracking reveals that lesser horseshoe
442 bats (*Rhinolophus hipposideros*) forage in woodland. *Journal of Zoology*, **258**, 281–290.
- 443 Boughey, K.L., Lake, I.R., Haysom, K.A. & Dolman, P.M. (2011a) Improving the biodiversity
444 benefits of hedgerows: How physical characteristics and the proximity of foraging habitat
445 affect the use of linear features by bats. *Biological Conservation*, **144**, 1790–1798.
- 446 Boughey, K.L., Lake, I.R., Haysom, K.A. & Dolman, P.M. (2011b) Effects of landscape-scale
447 broadleaved woodland configuration and extent on roost location for six bat species across the
448 UK. *Biological Conservation*, **144**, 2300–2310.
- 449 Breiman, L. (2001) Random Forest. *Machine Learning*, **45**, 5–32.
- 450 Brooks, M.E., Kristensen, K., van Benthem, K.J., Magnusson, A., Berg, C.W., Nielsen, A., Skaug,
451 H.J., Maechler, M. & Bolker, B.M. (2017) Modeling Zero-Inflated Count Data With
452 glmmTMB.
- 453 Burnham, K.P., Anderson, D.R. & Huyvaert, K.P. (2011) AIC model selection and multimodel
454 inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons.
455 *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **65**, 23–35.
- 456 Capo, G., Chaut, J.-J. & Arthur, L. (2006) Quatre ans d'étude de mortalité sur deux kilomètres routiers
457 proches d'un site d'hibernation. *Symbioses*, **15**, 45–46.
- 458 Chatterjee, S. & Bose, A. (2000) Variance estimation in high dimensional regression models.
459 *Statistica Sinica*, **10**, 19.
- 460 Claireau, F., Bas, Y., Puechmaille Sébastien, J., Julien, J.-F., Allegrini, B. & Kerbiriou, C. (2018) Bat
461 overpasses: an insufficient solution to restore habitat connectivity across roads. *Journal of*
462 *Applied Ecology*.
- 463 Dietz, M., Pir, J.B. & Hillen, J. (2013) Does the survival of greater horseshoe bats and Geoffroy's bats
464 in Western Europe depend on traditional cultural landscapes? *Biodiversity and Conservation*,
465 **22**, 3007–3025.
- 466 Dormann, C.F., Elith, J., Bacher, S., Buchmann, C., Carl, G., Carré, G., Marquéz, J.R.G., Gruber, B.,
467 Lafourcade, B., Leitão, P.J., Münkemüller, T., McClean, C., Osborne, P.E., Reineking, B.,
468 Schröder, B., Skidmore, A.K., Zurell, D. & Lautenbach, S. (2013) Collinearity: a review of
469 methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography*, **36**,
470 27–46.
- 471 Dulac, J. (2013) *Global Land Transport Infrastructure Requirements; Estimating Road and Railway*
472 *Infrastructure Capacity and Costs to 2050*. International Energy Agency.

- 473 Encarnacao, J.A., Kierdorf, U., Holweg, D., Jasnoch, U. & Wolters, V. (2005) Sex-related differences
474 in roost-site selection by Daubenton's bats *Myotis daubentonii* during the nursery period.
475 *Mammal Review*, **35**, 285–294.
- 476 Entwistle, A.C., Harris, S., Hutson, A.M., Racey, P.A., Walsh, A., Gibson, S.D., Hepburn, I. &
477 Johnston, J. (2001) *Habitat Management for Bats: A Guide for Land Managers, Land Owners*
478 *and Their Advisors*. Joint Nature Conservation Committee, Peterborough.
- 479 Fahrig, L., Pedlar, J.H., Pope, S.E., Taylor, P.D. & Wegner, J.F. (1995) Effect of road traffic on
480 amphibian density. *Biological Conservation*, **73**, 177–182.
- 481 Fensome, A.G. & Mathews, F. (2016) Roads and bats: a meta-analysis and review of the evidence on
482 vehicle collisions and barrier effects. *Mammal Review*, **46**, 311–323.
- 483 Flanders, J. & Jones, G. (2009) Roost Use, Ranging Behavior, and Diet of Greater Horseshoe Bats
484 (*Rhinolophus ferrumequinum*) Using a Transitional Roost. *Journal of Mammalogy*, **90**, 888–
485 896.
- 486 Fonderflick, J., Azam, C., Brochier, C., Cosson, E. & Quékenborn, D. (2015) Testing the relevance of
487 using spatial modeling to predict foraging habitat suitability around bat maternity: A case
488 study in Mediterranean landscape. *Biological Conservation*, **192**, 120–129.
- 489 Forman, R.T.T. (1998) Road ecology: A solution for the giant embracing us. *Landscape Ecology*, **13**,
490 iii–v.
- 491 Forman, R.T.T. (2000) Estimate of the Area Affected Ecologically by the Road System in the United
492 States. *Conservation Biology*, **14**, 31–35.
- 493 Forman, R.T.T. & Alexander, L.E. (1998) Roads and their major ecological effects. *Annual review of*
494 *ecology and systematics*, **29**, 207–231.
- 495 Forman, R.T.T. & Deblinger, R.D. (2000) The Ecological Road-Effect Zone of a Massachusetts
496 (U.S.A.) Suburban Highway. *Conservation Biology*, **14**, 36–46.
- 497 Frey-Ehrenbold, A., Bontadina, F., Arlettaz, R. & Obrist, M.K. (2013) Landscape connectivity, habitat
498 structure and activity of bat guilds in farmland-dominated matrices ed M. Pocock. *Journal of*
499 *Applied Ecology*, **50**, 252–261.
- 500 Froidevaux, J.S.P., Boughey, K.L., Barlow, K.E. & Jones, G. (2017) Factors driving population
501 recovery of the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) in the UK: implications
502 for conservation. *Biodiversity and Conservation*, **26**, 1601–1621.
- 503 Gaston, K.J. & Holt, L.A. (2018) Nature, extent and ecological implications of night-time light from
504 road vehicles ed J. Bennett. *Journal of Applied Ecology*, **55**, 2296–2307.
- 505 Grindal, S.D. & Brigham, R.M. (1999) Impacts of forest harvesting on habitat use by foraging
506 insectivorous bats at different spatial scales. *Écoscience*, **6**, 25–34.
- 507 Hale, J.D., Fairbrass, A.J., Matthews, T.J., Davies, G. & Sadler, J.P. (2015) The ecological impact of
508 city lighting scenarios: exploring gap crossing thresholds for urban bats. *Global Change*
509 *Biology*, **21**, 2467–2478.
- 510 Hale, J.D., Fairbrass, A.J., Matthews, T.J. & Sadler, J.P. (2012) Habitat Composition and Connectivity
511 Predicts Bat Presence and Activity at Foraging Sites in a Large UK Conurbation ed B. Fenton.
512 *PLoS ONE*, **7**, e33300.

- 513 Heiberger, R.M. & Holland, B. (2004) *Statistical Analysis and Data Display*. Springer New York,
514 New York, NY.
- 515 Kaňuch, P., Danko, š., Celuch, M., Krištin, A., Pjenčák, P., Matis, š. & Šmidt, J. (2008) Relating bat
516 species presence to habitat features in natural forests of Slovakia (Central Europe).
517 *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, **73**, 147–155.
- 518 Kelm, D.H., Lenski, J., Kelm, V., Toelch, U. & Dziock, F. (2014) Seasonal Bat Activity in Relation to
519 Distance to Hedgerows in an Agricultural Landscape in Central Europe and Implications for
520 Wind Energy Development. *Acta Chiropterologica*, **16**, 65–73.
- 521 Kerbiriou, C., Azam, C., Touroult, J., Marmet, J., Julien, J.-F. & Pellissier, V. (2018a) Common bats
522 are more abundant within Natura 2000 areas. *Biological Conservation*, **217**, 66–74.
- 523 Kerbiriou, C., Bas, Y., Le Viol, I., Lorrilliere, R., Mougnot, J. & Julien, J.F. (2018b) Potential of bat
524 pass duration measures for studies of bat activity. *Bioacoustics*, 1–16.
- 525 Kitzes, J. & Merenlender, A. (2014) Large Roads Reduce Bat Activity across Multiple Species ed
526 R.M. Brigham. *PLoS ONE*, **9**, e96341.
- 527 Krauss, J., Bommarco, R., Guardiola, M., Heikkinen, R.K., Helm, A., Kuussaari, M., Lindborg, R.,
528 Öckinger, E., Pärtel, M., Pino, J., Pöyry, J., Raatikainen, K.M., Sang, A., Stefanescu, C.,
529 Teder, T., Zobel, M. & Steffan-Dewenter, I. (2010) Habitat fragmentation causes immediate
530 and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels: Immediate and time-delayed
531 biodiversity loss. *Ecology Letters*, **13**, 597–605.
- 532 Lacoëuilhe, A., Machon, N., Julien, J.-F. & Kerbiriou, C. (2016) Effects of hedgerows on bats and
533 bush crickets at different spatial scales. *Acta Oecologica*, **71**, 61–72.
- 534 Lodé, T. (2000) Effect of a Motorway on Mortality and Isolation of Wildlife Populations. *AMBIO: A*
535 *Journal of the Human Environment*, **29**, 163–166.
- 536 Mac Nally, R., Duncan, R.P., Thomson, J.R. & Yen, J.D.L. (2017) Model selection using information
537 criteria, but is the ‘best’ model any good? *Journal of Applied Ecology*.
- 538 Maxwell, S.L., Fuller, R.A., Brooks, T.M. & Watson, J.E.M. (2016) Biodiversity The ravages of guns,
539 nets and bulldozers. *Nature*, **536**, 143–145.
- 540 Medinas, D., Marques, J.T. & Mira, A. (2013) Assessing road effects on bats: the role of landscape,
541 road features, and bat activity on road-kills. *Ecological Research*, **28**, 227–237.
- 542 MEEM. (2017) *Chiffres Clés Du Transport - Édition 2017*. Ministère de l’environnement, de l’énergie
543 et de la mer, en charge des relations internationales sur le climat.
- 544 Millon, L., Julien, J.-F., Julliard, R. & Kerbiriou, C. (2015) Bat activity in intensively farmed
545 landscapes with wind turbines and offset measures. *Ecological Engineering*, **75**, 250–257.
- 546 Moller, J.D., Dekker, J., Baagøe, H.J., Garin, I., Alberdi, A., Christensen, M. & Elmeros, M. (2016)
547 *Effectiveness of Mitigating Measures for Bats – a Review*. CEDR Transnational Road
548 Research Programme.
- 549 Nardone, V., Cistrone, L., Di Salvo, I., Ariano, A., Migliozi, A., Allegrini, C., Ancillotto, L., Fulco,
550 A. & Russo, D. (2015) How to Be a Male at Different Elevations: Ecology of Intra-Sexual
551 Segregation in the Trawling Bat *Myotis daubentonii* ed R.M. Brigham. *PLOS ONE*, **10**,
552 e0134573.

- 553 Obrist, M.K., Boesch, R. & Flückiger, P.F. (2004) Variability in echolocation call design of 26 Swiss
554 bat species: consequences, limits and options for automated field identification with a
555 synergetic pattern recognition approach. *Mammalia*, **68**, 307–322.
- 556 Paradis, E. & et al. (2018) *Analyses of Phylogenetics and Evolution*.
- 557 Pinaud, D., Claireau, F., Leuchtmann, M. & Kerbiriou, C. (2018) Modelling landscape connectivity
558 for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance ed M. Struebig.
559 *Journal of Applied Ecology*, **55**, 2600–2611.
- 560 QGIS Development Team. (2017) *QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial*
561 *Foundation Project*.
- 562 Quétier, F. & Lavorel, S. (2011) Assessing ecological equivalence in biodiversity offset schemes: Key
563 issues and solutions. *Biological Conservation*, **144**, 2991–2999.
- 564 Quinn, J.F. & Harrison, S.P. (1988) Effects of habitat fragmentation and isolation on species richness:
565 evidence from biogeographic patterns. *Oecologia*, **75**, 132–140.
- 566 Rainho, A. & Palmeirim, J.M. (2011) The Importance of Distance to Resources in the Spatial
567 Modelling of Bat Foraging Habitat ed B. Fenton. *PLoS ONE*, **6**, e19227.
- 568 Regnery, B., Couvet, D. & Kerbiriou, C. (2013) Offsets and Conservation of the Species of the EU
569 Habitats and Birds Directives: Offsets and Conservation of the Species. *Conservation Biology*,
570 **27**, 1335–1343.
- 571 Reiter, G., Pölzer, E., Mixanig, H., Bontadina, F. & Hüttmeir, U. (2013) Impact of landscape
572 fragmentation on a specialised woodland bat, *Rhinolophus hipposideros*. *Mammalian Biology*
573 *- Zeitschrift für Säugetierkunde*, **78**, 283–289.
- 574 Roemer, C., Disca, T., Coulon, A. & Bas, Y. (2017) Bat flight height monitored from wind masts
575 predicts mortality risk at wind farms. *Biological Conservation*, **215**, 116–122.
- 576 Russo, D. & Jones, G. (2003) Use of foraging habitats by bats in a Mediterranean area determined by
577 acoustic surveys: conservation implications. *Ecography*, **26**, 197–209.
- 578 Saunders, D.A., Hobbs, R.J. & Margules, C.R. (1991) Biological Consequences of Ecosystem
579 Fragmentation: A Review. *Conservation biology*, **5**, 18–32.
- 580 Schaub, A., Ostwald, J. & Siemers, B.M. (2008) Foraging bats avoid noise. *Journal of Experimental*
581 *Biology*, **211**, 3174–3180.
- 582 Schielzeth, H. (2010) Simple means to improve the interpretability of regression coefficients:
583 Interpretation of regression coefficients. *Methods in Ecology and Evolution*, **1**, 103–113.
- 584 Siemers, B.M. & Schaub, A. (2011) Hunting at the highway: traffic noise reduces foraging efficiency
585 in acoustic predators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **278**, 1646–
586 1652.
- 587 Stone, E.L., Jones, G. & Harris, S. (2009) Street Lighting Disturbs Commuting Bats. *Current Biology*,
588 **19**, 1123–1127.
- 589 Szentkúti, S., Bontadina, F., Spada, M., Moretti, M., Zambelli, N., Martinoli, A. & Arlettaz, R. (2013)
590 Factors underlying migratory bat aggregations in chestnut groves. *Endangered Species*
591 *Research*, **21**, 105–114.

- 592 Temple, H.J. & Terry, A. (2007) *The Status and Distribution of European Mammals*. World
593 Conservation Union (IUCN), Luxembourg: Office for Official Publications of the European
594 Communities.
- 595 Trombulak, S.C. & Frissell, C.A. (2000) Review of Ecological Effects of Roads on Terrestrial and
596 Aquatic Communities. *Conservation Biology*, **14**, 18–30.
- 597 Verboom, B. & Huitema, H. (1997) The importance of linear landscape elements for the pipistrelle
598 ‘*Pipistrellus pipistrellus*’ and the serotine bat ‘*Eptesicus serotinus*’. *Landscape Ecology*, **12**,
599 117–125.
- 600 Walsh, C. & Mac Nally, R. (2013) *Hierarchical Partitioning*.
- 601 Wood, S. (2018) *Mixed GAM Computation Vehicle with Automatic Smoothness Estimation*.
- 602 Zurcher, A.A., Sparks, D.W. & Bennett, V.J. (2010) Why the Bat Did Not Cross the Road? *Acta*
603 *Chiropterologica*, **12**, 337–340.
- 604 Zuur, A.F., Ieno, E.N. & Elphick, C.S. (2010) A protocol for data exploration to avoid common
605 statistical problems: Data exploration. *Methods in Ecology and Evolution*, **1**, 3–14.
- 606 Zuur, A.F., Leno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A. & Smith, G.M. (2009) *Mixed Effects Models and*
607 *Extensions in Ecology with R*. Springer-Verlag, New York.
- 608

Major roads have important effects on insectivorous bats activity

Tables and figures

Table 1 Total of bat passes, occurrence, number of points recorded bat passes (%) and mean with standard error of bat passes per sample point for each sample point at 0.5 maximum error risk tolerance

Species	Total bat passes	Occurrence on 306 sample points	Occurrence (%)	Mean of bat passes per sample point	SE of bat passes per sample point
<i>B. barbastellus</i>	2 836	181	59.15	9.27	1.46
<i>E. serotinus</i>	5 143	167	54.58	16.81	3.78
<i>Myotis spp.</i>	18 282	244	79.74	59.75	12.53
<i>N. leisleri</i>	1 726	111	36.27	5.64	1.25
<i>N. noctula</i>	1 657	69	22.55	5.42	1.80
<i>P. kuhlii</i>	29 090	222	72.55	95.07	17.74
<i>P. pipistrellus</i>	162 456	299	97.71	530.90	53.75
<i>Plecotus spp</i>	1 257	141	46.08	4.11	0.80
<i>R. ferrumequinum</i>	319	53	17.32	1.04	0.30
<i>R. hipposideros</i>	1 035	105	34.31	3.38	1.25

Table 2 Estimates, standard errors and p-value of the distance from the major road variable for all bat, the two guilds, the two species group and the eight species studied according a maximum error risk of 0.5 in species identification. Legend: *, subsist spatial-correlation in the model even if we added the autocov_function; X, distance from the major road non-selected in the best model. Complete results of other covariates can be found in Table C.1.

	All bats	Aerial species	Clutter species	<i>B. barbastellus</i>	<i>E. serotinus</i>	<i>Myotis spp</i>	<i>N. leisleri</i>
β	0.13212	0.10848	0.28870	-0.11880	0.34200	0.41421	X
SE	0.07095	0.07703	0.08566	0.13490	0.15910	0.09659	X
p-value	0.06260	0.15900	0.00075	0.37853	0.03160	0.00002	X

	<i>N. noctula</i>	<i>P. kuhlii</i>	<i>P. pipistrellus</i>	<i>Plecotus spp</i>	<i>R. ferrumequinum</i> *	<i>R. hipposideros</i>
β	X	0.03277	0.18830	X	-0.02274	0.47630
SE	X	0.13775	0.08159	X	0.22713	0.20250
p-value	X	0.81190	0.02100	X	0.92030	0.01870

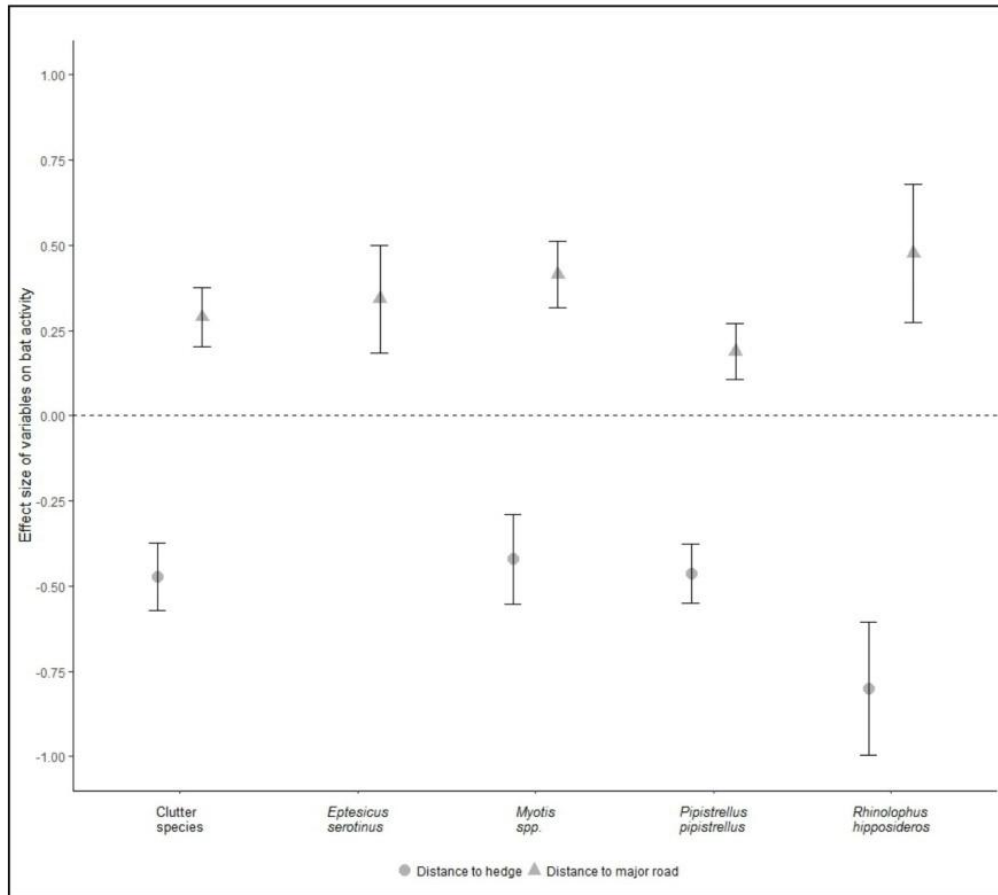


Figure 2 Effect size of the distance to the major road (triangle) and the distance to a hedge (circle). For *Eptesicus serotinus*, the distance to a hedge was no-selected in full model.

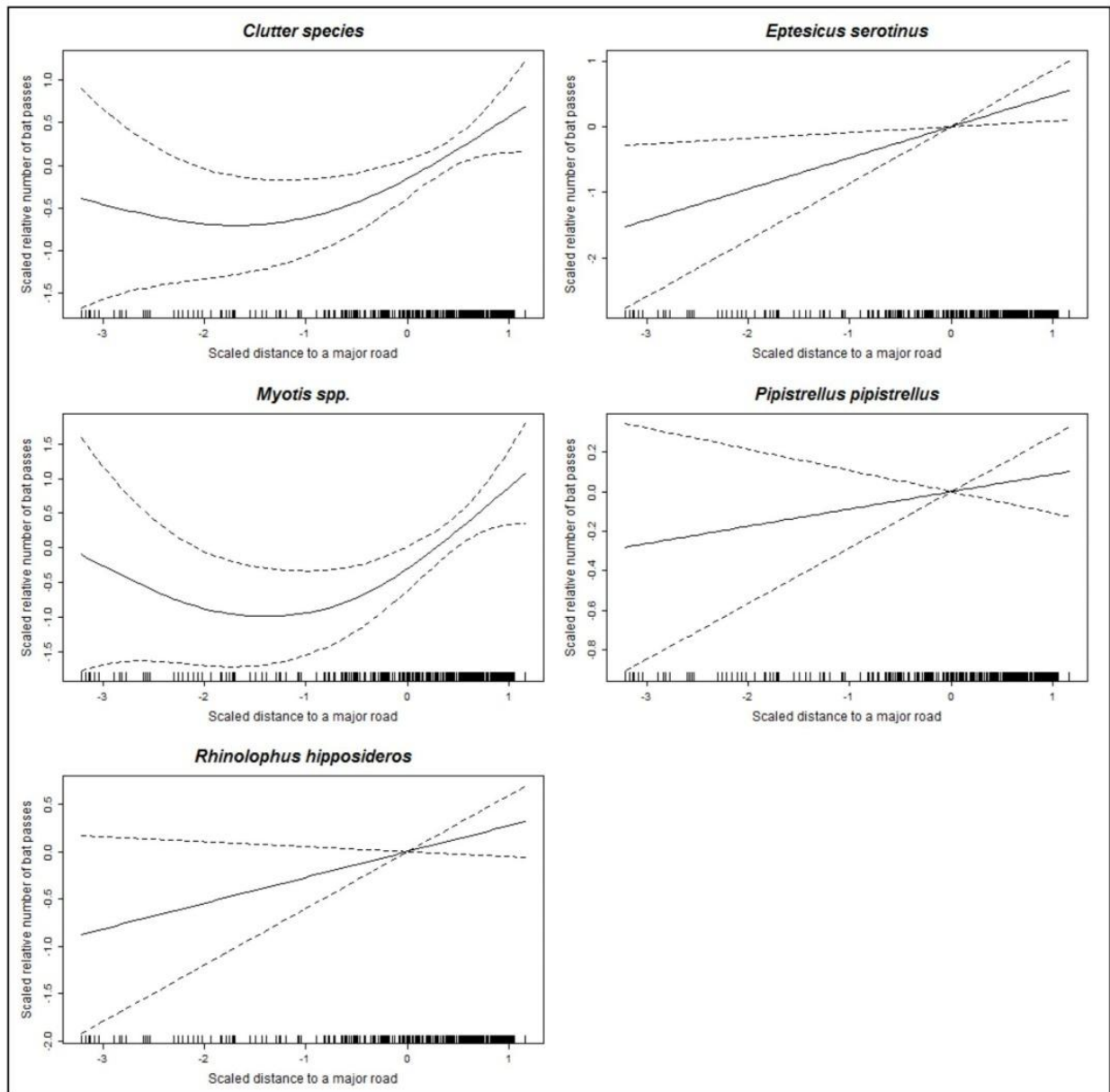
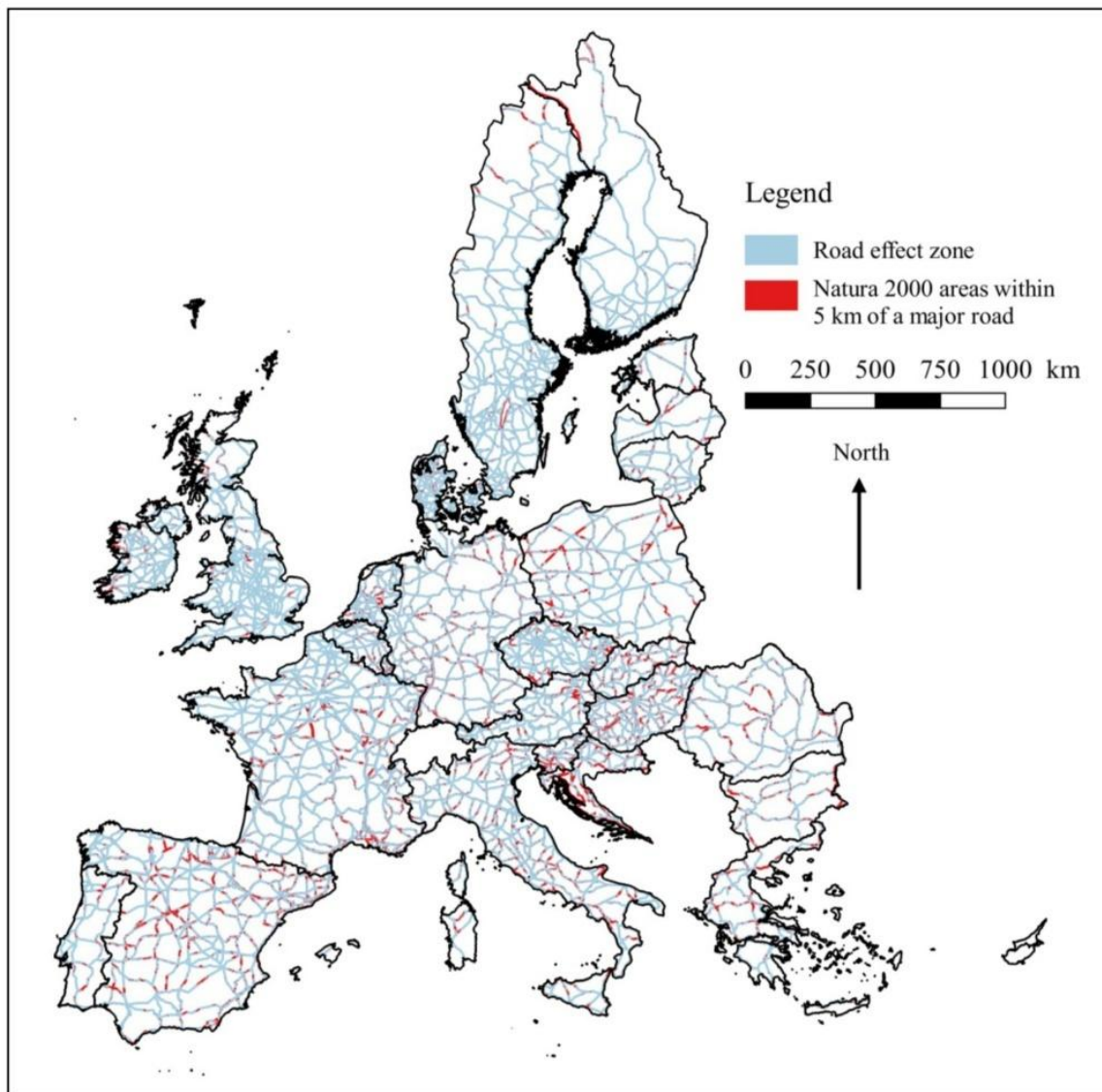


Figure 3 Generalized additive mixed model (GAMM) for species where a significant negative effect has been assessed. Scaled distance to a major road: -3, 0 m; -2, 110 m; -1, 370 m; 0, 1330 m; 1, 5000 m.



28

29 **Figure 4** Mapping of areas impacted by major roads in Europe.

1 **Major roads have important effects on insectivorous bats activity**

2

3 **Supplementary material**

4 Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

5

6 **Appendix A:** Additional information about material and method

7 **Appendix B:** Error risk modelling for bat species identification

8 **Appendix C:** Additional information about results

9

Appendix A: Additional information about material and methods

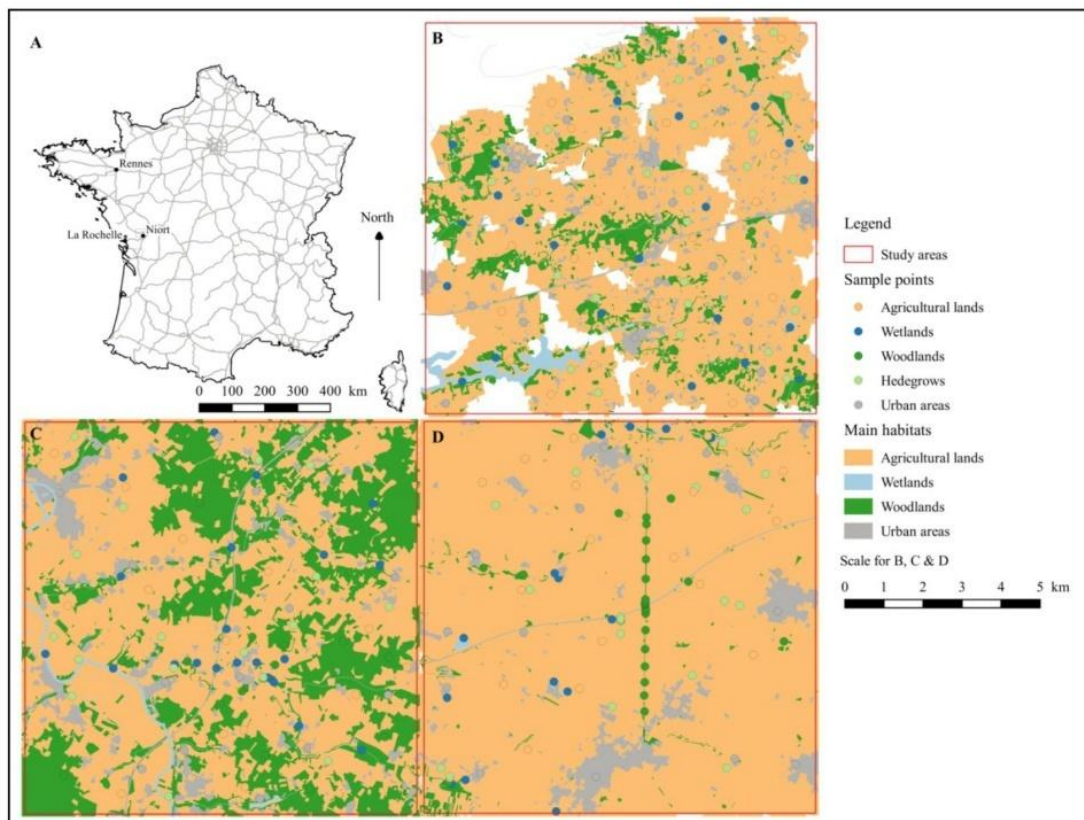


Figure A.1 Study sites: N24 (B), A10 (C) and A83 (D). Manual mapping of land use. Colour points represent sample points of recordings.

Table A.1 Distribution of the sample habitat types in several distance classes to the road.

Distance classes	Agricultural lands	Wetlands	Woodlands	Hedgerows	Urban areas	Total
[0-400 m[	7	7	14	11	5	44
[400-800 m[	4	5	7	5	6	27
[800-1200 m[	6	6	5	8	4	29
[1200-1600 m[	6	6	10	6	6	34
[1600-2000 m[	5	4	5	4	3	21
[2000-2400 m[	7	5	6	5	4	27
[2400-2800 m[	2	5	3	7	6	23
[2800-3200 m[	6	6	4	6	5	27
[3200-3600 m[	5	4	3	3	3	18
[3600-4000 m[	3	3	4	5	4	19
[4000-4400 m[	6	4	4	2	5	21
[4400-4800 m[	3	2	2	4	4	15
>4800 m	/	/	/	/	1	1
Total	60	57	67	66	56	306

16 **Table A.2** Habitat types sampled for each study site per night and per distance classes to the
17 road.

Study site Night number Habitat types	Distance classes													Total
	400	800	1200	1600	2000	2400	2800	3200	3600	4000	4400	4800	>4800	
A10	9	11	11	12	5	8	7	8	4	6	5	7	1	94
Night 1	1	2	1	1		1		3			1	2		12
Agricultural lands								1			1			2
Wetlands			1	1		1								3
Woodlands								1				2		3
Hedgerows	1	1												2
Urban areas		1						1						2
Night 2	1	3	1	2		2			1	2				12
Agricultural lands	1					1				1				3
Wetlands		1		1						1				3
Woodlands		1				1								2
Hedgerows		1	1											2
Urban areas				1					1					2
Night 3	2	2	2			1			1		2		1	11
Agricultural lands	1	1											1	3
Wetlands			1								1			2
Woodlands	1		1											2
Hedgerows						1			1					2
Urban areas		1									1			2
Night 4	3		2				3		1	1	1	1		12
Agricultural lands			1				1							2
Wetlands	1						1							2
Woodlands			1				1		1					3
Hedgerows	1									1		1		3
Urban areas	1										1			2
Night 5	1			4	1	2	2		1	1				12
Agricultural lands				1		1			1					3
Wetlands				1			1							2
Woodlands				1	1	1								3
Hedgerows				1						1				2
Urban areas	1						1							2
Night 6		1	1	2	2	1	1	2		1		1		12
Agricultural lands			1			1								2
Wetlands		1			1					1				3
Woodlands				1			1	1						3
Hedgerows				1				1						2
Urban areas					1							1		2
Night 7		1	3	2	1	1		2				2		12
Agricultural lands				1								1		2
Wetlands						1		2						3
Woodlands		1	1											2
Hedgerows			1		1							1		3

Study site Night number Habitat types	Distance classes													Total
	400	800	1200	1600	2000	2400	2800	3200	3600	4000	4400	4800	>4800	
Urban areas			1	1										2
Night 8	1	2	1	1	1		1	1		1	1	1		11
Agricultural lands			1		1									2
Wetlands	1	2												3
Woodlands				1						1	1			3
Hedgerows								1						1
Urban areas							1					1		2
A83	22	8	8	11	10	6	10	9	3	5	3	4	1	100
Night 1	2	1	1	1		1	2				1	1		10
Agricultural lands				1										1
Wetlands			1								1			2
Woodlands	2	1				1								4
Hedgerows							1							1
Urban areas							1					1		2
Night 2	2		2	1		1	1	1		1		1		10
Agricultural lands				1										1
Wetlands			1											1
Woodlands														0
Hedgerows	2		1				1			1		1		6
Urban areas						1		1						2
Night 3	6	2			1			1	1					11
Agricultural lands	1								1					2
Wetlands								1						1
Woodlands					1									1
Hedgerows	5	1												6
Urban areas		1												1
Night 4	1	1		3	1		1	2			1		1	11
Agricultural lands		1			1						1			3
Wetlands	1			1										2
Woodlands							1	1						2
Hedgerows				2										2
Urban areas								1					1	2
Night 5	1	1	1	2	1		2	1		1	1	1		12
Agricultural lands							1			1		1		3
Wetlands								1			1			2
Woodlands	1			1			1							3
Hedgerows		1	1											2
Urban areas				1	1									2
Night 6	1	1	1	1	3	2	1	1	1					12
Agricultural lands	1					1		1						3
Wetlands					1				1					2
Woodlands					1									1
Hedgerows					1	1	1							3
Urban areas		1	1	1										3
Night 7	1		2		2	1	1	1		2		1		11

Study site Night number Habitat types	Distance classes													Total
	400	800	1200	1600	2000	2400	2800	3200	3600	4000	4400	4800	>4800	
Agricultural lands			1		2									3
Wetlands	1											1		2
Woodlands										1				1
Hedgerows			1			1		1						3
Urban areas							1			1				2
Night 8	2	1		2		1	1	2	1	1				11
Agricultural lands		1				1		2						4
Wetlands				1			1							2
Woodlands	1			1										2
Hedgerows									1					1
Urban areas	1									1				2
Night 9	6	1	1	1	2		1							12
Agricultural lands														0
Wetlands														0
Woodlands	6	1	1	1	2									11
Hedgerows							1							1
Urban areas														0
N24	9	11	9	10	8	10	7	9	10	10	9	10		112
Night 1			2	1	1	1	1			1	2	1		10
Agricultural lands			1								1			2
Wetlands			1								1			2
Woodlands				1										1
Hedgerows					1					1		1		3
Urban areas						1	1							2
Night 2	1		1	1	2	2				3		1		11
Agricultural lands												1		1
Wetlands				1		1								2
Woodlands	1					1				1				3
Hedgerows			1		1									2
Urban areas					1					2				3
Night 3		2		1	2	2				1	1	1		10
Agricultural lands		1		1										2
Wetlands					1	1								2
Woodlands						1						1		2
Hedgerows										1	1			2
Urban areas		1			1									2
Night 4	1	2	1	1	1				1		1	2		10
Agricultural lands									1			1		2
Wetlands		1										1		2
Woodlands					1						1			2
Hedgerows			1	1										2
Urban areas	1	1												2
Night 5	1		2	2		1	2		2		1	1		12
Agricultural lands	1					1								2
Wetlands							1		1					2

Study site Night number Habitat types	Distance classes													Total
	400	800	1200	1600	2000	2400	2800	3200	3600	4000	4400	4800	>4800	
Woodlands			1	1										2
Hedgerows				1			1		1					3
Urban areas			1								1	1		3
Night 6	1	1		3		1		4		1	1			12
Agricultural lands	1			1						1				3
Wetlands				1				2						3
Woodlands		1									1			2
Hedgerows						1		1						2
Urban areas				1				1						2
Night 7		1	2			2	1	3		1		2		12
Agricultural lands						1		2						3
Wetlands			1							1				2
Woodlands			1				1							2
Hedgerows								1				2		3
Urban areas		1				1								2
Night 8	2	1	1				1	1	4	1		1		12
Agricultural lands									1	1				2
Wetlands	1								1					2
Woodlands									1			1		2
Hedgerows	1	1							1					3
Urban areas			1				1	1						3
Night 9	2	1				1	1		3	1	3			12
Agricultural lands		1									1			2
Wetlands	1										1			2
Woodlands	1								1	1				3
Hedgerows						1	1							2
Urban areas									2		1			3
Night 10	1	3		1	2		1	1		1		1		11
Agricultural lands					2									2
Wetlands		1					1			1				3
Woodlands		1						1						2
Hedgerows	1	1												2
Urban areas				1								1		2
Total for the three study site	40	30	28	33	23	24	24	26	17	21	17	21	2	306

18

19

Table A.3 Variables used to assess the effect of landscape characteristics on bat activity.

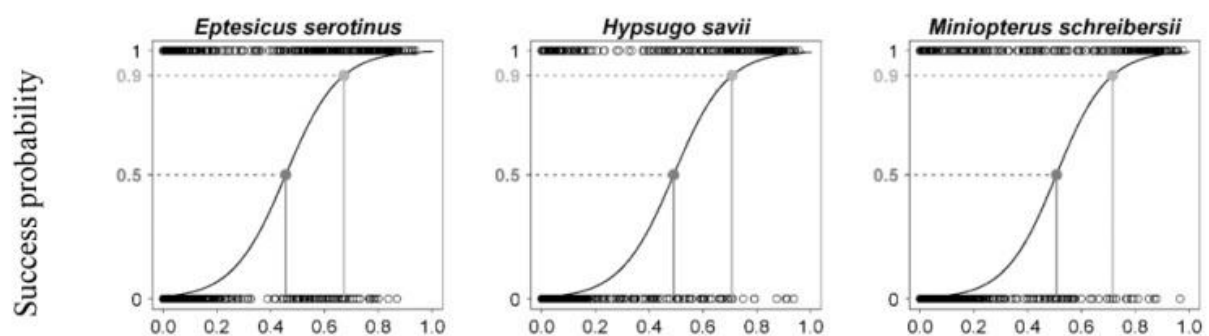
Legend: *Italic text*, variables taken within a buffer of 50, 200 and 500 m radius around each sample point

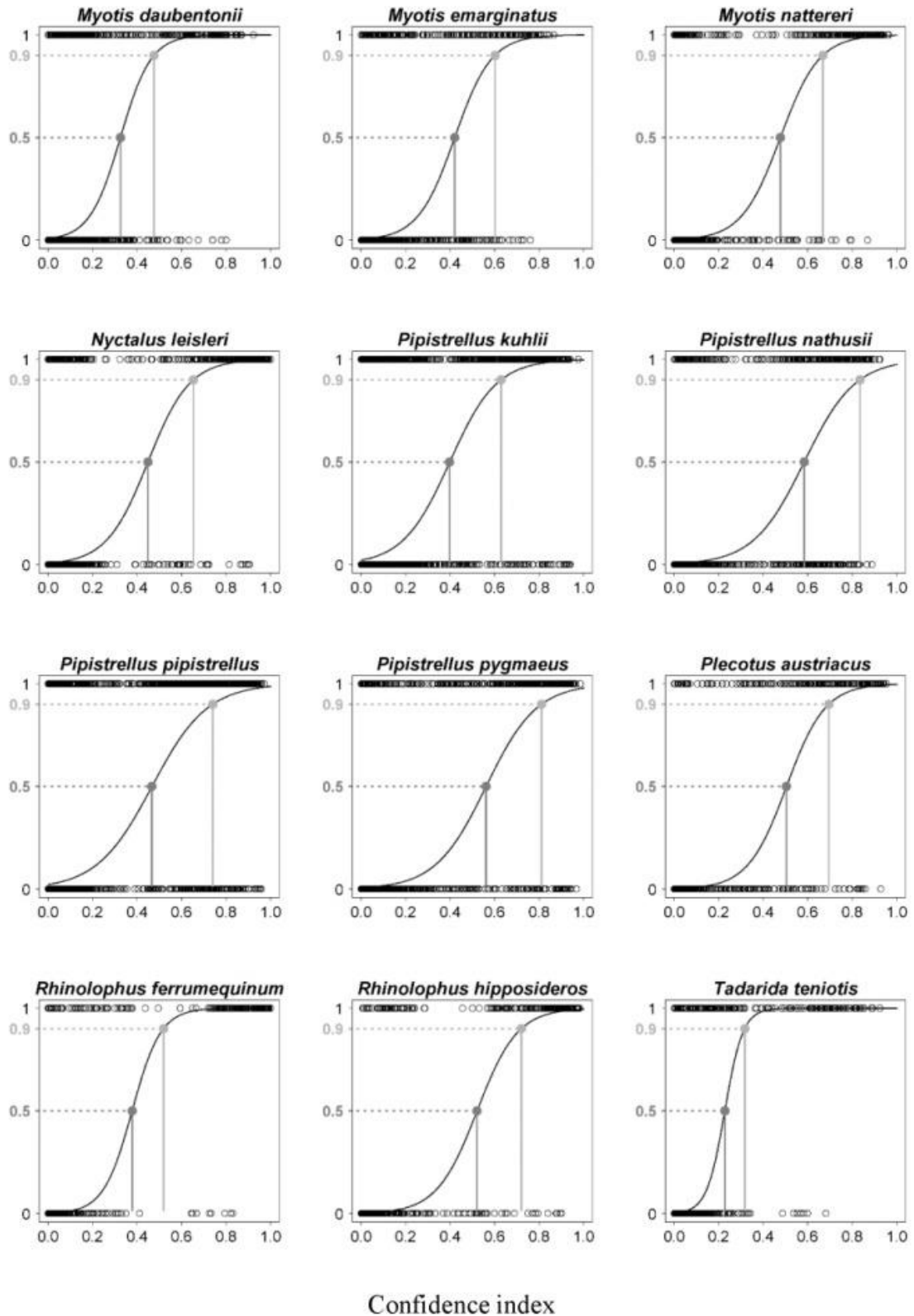
Category	Variable	Description	Unit	Total covariate
Hedges	dist_hedge	Distance to hedges (hedgerows and wooded edges)	m	1
	dist_edgeforest_agri	Distance to edge forest or agricultural hedgerows	m	1
	dist_riparianforest	Distance to riparian forest	m	1
	<i>density_hedge</i>	Density of hedgerows	m	3
Wetlands	dist_wetland	Distance to a wetland	m	1
	<i>wetland</i>	Proportion of wetlands areas	%	3
	<i>hydrographic network</i>	Proportion of hydrographic network	%	3
	<i>pond</i>	Proportion of ponds, lakes, retention basins	%	3
Agricultural	<i>agri_land</i>	Proportion of agricultural areas	%	3
	<i>crop</i>	Proportion of crops	%	3
	<i>meadow</i>	Proportion of meadows	%	3
	<i>vines_orch</i>	Proportion of vines and orchards	%	3
Wood	<i>wood</i>	Proportion of woods (deciduous woodlands and scrublands)	%	3
	<i>dec_wood</i>	Proportion of deciduous woodlands	%	3
	<i>scrub</i>	Proportion of scrublands	%	3
Urban	dist_road	Distance to the major road	%	1
	<i>urban</i>	Proportion of urban areas	%	3
	<i>ALAN</i>	Proportion of lux (artificial light at night)	%	3
	<i>disp_urban</i>	Proportion of dispersed habitat areas	%	3
	<i>dense_urban</i>	Proportion of dense residential areas	%	3
	<i>inter_urban</i>	Proportion of intermediary of dispersed habitat areas and dense residential areas	%	3
	<i>major_road</i>	Proportion of major roads	%	3
	dist_major_road	Distance to the major road	m	1
Total covariates				57

Appendix B: Error risk modelling for bat species identification

A national dataset of 17 531 species occurrences (including 8405 bat passes) underwent automatic identification using the software Tadarida (Bas et al., 2017) (online repository: <https://github.com/YvesBas>) to be classified to the most accurate taxonomic level and assigned a confidence probability between 0 and 1. The same dataset was also manually checked using BatSound© (Pettersson Elektronik AB, Sweden) and Syrinx (John Burt, Seattle, WA, USA) softwares. The dataset contained data for 28 out of the 34 bat species present in France and all species considered in this study.

For each species, we build a generalized linear model (R Core Team, 2017) using the success/failure of automatic identification as a binomial response variable and the probability given for that species by the random forest classifier as an explanatory variable. We selected the *probit* link which better fitted the binomial distribution of manual checking for all species. Reading the logistic regression curves produced, we could hence determine the needed confidence index to tolerate a given maximum error risk, i.e. confidence thresholds (Figure B.1).





39 **Figure B.1.** Logistic regressions between the success probability and the confidence index of
 40 the automatic identification for the 15 bat species studied. Horizontal dotted lines show
 41 identification success probabilities (0.5 and 0.9) corresponding to the maximum error risk

tolerance thresholds used in the analysis (respectively, 0.5 and 0.1) and corresponding confidence thresholds (vertical solid lines). Each open circle represent a bat pass taking an identification success probability value of 1 when correctly identified by Tadarida software and 0 otherwise.

46

Table B.1 Error rate per species and group for an 0.5 and 0.1 maximum risk tolerance

Species	Group	0.5 maximum error risk tolerance			0.1 maximum error risk tolerance		
		Per species	Group average	Occurrence	Per species	Group average	Occurrence
<i>Barbastella barbastellus</i>	/	2.27%	/	181	1.06%	/	169
<i>Eptesicus serotinus</i>	/	8.40%	/	167	3.73%	/	104
<i>Myotis alcathoe</i>	<i>Myotis spp.</i>	5.51%	13.28%	244	1.38%	3.11%	208
<i>Myotis capaccinii</i>		24.58%			6.86%		
<i>Myotis daubentonii</i>		3.02%			0.88%		
<i>Myotis emarginatus</i>		26.18%			5.99%		
<i>Myotis myotis/ blythii</i>		19.03%			4.28%		
<i>Myotis mystacinus</i>		12.60%			1.94%		
<i>Myotis nattereri</i>		15.31%			3.54%		
<i>Nyctalus leisleri</i>	/	6.44%	/	111	1.78%	/	71
<i>Nyctalus noctula</i>	/	3.78%	/	69	0.67%	/	62
<i>Pipistrellus kuhlii</i>	/	8.83%	/	222	3.68%	/	222
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	/	9.49%	/	299	5.35%	/	233
<i>Plecotus auritus</i>	<i>Plecotus spp.</i>	23.19%	16.64%	141	2.22%	2.88%	79
<i>Plecotus austriacus</i>		10.09%			3.54%		
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	/	0.20%	/	53	0.04%	/	52
<i>Rhinolophus hipposideros</i>	/	3.45%	/	105	2.88%	/	105

48

49 **Appendix C:** Additional information about results

50 **Table C.1** Complete results from model selection according a maximum error risk of 0.5 in species identification. Table shows estimates (β), with the standard error (SE) and p-value (P) for all bats, guild and each
51 species/group according to covariates. Legend: /, variable no-selected in full model; X, variable no-selected in selected model. Table A.2 refer the description of each variable.

Variables	Bats			Aerial			Clutter			<i>B. barbastellus</i>			<i>E. serotinus</i>			<i>Myotis spp.</i>			<i>N. leisleri</i>			<i>N. noctula</i>			<i>P. kuhlii</i>			<i>P. pipistrellus</i>			<i>Plecotus spp.</i>			<i>R. ferrumequinum</i>			<i>R. hipposideros</i>					
	β	SE	P	β	SE	P	β	SE	P	β	SE	P	β	SE	P	β	SE	P	β	SE	P	β	SE	P	β	SE	P	β	SE	P	β	SE	P	β	SE	P						
autocov_function	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.0266	0.0761	0.7264	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.474	0.087	<0.001	/	/	/					
dist_colo_Rhifer	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/					
dist_major_road.wetland(50)	X	X	X	-	0.112	0.820	X	X	X	/	/	/	/	/	/	-	0.132	0.069	/	/	/	0.167	0.171	0.329	X	X	X	/	/	/	/	/	/	X	X	X						
dist_major_road.wetland(200)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	X	X	X	/	/	/	/	X	X	X	/	/	/	/	X	X	X	/	/	/	/	/	/	/	/	/				
dist_major_road.hydrographic.network(500)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	X	X	X	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/				
dist_major_road.hydrographic.network(50)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	X	X	X	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/				
dist_major_road.dist_wetland	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-	0.155	0.179	0.385	/	/	/			
dist_major_road.dist_hedge	0.157	0.084	0.062	0.144	0.091	0.116	0.272	0.103	0.008	/	/	/	/	/	/	0.317	0.123	0.010	/	/	/	-	0.161	0.561	0.236	0.100	0.019	X	X	X	0.226	0.225	0.316	0.324	0.211	0.125	/	/	/			
dist_major_road.dist_edgeforest_agri	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-	0.155	0.135	/	/	/	/	/	/	X	X	X	-	0.3039	0.0611	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		
dist_major_road.density_hedge(200)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-	0.525	0.209	0.012	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		
dist_major_road	0.132	0.071	0.063	0.108	0.077	0.159	0.289	0.086	0.001	-	0.119	0.135	0.379	0.342	0.159	0.032	0.414	0.097	<0.001	X	X	X	X	X	X	0.033	0.138	0.812	0.188	0.082	0.021	X	X	X	-	0.023	0.227	0.920	0.476	0.203	0.019	
dist_wetland	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-	0.323	0.171	0.058	/	/	/			
dist_hedge	-	0.075	<0.001	-	0.082	<0.001	-	0.100	<0.001	/	/	/	/	/	/	-	0.131	0.001	/	/	/	-	0.128	0.065	-	0.087	<0.001	-	0.155	0.119	0.525	0.236	0.026	0.800	0.195	<0.001	/	/	/			
dist_edgeforest_agri	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-	0.819	0.142	<0.001	/	/	/	/	/	X	X	X	0.3954	0.2298	0.0854	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
dist_riparianforest	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		
dist_road	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-	0.154	0.116	0.186	/	/	/	/	/	/	/	-	0.130	<0.001	0.567	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
density_hedge																																										
50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
200	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.895	0.180	<0.001	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
500	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
ALAN																																										
50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
200	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.1649	0.1328	0.2142	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
500	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
agri_land																																										
50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-	0.312	0.204	0.127	/	/	/	/	/	/	
200	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
500	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
wetland																																										
50	0.519	0.078	<0.001	0.498	0.093	<0.001	0.673	0.102	<0.001	/	/	/	/	/	/	0.993	0.141	<0.001	/	/	/	0.370	0.145	0.011	0.552	0.091	<0.001	/	/	/	/	/	/	0.344	0.190	0.069	/	/	/	/	/	/
200	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	X	X	X	/	/	/	/	/	0.4438	0.1628	0.0064	/	/	/	/	X	X	X	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
500	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
wood																																										
50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.359	0.127	0.005	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
200	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
500	/	/	/	/	/	/	0.290	0.097	0.003	/	/	/	/	/	/	0.456	0.127	<0.001	/	/	/	-	0.172	0.035	/	/	/	/	/	/	/	/	0.693	0.176	<0.001	/	/	/	/	/	/	/
urban																																										
50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0.782	0.140	<0.001	-	0.376	0.265	0.155	/	/	/	/	/	/	/	/	/

[illegible]

For *R. ferrumequinum*, it remains in our model spatial autocorrelation even after having corrected it with the *autocov_dist* function (R package, *spdep*) (Table C.1). As we know the location of the only colony in A10 site (Pinaud et al., 2018) we ran models with the distance to the roosting bat. Spatial autocorrelation was corrected but we don't found effect of the major road on their activity. Moreover, according the number of bat passes detected in each site (A10=291 bat passes; A83=24 bat passes; N24: 4 bat passes), we ran model ran at the site scale only for A10 and without the distance to roost. No effect of the distance of the major and no spatial autocorrelation was found (Table C.2).

Table C.2 Additional and complete results from model selection according a maximum error risk of 0.5 in species identification for *R. ferrumequinum*. First model selection with the distance to the colony and the second for only A10 site. Table shows estimates (β), with the standard error (SE) and p-value (P) for all bats, guild and each species/group according to covariates. Legend: /, variable no-selected in full model; X, variable no-selected in selected model. Table A.2 refer the description of each variable.

Variables	<i>R. ferrumequinum</i> with distance to colony			<i>R. ferrumequinum</i> for A10 site		
	β	SE	P	β	SE	P
dist_colo_Rhifer	-0.606	0.205	0.003	/	/	/
dist_major_road:dist_wetland	X	X	X	X	X	X
dist_major_road:dist_hedge	X	X	X	X	X	X
dist_major_road	X	X	X	-0.451	0.355	0.203
dist_wetland	-0.779	0.188	0.000	-0.933	0.252	0.000
dist_hedge	X	X	X	-0.666	0.323	0.039
agri_land_50	X	X	X	/	/	/
wood_500	/	/	/	0.589	0.3024	0.051
urban_50	-0.671	0.313	0.032	X	X	X
crop_50	/	/	/	0.590	0.306	0.053
scrub_500	2.450	1.029	0.017	/	/	/

69 **Table C.3** Full, best and null model with their AIC according a maximum error risk of 0.5 in species identification. Table A.2 refer the
70 description of each variable. Table C.1 refer the estimate, standard error and p-value of selected models.

Species	Models	Variables	AIC		Delta AIC selected model to null model
			Negative binomial link	Poisson link	
Bats	Full model	dist_major_road:wetland(50) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + meadow(200) + dec_wood (200) + disp_urban (500)	4472.9	/	
	Selected model	dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + disp_urban (500)	4471.3	/	96.2
	Null model	1	4567.5	/	
Aerial	Full model	dist_major_road:wetland(50) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + meadow(200) + dec_wood (200) + disp_urban (500)	4372.7	/	
	Selected model	dist_major_road:wetland(50) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + dec_wood (200) + disp_urban (500)	4370.8	/	87.4
	Null model	1	4458.2	/	
Clutter	Full model	dist_major_road:wetland(50) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + wood (500) + meadow(200) + disp_urban (200)	2866.3	/	
	Selected model	dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + wood (500) + meadow(200) + disp_urban (200)	2865.6	/	102.9
	Null model	1	2968.5	/	
<i>B. barbastellus</i>	Full model	dist_major_road:hydrographic network(500) + dist_major_road:dist_edgeforest_agri + dist_major_road + dist_edgeforest_agri + dist_road + wood(50) + meadow(50) + hydrographic network(500)	1618.6	/	
	Selected model	dist_major_road:dist_edgeforest_agri + dist_major_road + dist_edgeforest_agri + dist_road + wood(50) + meadow(50)	1616.2	/	47.9
	Null model	1	1664.1	/	
<i>E.serotinus</i>	Full model	dist_major_road:wetland(200) + dist_major_road:density_hedge(200) + dist_major_road + density_hedge(200) + wetland(200) + crop(500) + dec_wood(500) + dense_urban(500)	1703.5	/	
	Selected model	dist_major_road:density_hedge(200) + dist_major_road + density_hedge(200) + dec_wood(500) + dense_urban(500)	1700.1	/	17.1
	Null model	1	1717.2	/	

Species	Models	Variables	AIC		Delta AIC selected model to null model
			Negative binomial link	Poisson link	
<i>Myotis spp.</i>	Full model	dist_major_road:wetland(50) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + wood (500) + meadow(200) + disp_urban (200)	2371	/	
	Selected model	dist_major_road:wetland(50) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + wood (500) + meadow(200) + disp_urban (200)	2371	/	105.9
	Null model	1	2476.9	/	
<i>N. leisleri</i>	Full model	dist_major_road:hydrographic network(50) + dist_major_road:dist_edgeforest_agri + dist_major_road + dist_edgeforest_agri + crop(500) + hydrographic network(50) + dec_wood(500) + dense_urban(500)	1033.6	/	
	Selected model	crop(500) + hydrographic network(50)	1022.8	/	6.3
	Null model	1	1029.1	/	
<i>N. noctula</i>	Full model	autocov_function + dist_major_road:wetland(200) + dist_major_road:dist_edgeforest_agri + dist_major_road + dist_edgeforest_agri + ALAN(200) + wetland(200) + crop(200) + dec_wood(50)	719.2	/	
	Selected model	autocov_function + dist_major_road:dist_edgeforest_agri + dist_edgeforest_agri + ALAN(200) + wetland(200) + crop(200) + dec_wood(50)	716	/	34.8
	Null model	1	750.8	/	
<i>P. kuhlii</i>	Full model	dist_major_road:wetland(50) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + dist_road + wetland(50) + wood(500) + crop(500)	/	53020.5	
	Selected model	dist_major_road:wetland(50) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + dist_road + wetland(50) + wood(500) + crop(500)	/	53020.5	18199.5
	Null model	1	/	71220	
<i>P. pipistrellus</i>	Full model	dist_major_road:wetland(50) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + meadow(200) + dec_wood (200) + disp_urban (500)	4193.6	/	
	Selected model	dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + disp_urban (500)	4189.7	/	90.8
	Null model	1	4280.5	/	
<i>Plecotus spp.</i>	Full model	dist_major_road:wetland(200) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(200) + urban(50) + crop(50) + dec_wood(200)	1209.5	/	
	Selected model	dist_hedge + urban(50)	1199.7	/	30.6
	Null model	1	1230.3	/	

Species	Models	Variables	AIC		Delta AIC selected model to null model
			Negative binomial link	Poisson link	
<i>R. ferrumequin um</i>	Full model	autocov_function + dist_major_road:dist_wetland + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_wetland + dist_hedge + agri_land(50) + urban(50) + scrub(500)	485.9	/	
	Selected model	autocov_function + dist_major_road:dist_wetland + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_wetland + dist_hedge + agri_land(50) + urban(50) + scrub(500)	485.9	/	32.7
	Null model	1	518.6	/	
<i>R. hipposideros</i>	Full model	dist_major_road:wetland(50) + dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + wood(500) + meadow(200) + dense_urban(500)	904.4	/	
	Selected model	dist_major_road:dist_hedge + dist_major_road + dist_hedge + wetland(50) + wood(500)	902.2	/	36
	Null model	1	938.2	/	

71

72

Some models (e.g. null models) don't ran with a negative binomial link for two species: *P. kuhlii* and *N. noctula*. For *P.kuhlii*, we

73

compared full, selected and null model with a poisson link. Such as the poisson link don' ran also for *N. noctula*, we cut and limited the tail of

74

distribution to a normal level of abundance.

75

76

Table C.4 Estimates, standard errors and p-value of the distance from the major road variable for clutter species, one guild and three species affected by major roads according a maximum error risk of 0.1 in species identification.

	Clutter species	<i>E. serotinus</i>	<i>Myotis spp</i>	<i>P. pipistrellus</i>	<i>R. hipposideros</i>
β	0.29293	0.7139	0.4926	0.1106	0.48487
SE	0.09284	0.3296	0.1115	0.122	0.20528
p-value	0.0016	0.03034	0.00001	0.364543	0.0182

As a reminder, **Table 2.** Estimates, standard errors and p-value of the distance from the major road variable for clutter species, one guild and three species affected by major roads according a maximum error risk of 0.5 in species identification.

	Clutter species	<i>E. serotinus</i>	<i>Myotis spp</i>	<i>P. pipistrellus</i>	<i>R. hipposideros</i>
β	0.28870	0.34200	0.41421	0.18830	0.47630
SE	0.08566	0.15910	0.09659	0.08159	0.20250
p-value	0.00075	0.03160	0.00002	0.02100	0.01870

85 **Table C.5** Total of bat passes, occurrence, number of points recorded bat passes (%) and mean with standard error of bat bat passes per sample
86 point for each sample point at 0.5 maximum error risk tolerance for all species and 0.1 for species which found and effect of major road on bat
87 activity.

Species	0.5 maximum error risk tolerance					0.1 maximum error risk tolerance				
	Total bat passes	Occurrence on 306 sample points	Occurrence (%)	Mean of bat passes per sample point	SE of bat passes per sample point	Total bat passes	Occurrence on 306 sample points	Occurrence (%)	Mean of bat passes per sample point	SE of bat passes per sample point
<i>B. barbastellus</i>	2 836	181	59.15	9.27	1.46	3 754 14 050	104 208	33.99 67.97	12.27 45.92	3.41 10.33
<i>E. serotinus</i>	5 143	167	54.58	16.81	3.78					
<i>Myotis spp.</i>	18 282	244	79.74	59.75	12.53					
<i>N. leisleri</i>	1 726	111	36.27	5.64	1.25					
<i>N. noctula</i>	1 657	69	22.55	5.42	1.80					
<i>P. kuhlii</i>	29 090	222	72.55	95.07	17.74	111 649	233	76.14	364.87	40.05
<i>P. pipistrellus</i>	162 456	299	97.71	530.90	53.75					
<i>Plecotus spp</i>	1 257	141	46.08	4.11	0.80					
<i>R. ferrumequinum</i>	319	53	17.32	1.04	0.30					
<i>R. hipposideros</i>	1 035	105	34.31	3.38	1.25					
						1 000	105	34.31	3.27	1.21

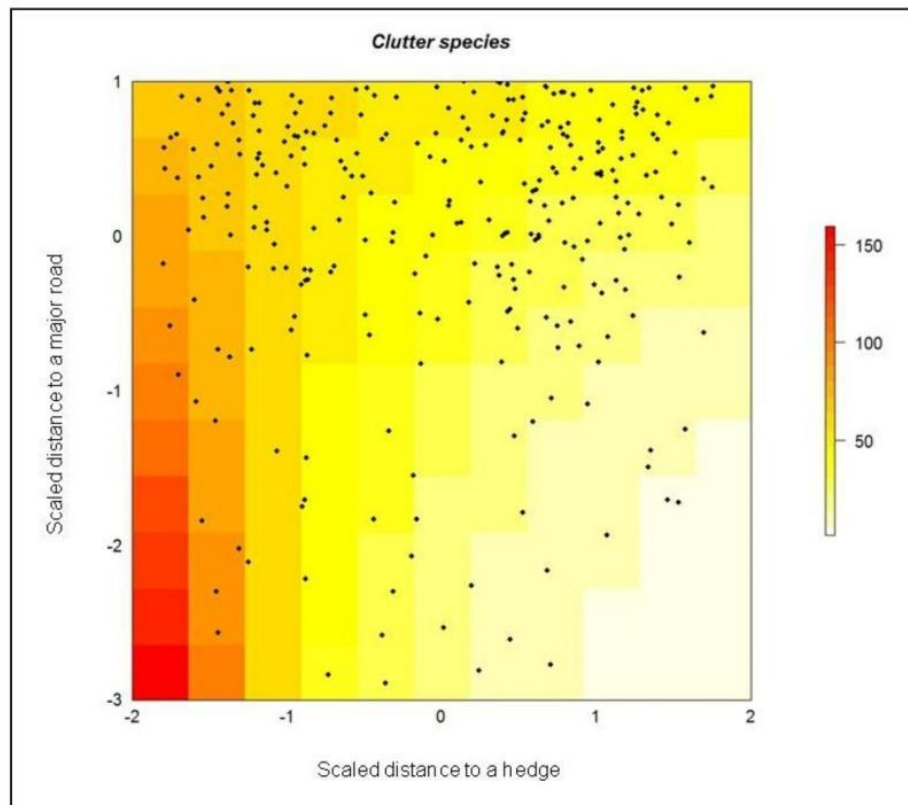


Figure C1 Interaction of the distance from a major road with the distance to a hedge for "clutter" species. When the squared is red, the prediction of finding "clutter" species is strong and when the squared is white, the prediction of finding "clutter" species is low. The black dots represent the sampled points. Scaled distance to a major road: -3, 0 m; -2, 110 m; -1, 370 m; 0, 1330 m; 1, 5000 m. Scaled distance to a hedge: -2, 0 m; -1, 3 m; 0, 17 m; 1, 90 m; 2, 300 m.

97 **References**

- 98 Bas, Y., Bas, D., Julien, J.-F., 2017. Tadarida: A Toolbox for Animal Detection on Acoustic
99 Recordings. *J. Open Res. Softw.* 5. <https://doi.org/10.5334/jors.154>
100 Pinaud, D., Claireau, F., Leuchtmann, M., Kerbiriou, C., 2018. Modelling landscape
101 connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance.
102 *J. Appl. Ecol.* 55, 2600–2611. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13228>
103 R Core Team, 2017. R: A language and environment for statistical computing.
104
105

SYNTHESE N°1

EFFET DES AUTOROUTES OU 2X2 VOIES CONTIGÜES SUR LA STRUCTURATION GÉNÉTIQUE ET LES ÉCHANGES D'INDIVIDUS DE CHIROPTÈRES

Contribution des auteurs : Fabien Claireau (FC), Sébastien J. Puechmaille (SJP) et Christian Kerbiriou (CK) ont conçu la question de recherche. FC et SJP, en lien avec Eric Petit (EP), le plan d'échantillonnage. FC a effectué les recherches de sites en partenariat avec des associations de protection de la nature (AP). Les AP ont récolté les données. FC, SJP, CK, Nathalie Machon (NM) et Naturalia environnement ont procédé à la recherche de financement et/ou participé au financement. Pierre-Loup Jan (PLJ) a procédé à l'analyse des résultats. FC et PJJ ont écrit le résumé ci-après. FC, CK, NM, SJP, EP et PLJ ont participé à la réflexion. FC, NM et SP ont dirigé l'ensemble de la question de recherche.

1. Introduction

Comme vu précédemment, les transports (ex. : les routes) sont documentés pour avoir des effets négatifs sur la biodiversité (Forman & Alexander 1998; Forman 2000; Trombulak & Frissell 2000). Les routes jouent notamment un rôle de fragmentation des habitats et d'effet barrière pour divers groupes biologiques, et sont capables de conduire à la perte de diversité génétique des populations, via la réduction du taux d'hétérozygotie (Forman & Alexander 1998). Plusieurs groupes biologiques ont déjà fait l'objet d'études génétiques en lien avec la rupture des continuités écologiques et la fragmentation, comme les oiseaux (Bates 2002), les grands mammifères (Hartl *et al.* 2005), les amphibiens (Cushman 2006), les reptiles (Clark *et al.* 2010), les insectes (Keller & Largiader 2003) ou les arachnides (Ramirez & Haakonsen 1999). Mais aucune littérature n'est disponible en ce qui concerne l'effet de la fragmentation des paysages par les routes sur les mouvements d'individus et la structure génétique des populations de chauves-souris (Berthinussen 2013).

Les outils de génétique des populations permettent d'estimer les échanges de gènes entre les populations, qui correspondent à la dispersion d'individus qui a été suivie d'une reproduction réussie dans le cas des espèces à fertilisation interne, et permet de faire le lien avec la connectivité fonctionnelle d'un paysage (Manel *et al.* 2003). Toutefois, elle ne permet pas de connaître exhaustivement tous les déplacements d'individus, notamment si ceux-ci ne se reproduisent pas.

Une des méthodes pouvant être mise en œuvre pour l'analyse de la structure génétique est la capture des individus dans leur gîte suivi les prélèvements de tissus directement sur les individus. Cette technique reste néanmoins très invasive. Il est cependant aussi possible de mettre en place un suivi de génétique non-invasif, qui n'implique pas la collection d'échantillons directement sur l'animal (Broquet, Ménard & Petit 2006; Marucco *et al.* 2011) mais qui s'appuie sur des éléments comme les poils (Lamb *et al.* 2018), les plumes (Sefc, Payne & Sorenson 2003) ou les fèces (Afonso *et al.* 2016; Zarzoso-Lacoste *et al.* 2018) pour éviter la manipulation des individus.

La génétique non-invasive que nous avons mis en œuvre pour le Petit rhinolophe est basée sur la récolte du guano. Cette espèce protégée et menacée est considérée comme particulièrement sensible et il est recommandé d'éviter les méthodes de suivi trop invasives (Dietz *et al.* 2006). La méthode mise en œuvre inclut une assignation des individus et autorise d'une part l'étude de la structure génétique des populations et présente l'avantage de pouvoir étudier aussi les échanges d'individus même si ceux-ci ne se sont pas reproduits (Afonso *et al.* 2016; Zarzoso-Lacoste *et al.* 2018). Nous avons donc utilisé cette méthode pour étudier l'impact de la route sur ces deux processus. Par ailleurs, le Petit rhinolophe est une espèce pour laquelle nous avons déjà détecté une forte influence de la proximité des autoroutes sur son activité de chasse et de déplacement (cf article 3).

2. Matériel et méthodes

2.1. Espèce étudiée

Le Petit rhinolophe (*Rhinolophus hipposideros*) (Fig. 24) est une espèce à préoccupation de conservation reconnue (Bontadina *et al.* 2000) : quasi-menacée en Europe [statut NT, (Temple & Terry 2007)], sensible à la fragmentation des habitats et considéré comme un bon indicateur de la perte d'habitats (Haysom *et al.* 2013). Il s'agit d'une espèce sédentaire dont les déplacements entre le gîte d'été et d'hiver ne dépassent pas les 10-20 km (Hutterer *et al.* 2005). Les femelles sont fidèles à leur colonie de parturition d'une année à l'autre, et ne s'en éloignent guère de plus de 5 km pour chercher leur nourriture (Dool *et al.* 2016). Les colonies de Petits rhinolophe peuvent être considérées comme des populations limitées dans l'espace (Afonso *et al.* 2016; Dool *et al.* 2016). Par ailleurs, nous pouvons déjà vu auparavant qu'elle est très sensible à l'effet des autoroutes (cf. article 3).



Figure 24 : Petit rhinolophe (photo : Jason Crebassa)

2.2. Plan d'échantillonnage

Pour tester l'existence d'un impact de l'autoroute sur les échanges d'individus entre les gîtes, nous avons recherché *in natura* une configuration de trois colonies estivales de reproduction de Petits rhinolophes (chacune composée d'au moins 15 individus) dont deux d'un même côté d'une autoroute et la troisième de l'autre côté (Fig. 25).

A l'aide de l'identification des individus par le génotypage, il est possible d'étudier si un individu à l'année n du gîte A s'est rendu l'année $n+1$ dans le gîte B ou C (Fig. 25). A partir de cette expérience, les mouvements d'individus peuvent être quantifiés entre chaque colonie. Si l'autoroute joue un rôle négatif, les échanges d'individus entre A et C seront inférieurs aux échanges entre A et B.

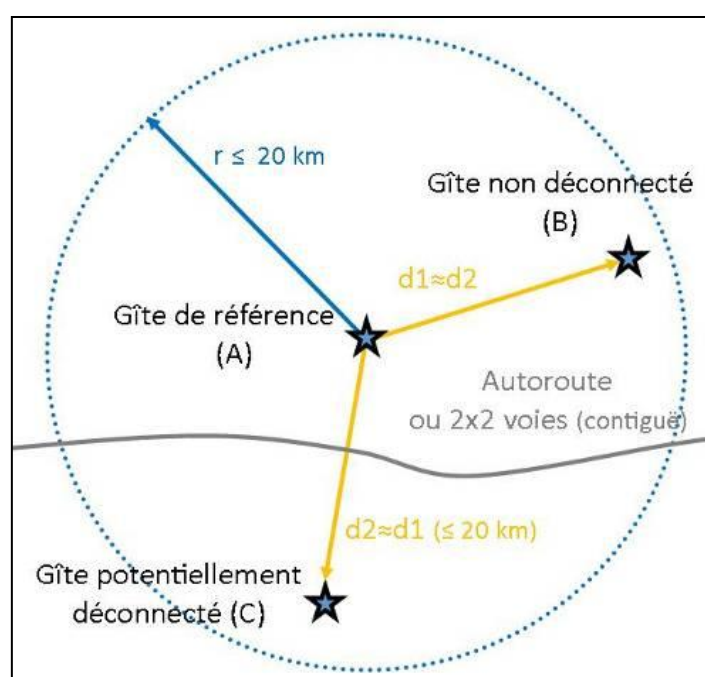


Figure 25 : Plan d'échantillonnage recherché pour évaluer l'effet des autoroutes sur les mouvements d'individus

Pour mener à bien la recherche de colonies, nous avons sollicité toutes les personnes référentes du Plan National d'Action Chiroptères (PNAC) en France métropolitaine ainsi que des structures en Grande-Bretagne et en Suisse. Bien que nous ayons eu beaucoup de retours,

seulement cinq sites ont été retenus en France métropolitaine : deux en Bourgogne, un en Picardie, un en Bretagne et le dernier en Pays-de-la-Loire et Centre. Les autres sites ont été éliminés du fait d'une autoroute jugée trop peu fragmentante (présence de viaducs, passages à faune...).

Pour les sites retenus, nous avons demandé aux associations de protection de la nature de procéder à deux récoltes par an (pré et post reproduction) et sur deux années consécutives. Une récolte du guano s'effectue sur une quinzaine de jours et nécessite deux passages. Le premier pour nettoyer et installer le papier journal sur lequel les crottes tombent, et le second passage pour mettre le guano dans des boîtes remplies de gel de silice (permettant la conservation du guano). Cela représente donc un total huit passages par colonie. Du fait de contrainte financière, un seul des cinq sites a pu faire l'objet d'analyses génétiques (extraction et génotypage d'ADN) et pour seulement deux récoltes sur les quatre. Nous avons priorisé les récoltes permettant d'observer la dispersion des juvéniles, qui sont les principaux disperseurs chez les chauve-souris comme chez les autres mammifères en général (Dobson 1982). Ainsi, seulement les récoltes en post reproduction de l'année n et pré-reproduction de l'année n+1 ont été analysées.

Le site qui a été retenu est celui situé en Picardie au sud-est de la forêt de Compiègne. Ce site présentait l'avantage de présenter d'une part la configuration souhaitée ainsi que deux colonies supplémentaires présentes dans le rayon recherché. Elles ont alors été incluses dans l'échantillonnage afin d'observer tous les échanges d'individus dans la zone du gîte de référence (Fig. 26). Ces colonies sont plus précisément séparées par une 2X2 voies contigues et aucun ouvrage important dédié ou non au passage des animaux n'est présent. Nous pouvons alors partir du postulat d'une autoroute traditionnelle représentative des impacts attendus.

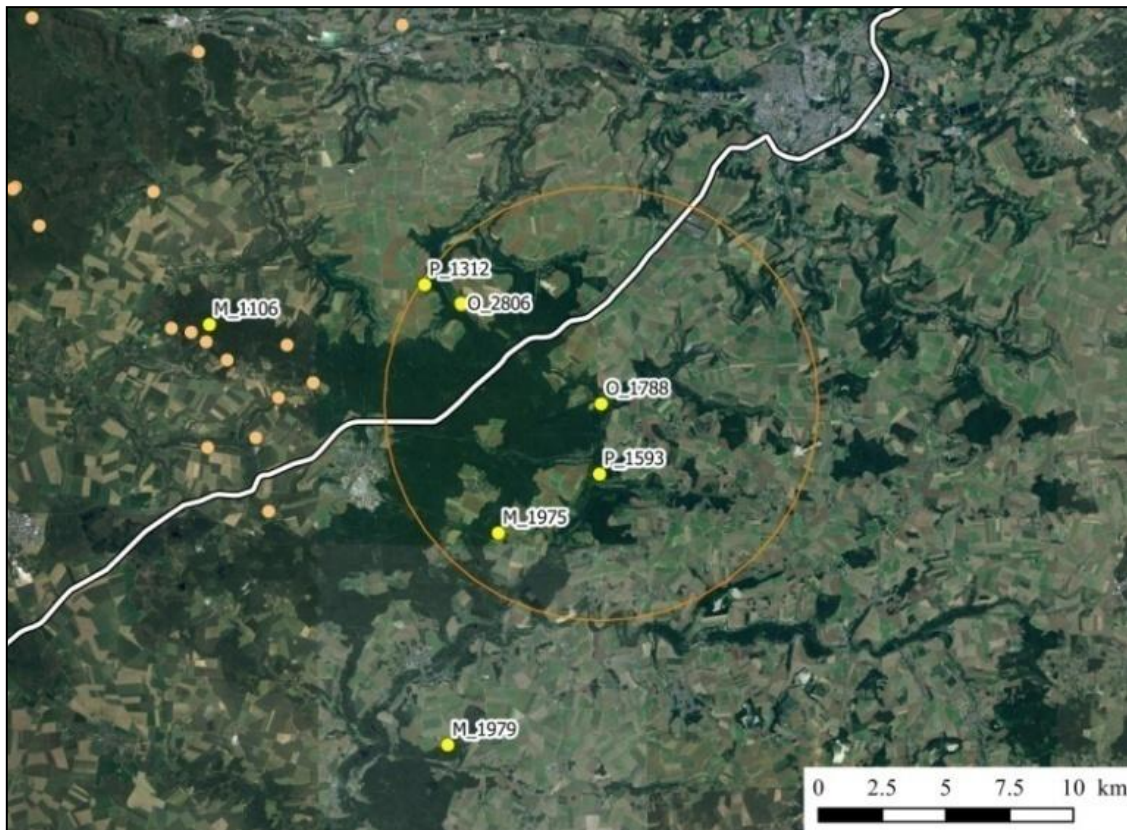


Figure 26 : Les points jaunes à l'intérieur du cercle orange correspondent aux colonies de notre plan d'échantillonnage : O_1788 (A, Fig. 25), M_1975 (C, à 6,5 km, Fig. 25), O_2806 (B, à 6,7 km, Fig. 25), P_1312 et P_1593 (colonies secondaires). Les points jaunes à l'extérieur du cercle orange (M_1979 et M_1106) correspondent à des colonies échantillonnées dans le cadre de la thèse de Pierre-Loup Jan en 2016. Les points oranges correspondent à des colonies de Petit rhinolophe connues mais non échantillonnées. La ligne épaisse blanche bordée de noir correspond à la 2X2 voies contiguë (N2)

2.3. Extraction et génotypage

L'identification des individus par la récolte de guano est possible via huit marqueurs microsatellites et un marqueur de sexage déjà développés (Zarzoso-Lacoste *et al.* 2018).

L'ADN provenant du guano étant partiellement dégradé, chaque échantillon a été génotypé trois fois, et les répliques utilisés pour estimer la qualité des données génétiques obtenues. La lecture des génotypes répliqués trois fois et la création du génotype consensus pour chaque échantillon se sont réalisées de façon semi-automatisé via un pipeline informatisé suivi d'une vérification visuelle des génotypes ne se différenciant que par un ou deux marqueurs sur les neuf (c-a-d, mismatch 1 et mismatch 2). Le protocole complet est détaillé dans Zarzoso-Lacoste *et al.* (2018). Les génotypes ayant plus de deux locus avec des données manquantes

ou pour lesquels il était impossible d'établir un consensus n'ont pas été considérés dans notre jeu de donnée. La qualité du génotypage a ainsi été estimé via la proportion de génotypes considérés parmi nos échantillons mais surtout par la mesure de la déviation de chaque réplica au consensus final. Nous avons alors estimé la proportion de réplicas présentant un allèle de moins que le consensus (ADO), la proportion de réplicas présentant un allèle excédentaire (FA), et utilisé ces deux métriques pour sortir un index de qualité (QI - Broquet & Petit 2004; Miquel *et al.* 2006). Les analyses basées sur la structuration génétique des populations (Algorithme de Monmonnier, ACPD et assignation aux population – voir plus loin) n'ont considéré que les individus correctement génotypés sur l'ensemble des locus.

2.4. Mouvement des individus

Zarzoso-Lacoste *et al.* (2018) ont démontré que le nombre de marqueurs est suffisant pour considérer que des génotypes identiques appartiennent au même individu. A partir des génotypes, il a donc été possible d'identifier les mouvements d'individus d'une colonie à l'autre entre 2016 et 2017, voire au sein d'une même année, lorsqu'un génotype identique se trouvait échantillonné dans des colonies différentes.

2.5. Structuration génétique et assignation aux populations

Les analyses présentées dans ce paragraphe sont uniquement basées sur les femelles car il s'agit de colonies de maternités. Nous avons considéré deux jeux de données : le premier prenant en compte l'ensemble des individus échantillonnés en 2016 et 2017 dans les cinq colonies présentées plus haut (Fig. 26), et le deuxième excluant les individus échantillonnés en 2017 mais ajoutant deux colonies situées non loin du site d'échantillonnage et échantillonnées en 2016 dans la cadre de l'étude de Jan (2017). Ces colonies sont nommées

M_1979 et M_1106 et se trouvent respectivement à 14,6 et 15,6 km du gîte de référence (A) (Fig.25).

Dans un premier temps, nous avons vérifié qu'aucune colonie ne présentait pas d'écart significatif à l'équilibre de Hardy-Weinberg grâce aux tests de permutation sur le FIS inclus dans le programme GENETIX (Belkhir *et al.* 1996). Le FST entre chacun des gîtes a été mesuré pour obtenir la distance génétique ($FST/1-FST$), que nous avons représenté en fonction du logarithme de la distance euclidienne entre les colonies, afin d'observer l'isolement par la distance chez ces différentes colonies (Rousset 1997). Les colonies de Petit rhinolophe de cette région montre un fort isolement par la distance avec une relation linéaire entre la distance génétique et géographique (Jan 2017), et la rupture de cette relation suggèrerait une barrière au sein de nos jeux de données.

Nous avons ensuite utilisé l'algorithme de Monmonier (Monmonier 2010), afin de voir si les écarts de distance génétique entre colonies voisines suggéraient la présence d'une barrière dans notre jeu de donnée. Nous avons fait tourner cet algorithme avec deux logiciels :

(i) le package *adeget* (Jombart 2008) du programme R v. 3.4.2 (R Core Team), qui nécessite de déterminer le seuil à partir duquel la distance génétique est séparée par une barrière, et pour lequel nous avons assigné le seuil au premier "saut" de distance génétique observé dans nos jeu de données ;

(ii) le logiciel *barrierr* 2.2 (Manni, Guerard & Heyer 2004) pour lequel nous avons supprimé un point virtuel dans chaque jeu de donnée afin d'obtenir la même triangulation que celle donné par le package *adeget*. Ce logiciel permet également de juger de la significativité des barrières obtenues en effectuant un bootstrap des individus dans chaque population. Nous avons ainsi effectué 100 bootstraps, et considéré qu'une barrière était significative lorsque elle

était retrouvée par l'algorithme dans plus de la moitié des bootstraps (c-a-d, > 50) (Bagnoli *et al.* 2009; Haynes *et al.* 2009; Fernández-Mazuecos & Vargas 2015).

Nous avons ensuite réalisé une analyse en composante principale discriminante [ACPD, (Jombart, Devillard & Balloux 2010)] qui décrit la diversité génétique de l'ensemble des individus en les projetant sur différents axes afin d'étudier la différenciation des différentes populations. Cette analyse permet également d'associer tous les individus à la population auxquels ils sont le plus proche d'un point de vue génétique, même si celle-ci diffère de celle où ils ont été échantillonnés. Cette analyse a encore une fois été effectuée à l'aide du package R *adeigenet* (Jombart 2008; Jombart & Ahmed 2011).

Nous nous sommes ensuite intéressés à la proportion d'individus se trouvant assignés à une population se trouvant du même côté de la route que celle où ils ont été échantillonnés. Ceci, nous permettant de voir si la route a bien un effet les populations où les individus sont assignés, Nous avons ensuite recalculé cette proportion en simulant toutes les autres barrières possibles qui sépareraient des clusters de colonies de manière équivalentes à la nationale (c-a-d, neuf barrières séparant des clusters de deux et trois colonies dans le premier jeu de données, et 34 barrières séparant des clusters de quatre et trois colonies dans le second jeu de données) et nous avons comparé ces proportions simulées à la proportion observée.

2.6. Assignment de parenté

Afin de déterminer les relations de parenté au sein de nos jeux de données, nous avons utilisé le logiciel COLONY v. 2.0.6.4 (Jones & Wang 2010) sur les mêmes jeux de données que dans le paragraphe précédent en considérant l'ensemble des individus comme juvéniles et comme parents potentiels. Nous avons fait tourner 15 fois l'assignation de parenté et pris en compte

tous les couples parents-enfants détectés dans au moins 30% des répliques (Brazier et. al *in prep*). Nous nous sommes ensuite intéressés à la proportion de couple parents-enfants se trouvant du même côté de la route dans l'ensemble du jeu de données, et nous avons appliqué la même simulation que pour l'assignation aux populations pour déterminer si la présence de la nationale pouvait causer une scission dans l'apparement.

3. Résultats

3.1. Extraction et génotypage

Toutes les crottes prélevées n'ont pas fait l'objet d'extraction et de génotypage. Le nombre de crottes analysé est fixé à deux fois la taille des colonies, estimée par le comptage des adultes et juvéniles lors de l'échantillonnage. Sur les 1 282 échantillons obtenus, 93 % des échantillons sont correctement génotypés à au moins sept locus, et 87 % sont correctement génotypés sur l'ensemble des marqueurs. Le taux d'élimination d'allèle (*allelic dropout*, ADO) est égal à 4 % et le taux de faux allèles (*false allele*, FA) est de 1 %, résultant en une qualité d'index (*quality index*, QI) de 90 %, qui est encore meilleure que la qualité de génotypage obtenue précédemment avec ces marqueurs (Jan 2017; Zarzoso-Lacoste *et al.* 2018). Nous avons ainsi obtenu 345 génotypes différents, que nous considérons donc comme des individus différents. Parmi ces 345 génotypes (bien génotypées à moins sept locus), nous avons retrouvé 88 mâles et 257 femelles [3,44 échantillons par individus en moyenne ; SD=5,84 ; SE=0,31 ; min=1 (45% des individus n'ont été échantillonné qu'une fois) ; max = 87].

3.2. Mouvement des individus

Peu de déplacements ont été observé. En effet, ce sont cinq individus, toutes femelles, qui ont été échantillonné dans deux colonies différentes pendant la période d'échantillonnage. Tous ces individus ont été échantillonnés dans les colonies O_1788 et M_1975, qui sont toutes

deux d'un même côté de la route. Trois de ces femelles ont été échantillonnées en O_1788 en 2016, puis M_1975 en 2017. Les deux autres ont été vues dans ces deux colonies en 2017, et l'une de ces deux dernières avait déjà été échantillonnée en M_1975 en 2016. Aucun déplacement n'a été observé entre des colonies séparées par la route.

3.3. Structuration génétique et assignation de populations

3.3.1. Jeu de données à cinq colonies

Le jeu de données composé de cinq colonies (femelles bien génotypées à neuf locus de 2016 et 2017, n=205), montre des populations très structurées, avec des FST tous significatifs allant de 0.019 à 0.058 et des FIS non significatifs. L'isolement par la distance ne suggère pas une relation linéaire mais montre plutôt une structuration beaucoup plus forte concernant les colonies séparées par la route (Fig. 27).

Les résultats de l'algorithme de Monmonier (Fig. 28), montre une barrière qui suit le tracé de la route nationale, et ce pour les deux méthodes utilisées. Les points noirs représentent les colonies (les colonies voisines étant reliées par des traits noirs) et le trait bleu représente la barrière.

Les résultats de l'ACPD montrent une différenciation des colonies selon l'axe des abscisses qui correspond aux colonies de chaque côté de la nationale, avec quelques individus qui sont génétiquement plus proches des populations se trouvant de l'autre côté de la nationale que des populations où ils ont été échantillonnés (Fig. 30).

L'analyse par bootstrap confirme que toutes les colonies voisines séparées par la route nationale sont séparées par des barrières significatives (> 50) (Fig. 29).

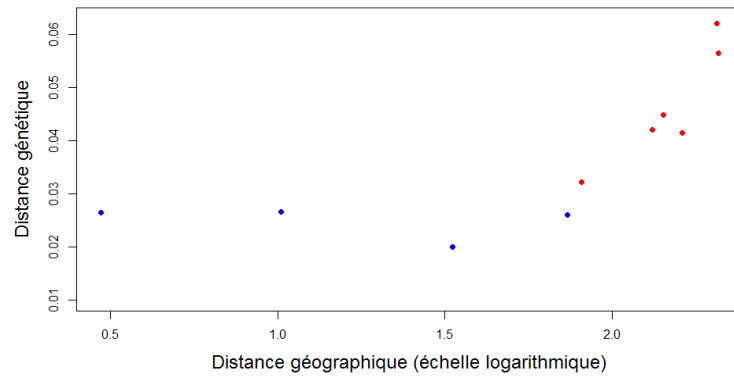


Figure 27: Isolement par la distance des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Chaque point représente la distance génétique et géographique d'une paire de colonies. Les paires de colonies se trouvant du même côté de la route sont représentées en bleu, et les paires de colonies séparées par la nationale sont représentées en rouge

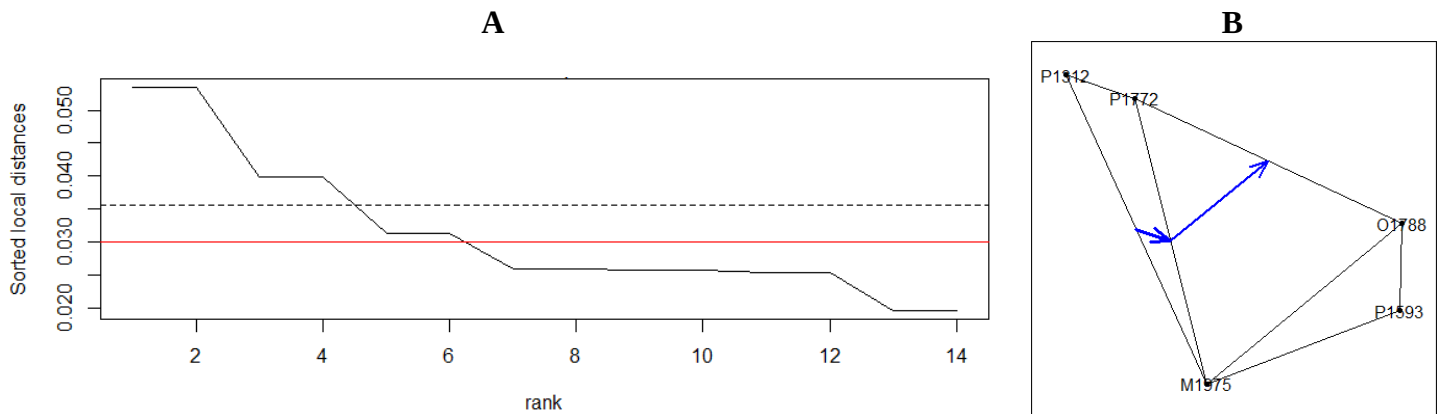


Figure 28: Algorithme de Monmonier sous adegenet des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. A : Distance génétique et seuil choisi. B: Emplacement relatif des cinq colonies et de la barrière déterminée par l'algorithme (en bleu). Les lignes noires représentent les lien entre les colonies considérées comme voisines

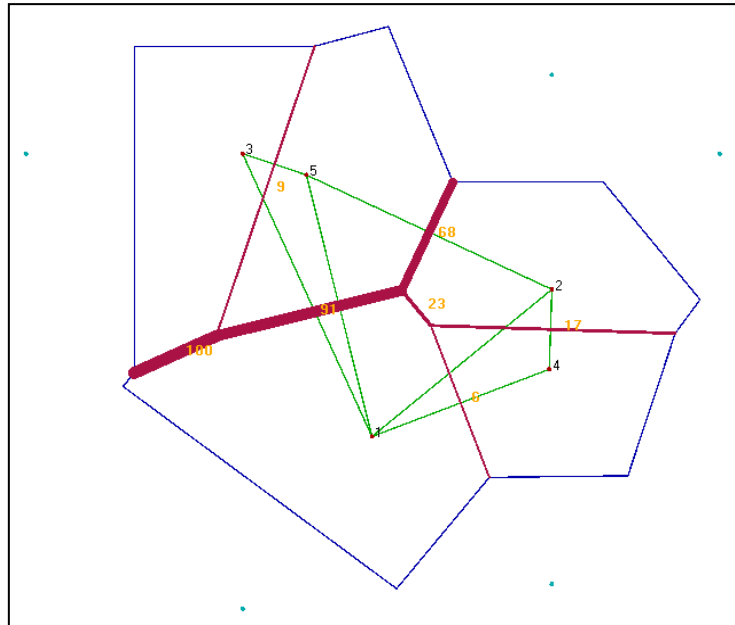


Figure 29 : Algorithme de Monmonier sous barrier 2.2 des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Les lignes vertes représentent les liens entre les colonies considérées comme voisines (voir figure 26 pour la correspondance entre les numéros et les noms des colonies). Les lignes rouges représentent les séparations considérées comme des barrières potentielles par l'algorithme, et leurs épaisseurs dépend du nombre de bootstrap considérant cette séparation comme une barrière. Le nombre de bootstrap considérant une séparation comme une barrière est représenté en orange

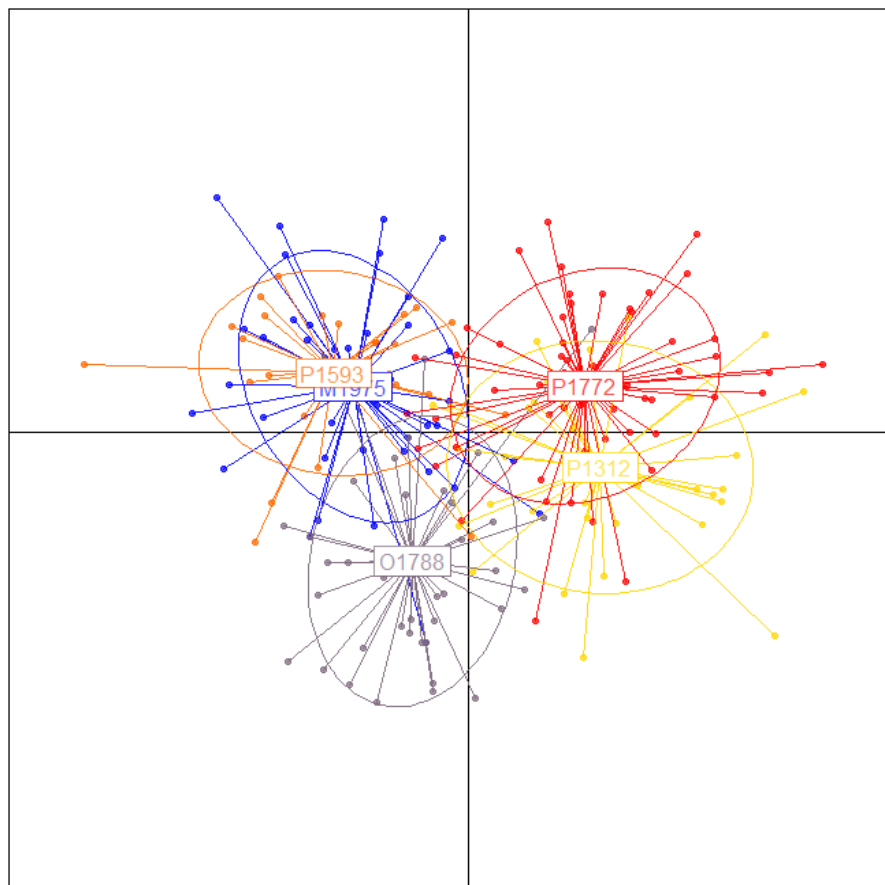


Figure 30 : ACPD des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. L'axe des abscisses discrimine les colonies se trouvant de chaque côté de la route

Les résultats de l'assignation de population sont présentés dans la figure 31. Ce sont 83 % des individus assignés à une population qui se trouvent du même côté de la route où ils ont été échantillonnés. Aucune autre séparation possible dans notre jeu de données ne permet d'atteindre cette valeur, avec une proportion moyenne de 0.69 ± 0.05 pour les neuf séparations simulées.

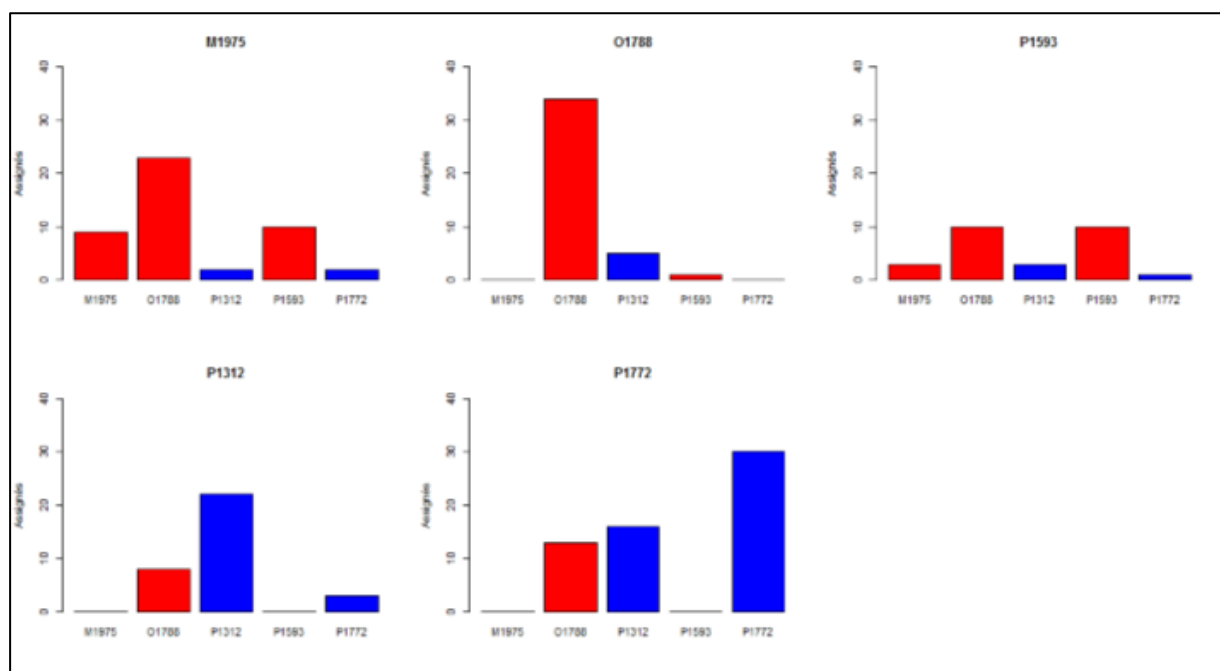


Figure 31 : Populations assignées par l'ACPD pour chaque individu des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situées au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord.

Un brassage fort impliquerait que toutes les populations assignées serait présentes de manière équivalente dans chaque population échantillonnées, alors qu'une séparation totale le long de la nationale impliquerait que seule les populations rouges serait représentés dans les trois premières populations, et que seule les individus échantillonnés dans les deux dernières populations serait uniquement assignés dans des populations bleues

3.3.2. *Jeu de données à sept colonies*

Le jeu de données utilisant sept colonies (femelles bien génotypées sur tous les locus de 2016, $n=183$), présente des résultats très similaires concernant la structuration génétique : populations très structurées avec des F_{ST} significatifs allant de 0.020 à 0.077 et des F_{IS} non significatifs. L'isolement par la distance montre également que les colonies séparées par la route ont tendance à montrer une distance génétique plus grande que les colonies se trouvant à une distance équivalente mais du même côté de la nationale (Fig. 32).

Les barrières déterminées par l'algorithme de Monmonier suivent toujours le tracé de la nationale (Fig. 33), et restent les seules à être significatives selon l'analyse par bootstrap (> 50), et ce même si les valeurs de bootstrap ont diminué par rapport au premier jeu de données (Fig. 34).

Les résultats de l'ACPD montrent une différenciation des sept colonies le long de l'axe des abscisses qui correspond aux colonies de chaque côté de la nationale (Fig. 35).

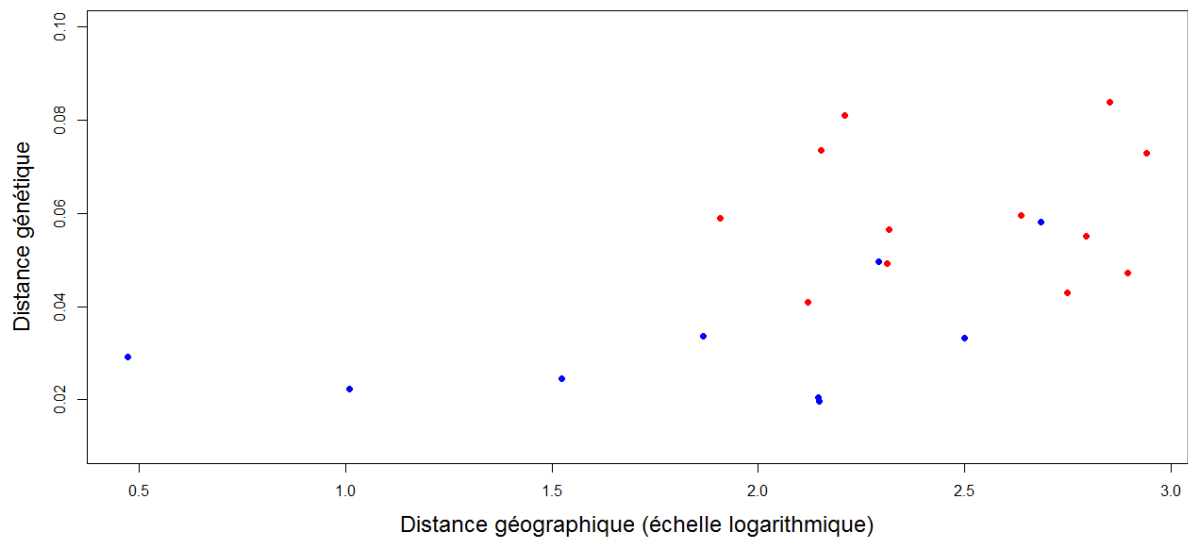


Figure 32 : Isolement par la distance des sept colonies échantillonnées en 2016. Chaque point représente la distance génétique et géographique d'une paire de colonies ; Les paires de colonies se trouvant du même coté de la route sont représentées en bleu, et les paires de colonies séparées par la nationale sont représentées en rouge

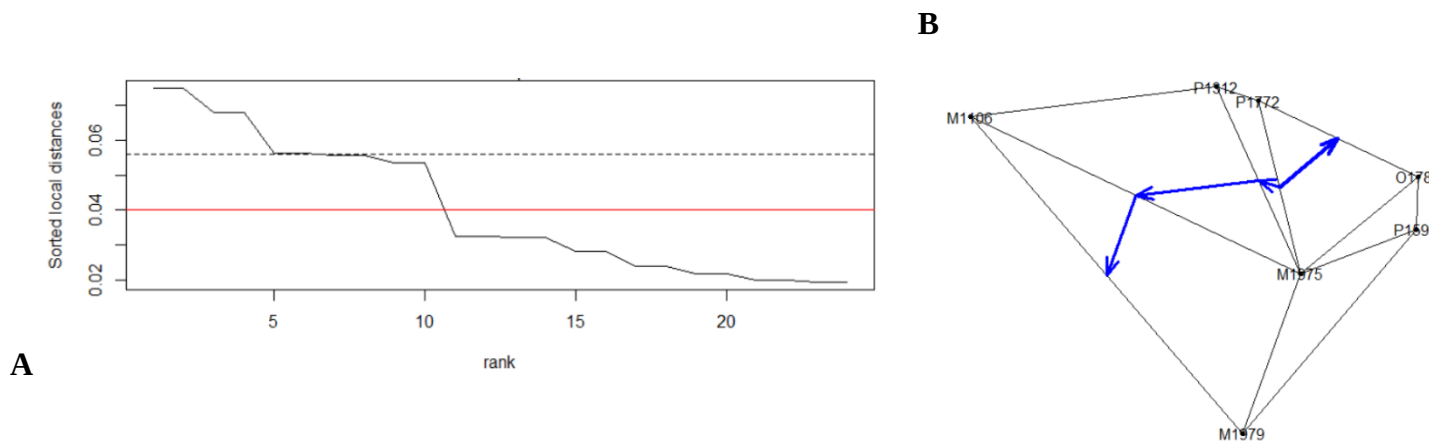


Figure 33 : Algorithme de Monmonier sous adegenet des sept colonies échantillonnées en 2016. A : Distance génétique et seuil choisi. B: Emplacement relatif des cinq colonies et de la barrière déterminée par l'algorithme (en bleu). Les lignes noires représentent les lien entre les colonies considérées comme voisines

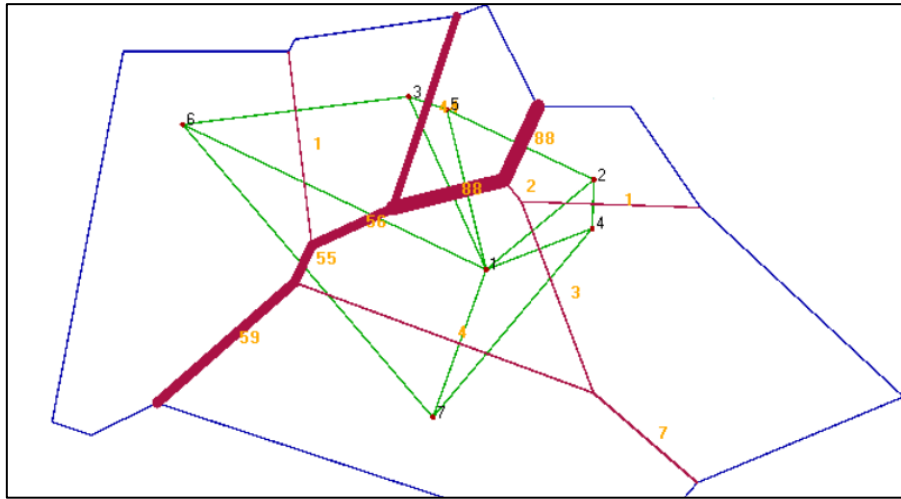


Figure 34 : Algorithme de Monmonier sous barrier 2.2 des sept colonies échantillonnées en 2016. Les lignes vertes représentent les liens entre les colonies considérées comme voisines (voir figure 26 pour la correspondance entre les numéros et les noms des colonies). Les lignes rouges représentent les séparations considérées comme des barrières potentielles par l'algorithme, et leur épaisseur dépend du nombre de bootstraps considérant cette séparation comme une barrière. Le nombre de bootstrap considérant une séparation comme une barrière est représenté en orange

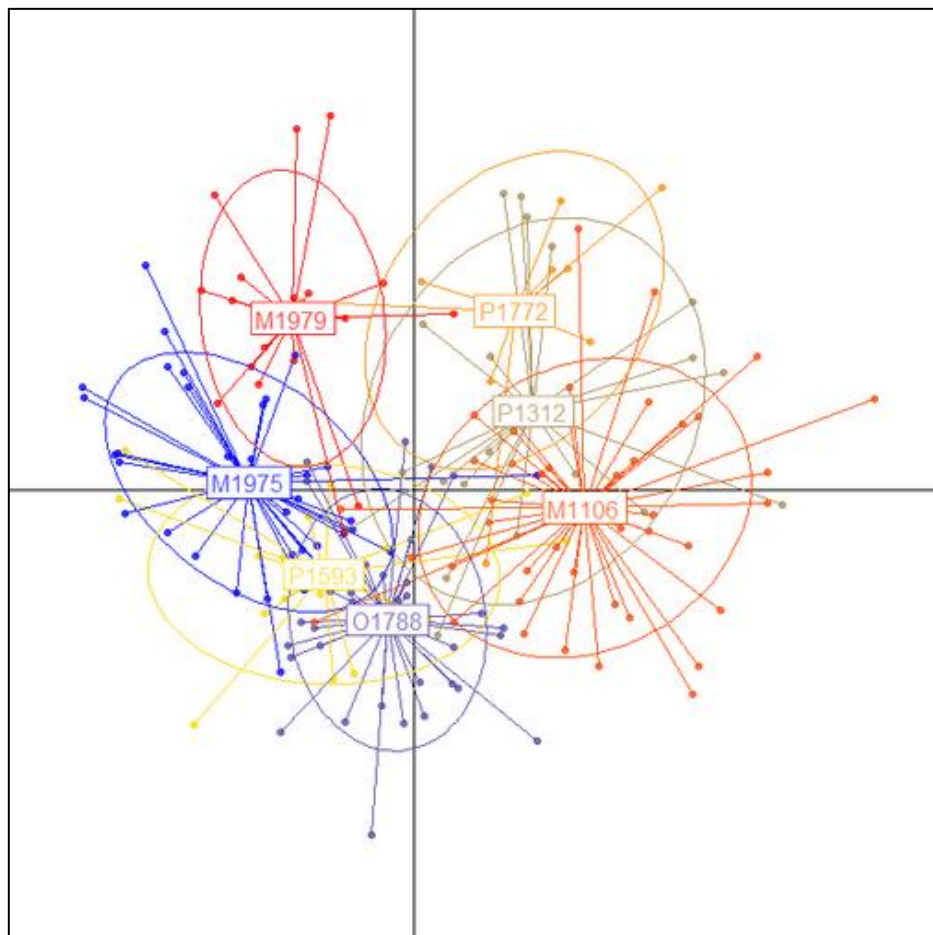


Figure 35 : ACPD des sept colonies échantillonnées en 2016. L'axe des abscisses discrimine les colonies se trouvant de chaque côté de la route

L'assignation aux populations implique que 79 % des femelles assignées ont été échantillonnées du même côté de la nationale (Fig. 36). Encore une fois, aucune autre séparation possible dans notre jeu de données n'a atteint cette valeur, avec une proportion moyenne de 0.68 ± 0.05 pour les 34 séparations simulées.

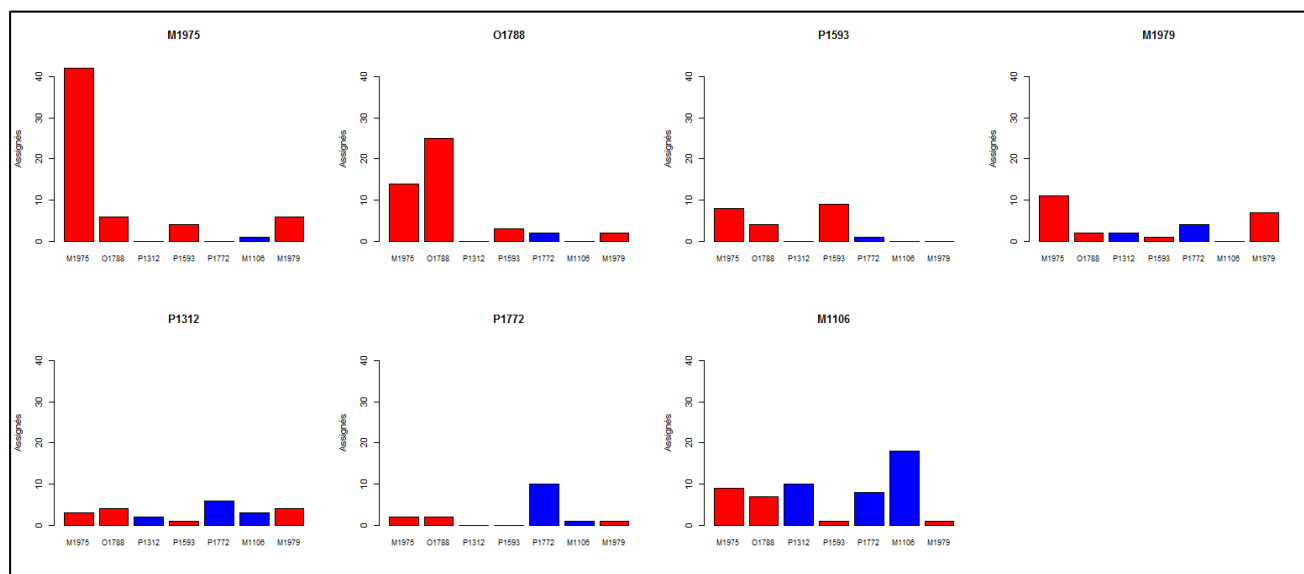


Figure 36 : Populations assignées par l'ACPD pour chaque individu des sept colonies échantillonnées en 2016. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situées au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord

3.4. Assignation de parenté

Sur les 345 individus du jeu de données constitué des cinq colonies échantillonnées en 2016 et 2017 (88 mâles, 257 femelles), aucun des mâles n'a été considéré comme père sur plus de 30 % des répliques. 97 individus (28 %) ont été assignés à 36 mères différentes (Fig. 37, page suivante). 84 de ces individus (87 %) se trouvent du même côté de la nationale que la mère auquel ils ont été assignés. Aucune autre séparation simulée n'a atteint cette valeur, avec une proportion moyenne de 0.76 ± 0.07 pour les neuf séparations simulées.

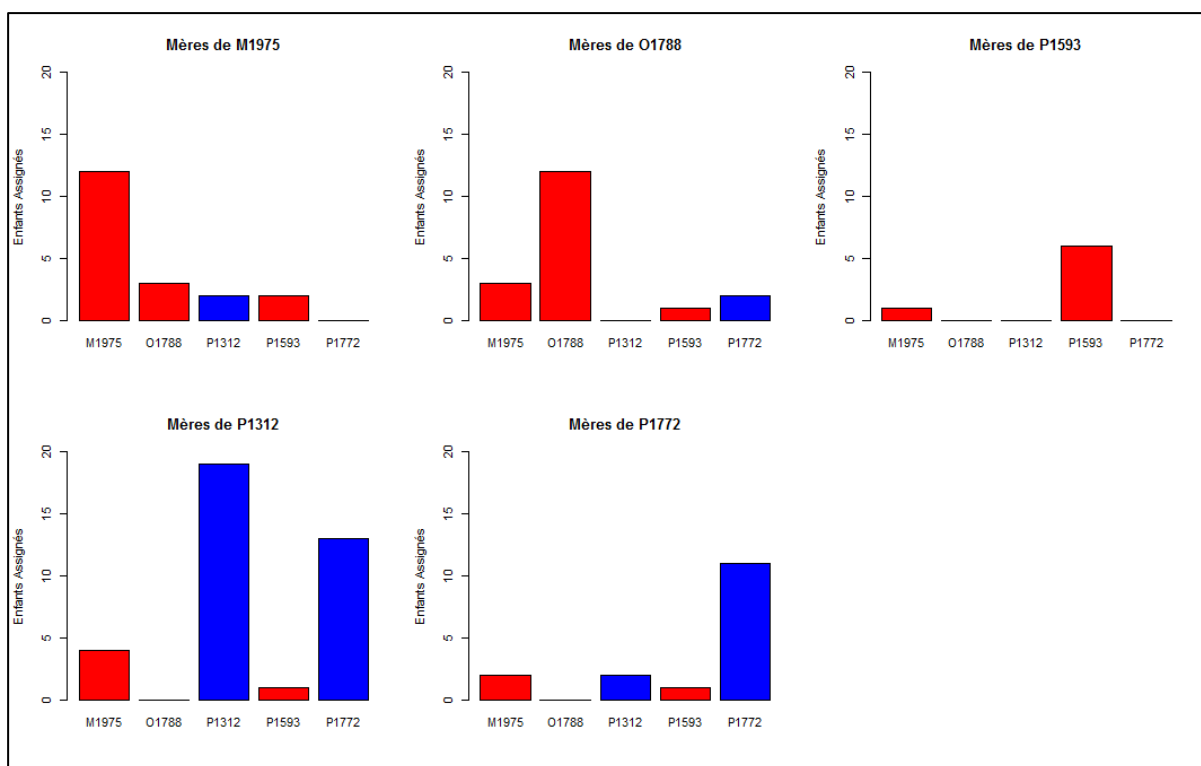


Figure 37 : Localisation des enfants assignés aux mères des différentes populations échantillonnées pour les 5 colonies échantillonnées en 2016 et 2017. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situés au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord

Les données issues des sept colonies échantillonnées en 2016 (73 mâles, 223 femelles) n'ont pas permis d'assigner un seul père non plus. Ce sont 74 individus qui ont été assignés à 28 mères différentes dont 86% qui se trouvent du même coté de la nationale que leur mère. Aucune autre séparation simulée n'a atteint cette valeur, avec une proportion moyenne de 0.74 ± 0.05 pour les 34 séparations simulées.

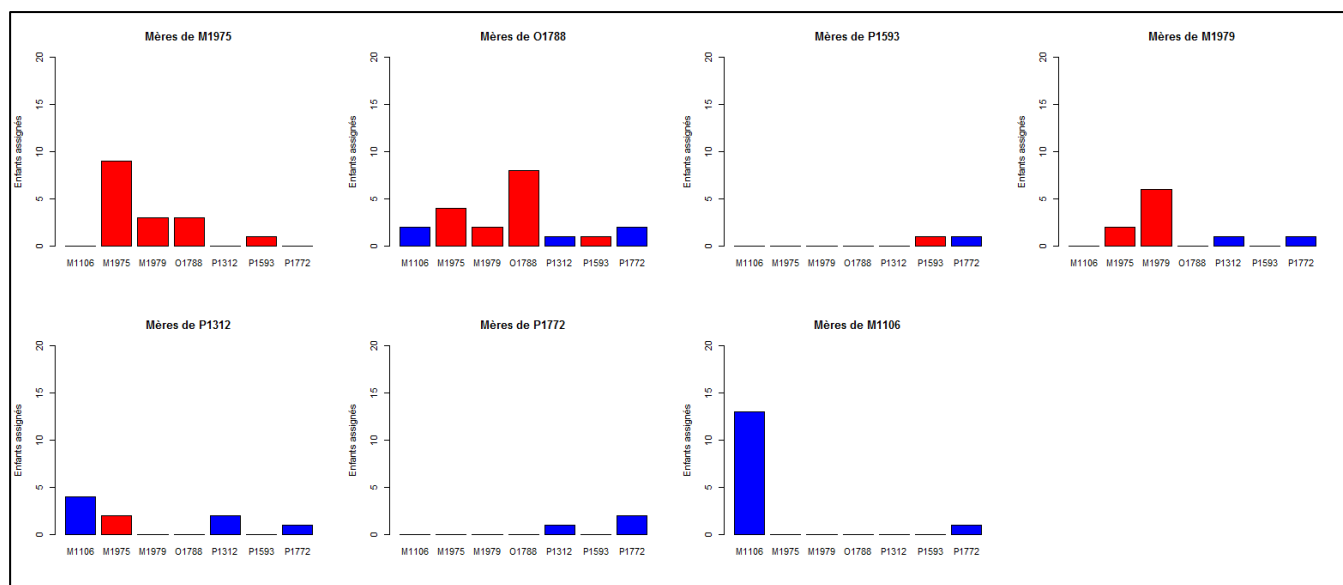


Figure 38 : Localisation des enfants assignés aux mères des différentes populations échantillonnées pour les 7 colonies échantillonnées en 2016. Chaque diagramme en barre correspond à une population échantillonnée différente, avec les populations du sud de la nationale représentées sur la première ligne, suivies par les populations situées au nord. Les populations représentées en rouge se trouvent au sud de la nationale, alors que celles en bleu se situent au nord

4. Discussion

Nos résultats montrent que les colonies de Petit rhinolophe sont des colonies très structurées comme il a déjà été démontré dans une précédente étude dans la même région (Jan 2017). Par ailleurs, très peu de mouvements d'individus ont pu être détectés de 2016 à 2017, seulement cinq et d'un même côté de la route.

L'échantillonnage génétique non-invasif nous a permis d'évaluer la présence d'une barrière à la dispersion et au flux de gènes dans nos jeux de données. L'ensemble de ces résultats atteste de la présence d'une barrière et suggèrent que la nationale N2 pourrait être à l'origine de cette barrière. Toutefois, étant donné que ces analyses ont été réalisées sur un réplica, il est difficile d'affirmer clairement que la barrière détectée correspond à la N2. En effet, nous ne pouvons exclure l'hypothèse d'un phénomène local qui se déroulerait au sein de la forêt de Compiègne. Et bien que toutes les colonies semblent être connectées par le même *continuum* forestier favorable pour les activités de transit et de chasse du Petit rhinolophe, il sera nécessaire de réaliser ces analyses sur de nombreux réplicas pour pouvoir affirmer qu'il existe un effet barrière causé par la route. Ces réplicas permettraient de confirmer ou d'infirmer que les routes provoquent un effet barrière entre les colonies de Petits rhinolophes, et permettraient également d'étudier l'impact de celles-ci sur la diversité génétique et le déficit en hétérozygote au sein de ces colonies (Forman & Alexander 1998; Holderegger & Di Giulio 2010).

De plus, bien que notre méthode ne permette pas l'échantillonnage exhaustif des colonies, car l'ensemble des individus ne sont pas échantillonnés ou correctement génotypés, nos résultats montrent qu'il est possible de détecter des effets locaux (c-a-d, à 5 km) à condition d'avoir un plan d'échantillonnage adapté.

Concernant les mouvements d'individus détectés entre O_1788 et M_1975, situés du même côté de la nationale, il est difficile de présumer que tous ces mouvements sont uniquement liés à la dispersion des individus. En effet, nous avons trouvé une baisse des effectifs notable dans O_1788. De 2016 à 2017, cette colonie est passée de 79 individus comptés à 10 max en 2017. Nous excluons l'hypothèse d'une forte mortalité car cette colonie est connue pour être instable (Dutour, *com pers*). En effet, les combles de l'abbaye peuvent être parfois trop fraîches l'été amenant les individus à se reporter vers d'autres combles plus chaudes de l'abbaye (mais inaccessibles). Mais il est également possible que cette colonie se soit reportée ailleurs de l'abbaye. Si tel est le cas, nos résultats suggèrent que ces mouvements ce soit fait du même côté de la route. Par ailleurs, les mouvements d'individus détectés ne se sont pas réalisés vers la colonie la plus proche de l'abbaye.

La structure génétique des colonies suggère très nettement une divergence génétique entre les colonies situées de chaque côté de la nationale, quel que soit le jeu de données considéré (cinq colonies échantillonnées pendant deux ans ou sept colonies échantillonnées pendant un an). L'algorithme de Monmonier a toujours montré que la séparation correspondant à la nationale présentait une barrière génétique entre les colonies, et ce pour les deux méthodes de construction de l'algorithme testées. De plus, les patrons d'isolement par la distance observés sur nos deux jeux de données suggèrent clairement que les colonies séparées par la route sont plus fortement différenciées que ce que pourrait expliquer la distance géographique seule.

Les résultats d'assignation aux populations et d'assignation de parenté montrent clairement que la démarcation qui correspond au passage de la nationale structure les échanges de gènes entre les populations de manière plus forte que ne le ferait n'importe quelle autre séparation au sein de notre jeu de données. Le faible nombre de colonies dans le premier jeu de données ne

permet de simuler que 10 séparations (incluant celle correspondant à la nationale), et la forte structuration observée au niveau de la nationale ne peut donc pas être considérée comme significative en considérant le seuil classique des 5%. En revanche, le jeu de données constitué des sept colonies nous permet de simuler 35 séparations différentes, et pour lesquelles, encore une fois, la séparation correspondant à la nationale est la plus structurante. Nous avons donc bien ici un effet significatif correspondant à la nationale sur la proportion d'individus assignés aux populations et sur la proportion d'individus assignés comme mères de chaque côté de la route ($p=0.03$).

5. Conclusion

Bien qu'il serait nécessaire de confirmer ces résultats avec d'autres sites pour réellement prouver la barrière par la route, il n'en reste pas moins qu'une barrière génétique est présente. Nous savons que le Petit rhinolophe est sensible à la fragmentation, dépend des continuités écologiques et son activité est négativement impactée par les autoroutes (article 3). Ainsi, des actions de rétablissement des connectivités doivent être mises en œuvre.

CHAPITRE 3 : EVALUATION DES MESURES DE REDUCTION

Deux manuscrits :

Claireau F, Bas Y, Puechmaille SJ, Julien JF, Allegrini B & Kerbiriou C. 2018. Bat overpasses: an insufficient solution to restore habitat connectivity across roads. *Journal of Applied Ecology*. DOI: [10.1111/1365-2664.13288](https://doi.org/10.1111/1365-2664.13288)

Claireau F, Bas Y, Puechmaille SJ, Julien JF, Machon N, Allegrini B, Kerbiriou C. minor revision. Bat overpasses as an alternative solution to restore habitat connectivity in the context of road requalification. *Ecological Engineering*.

Une synthèse :

De Almeida Braga C, Charton F, **Claireau F**, Kerbiriou C, Julien JF, Allegrini B & Bas Y. Développement d'un outil de trajectographie des chauves-souris à partir d'images thermiques : *le Bat Tracking Toolbox*

1. CONTEXTE

A travers le chapitre précédent (article 3 et synthèse 1), il a été mis en évidence un impact notable des autoroutes sur l'activité des chauves-souris et très probablement sur leur structuration génétique. Il est donc impératif de prendre en compte ces résultats dans les futures études réglementaires. Mais comment faire pour les autoroutes existantes pour lesquelles les impacts n'ont jamais été pris en compte ? Quelles solutions restent-t-il ? Qui peut agir et à quel niveau ? (Fig. 39, page suivante).

Nous avons vu en introduction qu'il est possible de réduire les impacts des routes sur les chauves-souris en agissant localement (au niveau de l'autoroute). L'action ici ne peut que passer par les concessions autoroutières ou de l'Etat et des directions interdépartementales des routes (DIR) pour les autoroutes non concédées et routes nationales. Et bien que des solutions au niveau local ne manquent pas pour améliorer la transparence écologique des autoroutes face à l'urgence (passages sous-routiers, détournement, etc) il est impératif d'évaluer correctement ces mesures afin de mesurer leur efficacité réelle pour atteindre une non perte nette de biodiversité (c.-à-d., sans impacts résiduels), c'est-à-dire par des plans d'échantillonnage tels que des before/after - control/impact (BACI). Sauf qu'à ce jour, les méthodes d'évaluation sont bien souvent inadaptées par manque moyens, de retour d'expériences scientifiques ou tout simplement par manque de volonté...

Alors, mes principaux objectifs durant la thèse étaient doubles (Fig. 39, page suivante) :

- est-il possible de rétablir la connectivité des habitats par des mesures de réduction ?
- comment standardiser une méthode d'évaluation de ces mesures de réduction ?

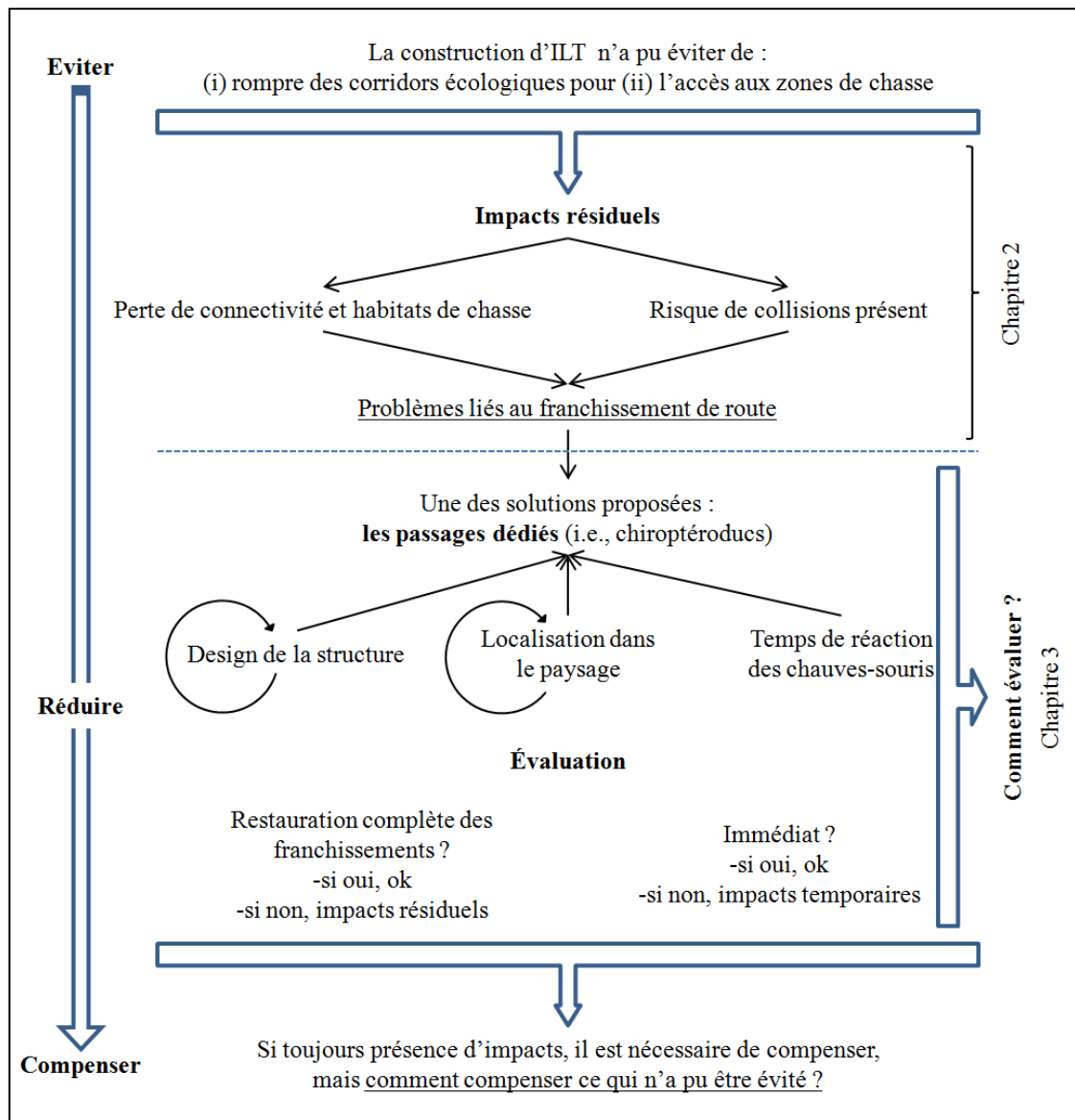


Figure 39 : Relations entre mesures ERC et impacts sur les chauves-souris (c.-à-d., phase de réduction des impacts et de leur évaluation)

Pour répondre au premier objectif, je me suis d'abord intéressé à standardiser une méthode d'évaluation de ces mesures (article 4 et synthèse 2). Par ailleurs, c'est à travers une mesure de réduction : les chiroptéroducts (c.-à-d., passages supérieurs dédiés aux chauves-souris, *bat overpass*) que je me suis concentré sur ces deux objectifs (articles 4 et 5 et synthèse 2).

Ce type de structure tend à se développer en Europe depuis quelques années car il est moins coûteux, il nécessite une faible emprise foncière d'installation et par le fait (i) qu'il permettrait un plus grand nombre de franchissements de chauves-souris au-dessus de la route et (ii)

éviterait les risques de collision [c.-à-d., à plus de 5 m de hauteur (Berthinussen & Altringham 2012b)]. Mais à ce jour, une seule publication scientifique existe et a conclu en son inefficacité (Berthinussen & Altringham 2012b). Toutefois, les auteurs concluent également en la nécessité de mener des études complémentaires et adaptées, notamment à travers un Before-After Control-Impact (BACI). En effet, la nécessité d'avoir des méthodes d'évaluation pré et post construction est plus que nécessaire si l'on souhaite connaître la réelle efficacité d'une mesure "ERC" (Møller *et al.* 2016).

Afin de répondre à l'évaluation de l'efficacité de ces ouvrages (mesure "R") (Fig. 39), j'ai alors développé deux outils de trajectographie : l'un en acoustique (article 4) et l'autre par caméra thermique (Synthèse 2) à travers deux expérimentations scientifiques.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Évaluation des mesures de réduction pour une meilleure transparence écologique

Actuellement, pour les projets de construction de routes, l'évaluation de la fréquentation des chauves-souris post et pré-construction est basée sur un indice d'activité recueilli grâce aux écoutes passives (PAM). Ces indices d'activité ne peuvent pas présumer d'une quantification précise du nombre de traversées de chauves-souris au niveau d'un couloir de déplacement préservé (avant construction) ou au dessus d'une route lorsque les corridors sont rompus. Ainsi, l'utilisation actuelle des indices d'activités pour évaluer l'efficacité des mesures de réduction est inadaptée. Par ailleurs, les mesures "ERC" doivent intervenir le plus tôt possible dans la phase d'aménagement pour réduire en amont les impacts d'un projet. Mais comment présumer de mettre en place des mesures de réduction efficaces si aucun retour n'existe ?

Dans un premier temps, nous avons étudié trois chiroptéroducts parmi les cinq existant en France métropolitaine (article 4). Pour cette étude, nous n'avons pas d'état initial

suffisamment robuste pour connaître l'efficacité des chiroptéroducts à faire passer plus de chauves-souris et à hauteur correcte (c.-à-d., pouvoir réaliser un BACI). En revanche, nous nous sommes attachés à développer une méthode de quantification des franchissements de chauves-souris (point ci-après) pour voir : (i) si les chauves-souris sont capables d'utiliser les chiroptéroducts, (ii) si les franchissements au niveau de cette structure sont de même importance que des franchissements réalisés dans le même type de milieu mais sans structure, (iii) si les franchissements au niveau de cette structure sont plus importants que des franchissements réalisés dans un couloir de déplacement préalablement identifié lors d'évaluation environnementale du projet routier et (iv) si l'utilisation de ces structures est dépendante de leur positionnement dans le paysage et/ou de leurs caractéristiques.

Ensuite, nous avons appliqué notre méthode de quantification de traversées sur un site expérimental (article 5). Expérimental, car cette étude est indépendante de toutes contraintes réglementaires. Nous avons suivi le site un an avant l'installation de l'ouvrage et un an après son installation. Les franchissements de route par les chauves-souris ont été évalués grâce à un contrôle/témoin échantillonné en même temps que le traitement (i.e, position de l'ouvrage dédié). Ainsi, nous avons mis en place un plan d'échantillonnage de type BACI (article 5).

2.2. Développement d'un outil de trajectographie acoustique permettant de quantifier des traversées de route par les chauves-souris

Pour quantifier les franchissements de chauves-souris, nous avons utilisé une approche AFPR (*Acoustic Flight Path Reconstruction*) à partir de deux enregistreurs acoustiques disposés de part et d'autre de l'autoroute enregistrant en stéréo. Nous avons utilisé deux microphones par enregistreur espacés d'environ 3,5 m sur des pistes à deux canaux. Le microphone sur le canal gauche (ou canal "0") est toujours placé face à la route tandis que le deuxième microphone sur

le canal droit (ou canal "1") est perpendiculaire à la route faisant face à l'habitat (ex. : terres agricoles, haies, forêts) (Fig. 40 A). Cette approche nous permet de construire une trajectoire et d'estimer la position de la chauve-souris sur un plan.

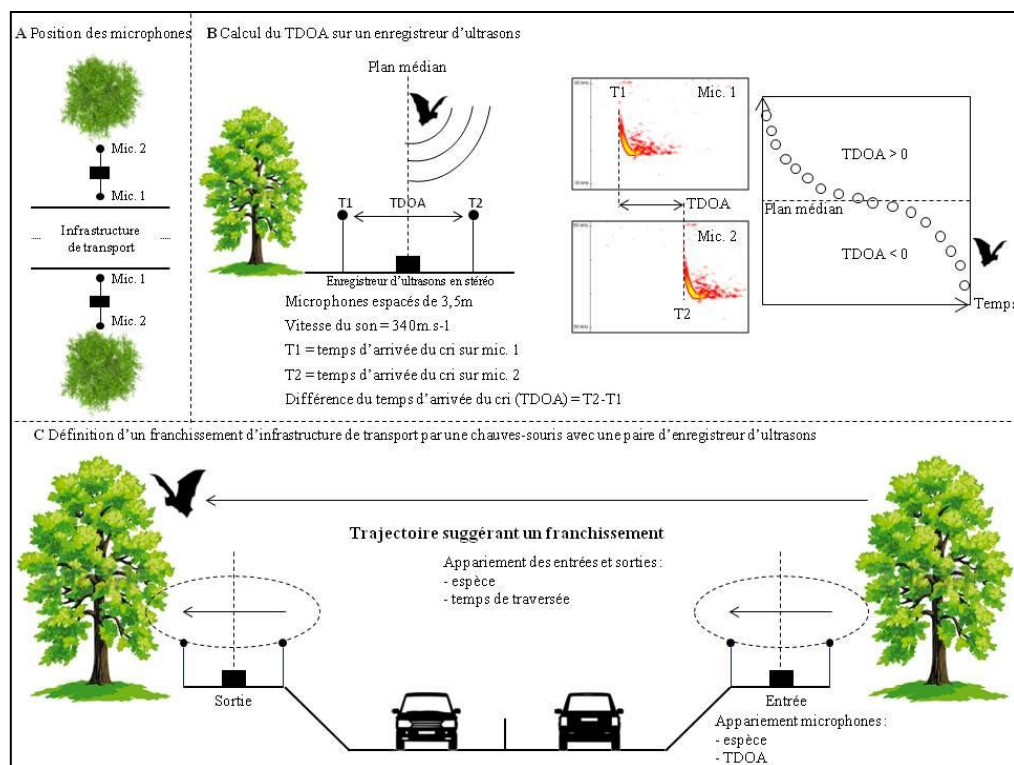


Figure 40 : A. Position des microphones : le canal gauche (micro 1) face à l'infrastructure de transport (ILT) et le canal droit (micro 2) face à habitat et perpendiculaire à l'ILT. B. Calcul de la différence du temps d'arrivée du cri (TDOA). C. Nous définissons un franchissement lorsqu'une chauve-souris qui est entrée sur la route d'un côté a été détectée en sortant de l'ILT

Ensuite, pour chaque enregistreur acoustique, nous avons calculé pour chaque cri de chauve-souris la différence de temps d'arrivée sur les deux microphones (*Time Difference Of Arrival*, TDOA), permettant ainsi de détecter si une chauve-souris traverse le plan médian des deux microphones. Lorsque la chauve-souris est du côté gauche du plan médian (Fig. 40 B), le TDOA a une valeur positive, et lorsque la chauve-souris franchit le plan médian, le TDOA a une valeur négative (Fig. 40 B). Lorsqu'une inversion de valeur du TDOA est observée d'un microphone à l'autre, nous supposons que la chauve-souris traverse le plan médian. Selon la conception spatiale de nos microphones (c.-à-d., perpendiculairement à la route), nous

sommes en mesure de déterminer si une chauve-souris venant d'un habitat se dirige vers l'ILT (entrant sur l'ILT) ou si une chauve-souris venant de l'ILT se dirige vers l'habitat (sortant de l'ILT) (Fig. 40 C).

Enfin, comme il est rarement possible d'individualiser les chauves-souris par leur cri de transit et de chasse (Obrist, Boesch & Flückiger 2004), nous avons comparé l'entrée avec la sortie en utilisant deux critères : identité de l'espèce et temps écoulé. Le temps écoulé a été défini en fonction de la distance entre les enregistreurs acoustiques appariés et de la vitesse de vol attendue des chauve-souris (environ $4-15 \text{ m.s}^{-1}$) (Fig. 40 C). Les scripts sont disponibles ici : <https://github.com/FabienClaireau>

2.3. Evaluation des mesures des ouvrages dédiés à surélever la hauteur de vol de chauves-souris

Toujours en nous appuyant sur le site expérimental (article 5), nous avons évalué la capacité de cet ouvrage dédié à faire s'élever la hauteur de vol des chauves-souris. L'évaluation des hauteurs de vols peut être envisagée par plusieurs méthodes telles que l'utilisation d'une antenne de trajectographie acoustique en trois dimension (3D) ou encore l'utilisation de caméras infrarouges ou thermiques. Mais la méthode couramment utilisée par les chiroptérologues est la méthode visuelle plutôt que l'acoustique. En effet, la méthode visuelle est plus intuitive et ne nécessite pas le développement ou achat d'un logiciel en plus du matériel. En revanche, les analyses sont manuelles, chronophage et coûteuse (Duberstein *et al.* 2012; Beyan & Fisher 2013; Matzner, Cullinan & Duberstein 2015; Atanbori *et al.* 2016). Par ailleurs, elles impliquent des biais quant à leur analyse dus notamment à la subjectivité de l'observateur (Magnusson *et al.* 2015; Matzner, Cullinan & Duberstein 2015). S'appuyant sur une étude scientifique, il est considéré que la hauteur suffisante pour prévenir les risques de

collisions est de 5 m (Berthinussen & Altringham 2012b) et il est souvent difficile pour l'observateur d'être certain de la hauteur exacte de vol des chauves-souris. En effet, l'observateur est bien souvent amené à n'utiliser qu'une seule caméra et cela ne permet pas de se rendre compte de la profondeur du champs.

Face à ces contraintes, le développement d'un outil automatisant l'analyse de vidéos pour retrouver les chauves-souris permettraient de réduire le coût et les biais liés aux observateurs (point ci-après). Et bien que les méthodes visuelles soient adaptées, elles n'interviennent souvent également qu'une fois l'ouvrage installé. Ainsi, il est impossible de pouvoir évaluer l'efficacité de l'installation d'un ouvrage dédié pour évaluer les hauteurs de vol. Il est alors nécessaire de faire des suivi de type BACI, c'est-à-dire, une fois la route construite et sans ouvrage sur au moins un an ; puis de réaliser un nouveau suivi après installation de l'ouvrage avec un contrôle.

2.4. Développement d'un outil de trajectographie à partir d'images thermiques - le *Bat Tracking Toolbox* (BTT)

Pour évaluer la hauteur de vol des chauves-souris, nous avons développé un outil permettant de retrouver et retracer les trajectoires de chauves-souris à partir d'images thermiques : le *Bat Tracking Toolbox* (BTT) (synthèse 2). L'outil en sa version actuelle ne permet pas encore d'extraire une valeur de hauteur et aucun résultat n'est proposé à ce jour.

En revanche, le traitement des données obtenues par caméra thermique a été rendu possible puisque l'outil retrouve les chauves-souris, retrace leur trajectoire et exporte ces trajectoires sous une seule image. L'aboutissement du BTT évite de re-visionner l'ensemble des vidéos nécessaires puisque (i) l'œil nu ne détecte pas toutes les chauves-souris sur l'écran et (ii)

l'utilisateur ne peut avoir une parfaite concentration sur l'écran durant la durée du suivi (environ 3-4 h). Le BTT représente donc le meilleur compromis entre coûts et bénéfices.

Deux exemples de trajectoires de chauves-souris sont présentées ci-après (Figs. 41 et 42).

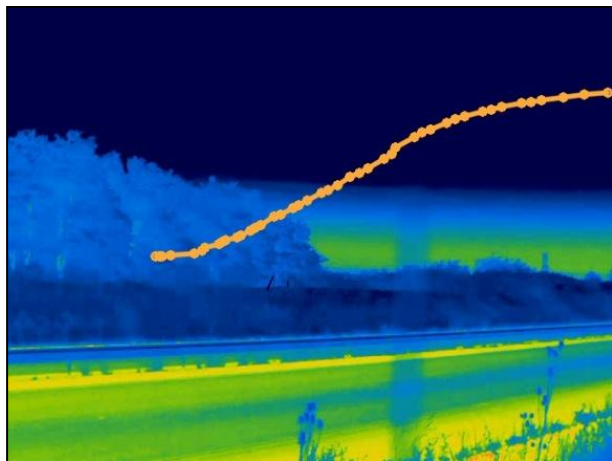


Figure 41 : Trajectoire de chauves-souris (ligne orange) avant la pose du chiroptéroduct

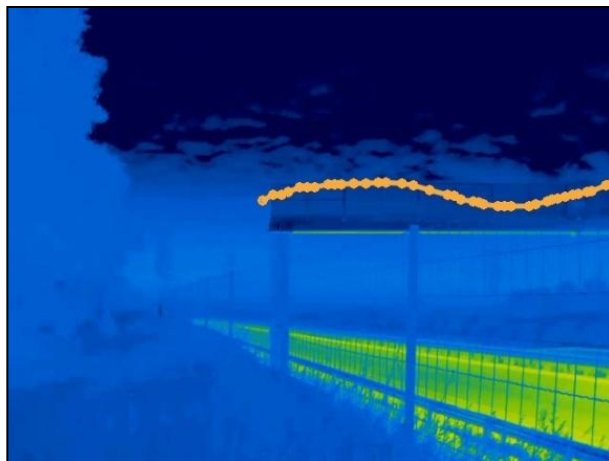


Figure 42 : Trajectoire de chauves-souris (ligne orange) après la pose du chiroptéroduct

3. PRINCIPAUX RESULTATS

3.1 Rétablissement des connectivités

En appliquant notre méthode de quantification de traversées sur des sites existants (article 4) et un site expérimental (article 5), nous trouvons que :

- les chauves-souris peuvent franchir l'autoroute au niveau des ouvrages dédiés (Fig. 43, articles 4 et 5) ;
- les chauves-souris utilisent les ouvrages dédiés lorsque ceux-ci sont correctement placés dans un couloir de déplacement préalablement identifié (Fig. 43, articles 4 et 5) ;
- les ouvrages dédiés, comme mesure de réduction visant à rétablir la connectivité entre habitats, sont insuffisants lorsqu'ils sont placés dans un large couloir de déplacement (ex. : boisement) (Fig. 43, article 4) et meilleurs lorsque le couloir de déplacement est étroit (ex. : haie) sans pour autant présumer d'un rétablissement total puisqu'il n'existe pas d'état initial avant construction de l'autoroute (Tab. 5, article 5).

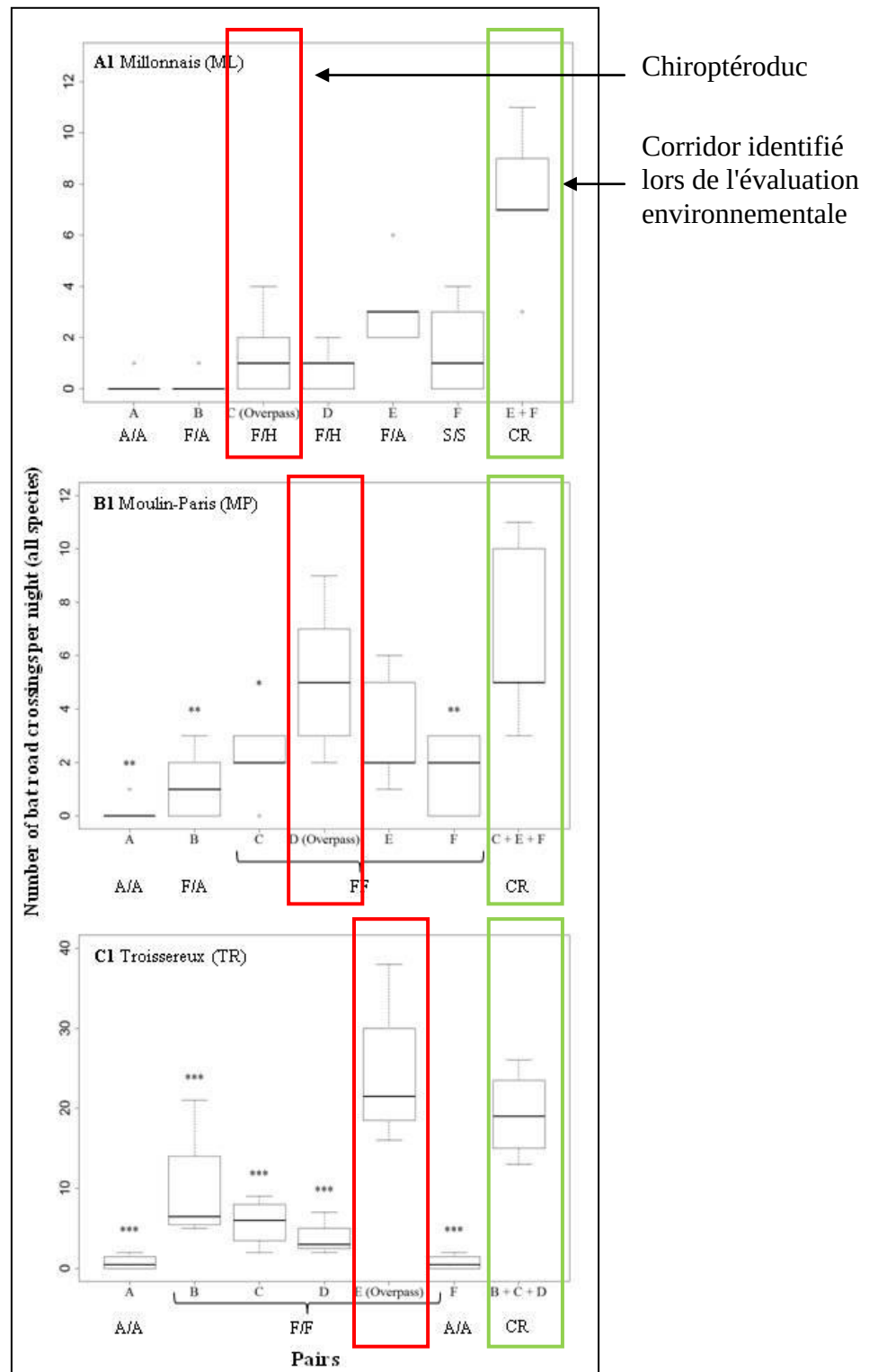


Figure 43 : Nombre de franchissements de chauves-souris par nuit (données brutes) par paires d'enregistreurs acoustiques et par ouvrage dédié. Les types d'habitat (A, terres agricoles, F, forêts, H, haies, S, cours d'eau, CR, corridor) sont spécifiés sous la lettre de chaque paire d'enregistreur. Les franchissements de chauves-souris au niveau de l'ouvrage dédié ont été utilisés comme référence (c-a-d, intercepte) dans chaque modèle (*, $P < 0,001$; **, $P < 0,01$; *, $P < 0,05$)**

**Tableau 5 : Estimation, erreur-standard et p-value du nombre de franchissements de chauves-souris au contrôle et au traitement avant et après pose de l'ouvrage dédié.
Le contrôle et la période après sont dans l'intercepte du modèle.**



	All bats		
	β	SE	p-value
(Intercept)	-0.438	0.310	0.158
PairTreatment	2.994	0.182	<0.001
PairControl:Periodbefore	-0.665	0.479	0.165
PairTreatment:Periodbefore	-1.313	0.378	0.001
AIC full model	535.4		
AIC nul model	569.0		

	All bats		
	Chisq	df	p-value
Pair	346.920	1	< 2.2e-16
Pair:Period	15.264	2	<0.001

4. DISCUSSION ET PERSPECTIVES

4.1 Rétablissement des connectivités

A travers ces travaux de thèse, nous pouvons conclure que la mise en place d'ouvrages dédiés dans le but de rétablir les connectivités doit se limiter à des couloirs de déplacement linéaires de faible largeur tels que les haies. Leur implantation dans des boisements n'a qu'un effet très limité en terme de nombre de franchissements. Des études complémentaires sont à mener dans les milieux boisés afin de trouver des mesures complémentaires afin de rétablir la connectivité des habitats pour les chauves-souris (c.-à-d., rétablir les impacts résiduels).

Néanmoins, quand bien même un chiroptéroduc de type portique de signalisation (accompagné d'une grille au-dessus et des plantations d'arbres de haut-jets) permettrait d'améliorer la transparence écologique des autoroutes, il faut rester très prudent sur leur potentiel déploiement. Pour rappel, l'efficacité de cette mesure de réduction ne peut se juger que par sa capacité à améliorer conséquemment le nombre de chauves-souris et à une bonne hauteur de vol (> 5m). Il est alors indispensable d'attendre les résultats en cours d'analyse concernant les hauteurs de vol. En effet, supposons que ce type d'ouvrage dédié ne permette pas de surélever la hauteur de vol des chauves-souris, que faudrait-il privilégier ?

- un ouvrage dédié qui rétablit la connectivité entre habitats (c-a-d, meilleur accès aux zones de chasse et échanges génétiques), mais qui augmenterait le risque de collision et donc provoquerait des effets néfastes à court et moyen terme sur les populations ?
- ou ne rien faire et maintenir cet effet barrière qui pourrait également avoir des effets néfastes à long terme sur les populations par manque d'échanges génétiques et d'accès à des territoires de chasse ?

Ces deux questions sont à considérer très sérieusement et tant qu'aucun retour d'expériences scientifiques adaptées sur les hauteurs n'existe. Le meilleur choix reste le principe de précaution et donc d'attendre.

4.2. Développement d'un outil de trajectographie acoustique

A travers cette thèse, nous avons pu standardiser l'évaluation des mesures de réduction. En effet, la trajectographie acoustique rendue accessible à destination des acteurs de terrain va grandement améliorer l'évaluation de ces mesures. En effet, la méthode a déjà été reprise pour plusieurs études sur d'autres types de mesures de réduction : (i) l'évaluation des hop-overs installés sur la Ligne à Grande Vitesse (LGV) Tours-Bordeaux, (ii) l'évaluation des nouveaux types de passages à faune appelés écoponts et enfin (iii) l'évaluation de l'impact de l'éclairage artificiel sur le transit des chauves-souris au niveau de ponts et en lisières boisées.

Par ailleurs, la mise à disposition de cet outil va être grandement utile sur d'autres études réglementaires telles que les projets éoliens où les impacts sur les chauves-souris sont notablement négatifs (Millon *et al.* 2015, 2018; Roeleke *et al.* 2016; Minderman *et al.* 2017; Roemer *et al.* 2017; Wellig *et al.* 2018; Barré *et al.* 2018). En effet, grâce à cet outil, l'évaluation du risque de collision éolien par la localisation précise des chauves-souris au niveau des pâles est aussi rendue accessible (Fig. 44, page suivante).

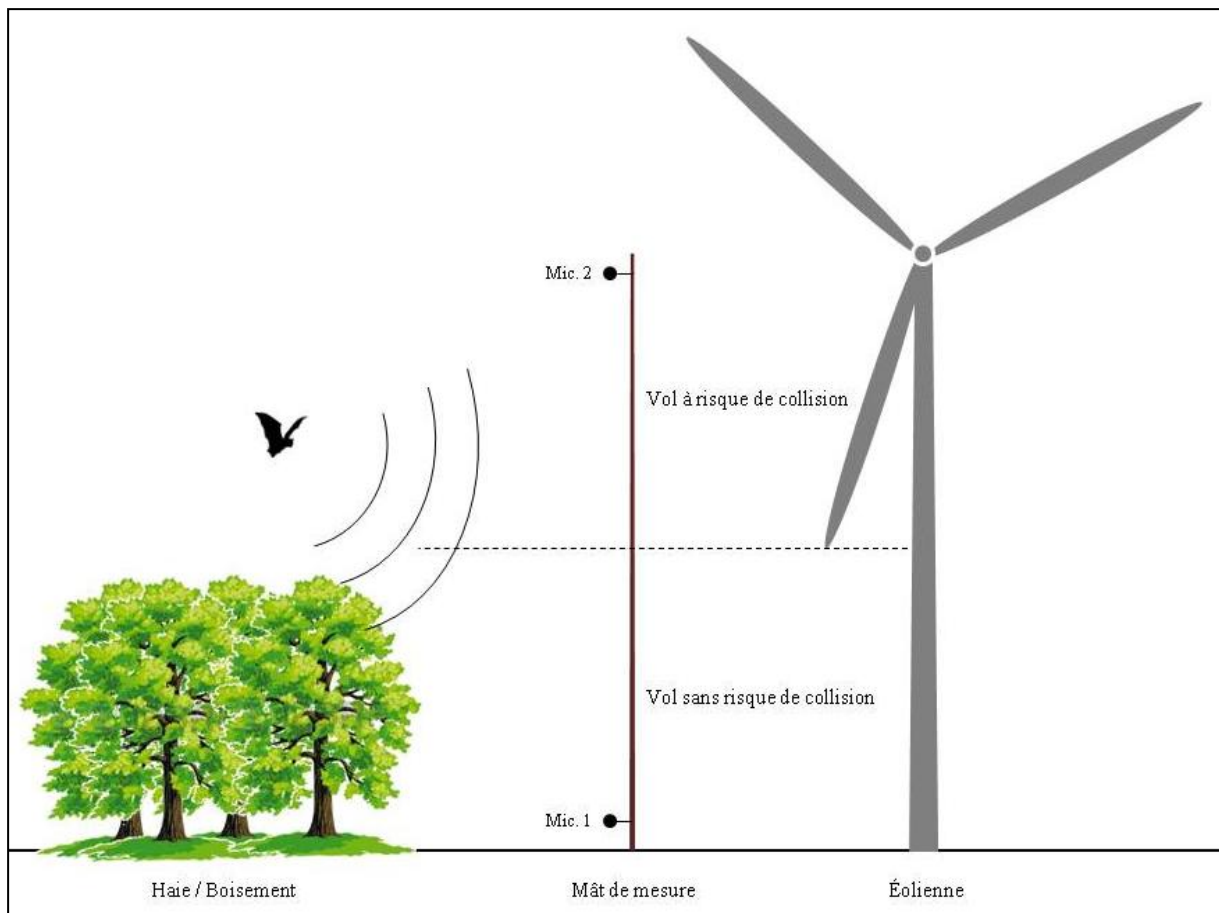


Figure 44 : Exemple d'une chauve-souris volant à risque de collision

4.3. Développement d'un outil de trajectographie à partir d'images thermiques - le BTT

Bien que le BTT ne soit pas arrivé au bout de ses performances, son développement est une grande avancée pour le traitement des vidéos acquises sur le terrain. Par ailleurs, cette méthode est complémentaire au précédent outil. En effet, grâce à la caméra thermique il est possible :

- d'estimer la hauteur de vol ;
- de caractériser le comportement (au-delà des transits, les demi-tours, parfois les deux combinés)
- de caractériser les comportements de vol des espèces difficilement détectables par acoustique tels que les Rhinolophes ;

- de probablement détecter plus d'évènements de traversées de chauves-souris au-dessus d'une route.

Les perspectives pour cet axe de travail sont : (i) d'établir automatiquement les hauteurs de vol de chaque trajectoire de chauves-souris puis (ii) d'analyser ces données.

ARTICLE N°4

RESEARCH ARTICLE

Bat overpasses: An insufficient solution to restore habitat connectivity across roads

Fabien Claireau^{1,2,3}  | Yves Bas^{1,4}  | Sébastien J. Puechmaille^{2,5}  |
Jean-François Julien¹ | Benjamin Allegrini³ | Christian Kerbiriou^{1,6} 

¹Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation (CESCO), Muséum national d'Histoire naturelle, Centre National de la Recherche Scientifique, Sorbonne Université, Paris, France; ²Zoological Institute and Museum, University of Greifswald, Greifswald, Germany; ³Naturalia Environnement, Site Agroparc, Avignon, France; ⁴Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR 5175, CNRS – Université de Montpellier – Université Paul-Valéry Montpellier – EPHE, Montpellier, France; ⁵ISEM, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France and ⁶Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation (CESCO), Muséum national d'Histoire naturelle, Station de Biologie Marine, Concarneau, France

Correspondence

Fabien Claireau

Email: fabien.claireau@gmail.com

Funding information

Naturalia Environnement & Association
Nationale de la Recherche et de la
Technologie, Grant/Award Number:
2015/0893

Handling Editor: Matthew Struebig

Abstract

1. Roads have many negative effects on wildlife, including their role in habitat fragmentation. Habitat fragmentation affects bats during their daily movements between roosts and foraging areas. As bats are protected in Europe, developers must implement specific mitigation measures that are hierarchically structured to achieve a null net impact. However, very few specific mitigation measures have been undertaken specifically for bats. Bat overpasses (e.g. gantries) are among proposed improvements intended to reduce the impact of roads, but they have rarely been tested. The effectiveness of overpasses in facilitating safe road crossing of bats is critical for justifying the implementation of this mitigation measure. We therefore assessed whether bat overpasses are effectively used by bats.
2. We studied three bat overpasses with different designs in France. We developed an innovative method to characterize bat crossings using acoustic flight path reconstruction (AFPR). We used six pairs of stereo acoustic recorders in different habitat types that were located on both sides of the road, and operated simultaneously throughout the night.
3. Recording data contained 57,941 bat passes and 284 bat crossings from six species of bats at the three study sites. Our results suggest that crossings are more numerous if an overpass is located where bat commuting routes have been identified by environmental impact assessment. However, we found that the proportion of bat crossings along the commuting route was the same with or without an overpass; thus highlighting that bat overpasses do not fully restore habitat connectivity.
4. *Synthesis and applications.* Our study demonstrates that acoustic flight path reconstruction (AFPR) is a useful approach to obtain information on bat flight behaviour. We also emphasize the importance of field testing the effectiveness of mitigation measures, such as those intended to offset the impact of roads on

biodiversity, and highlight that such measures should not be implemented based on their theoretical effectiveness alone.

KEYWORDS

Acoustic flight path reconstruction, bats, Chiroptera, collision, crossing structures, habitat connectivity, habitat fragmentation, mitigation measures

1 | INTRODUCTION

Transport has been identified as one of the ten main pressures on biodiversity (Maxwell, Fuller, Brooks, & Watson, 2016) because it contributes to habitat destruction, degradation and fragmentation, barrier effects, light and noise disturbances, chemical pollutions and direct mortality by collision with vehicles (Forman & Alexander, 1998; Trombulak & Frissell, 2000). These dramatic changes in landscape configuration have many consequences, ranging from individual behaviours and population dynamics to the overall functioning of ecosystems (Krauss et al., 2010; Saunders, Hobbs, & Margules, 1991).

At the national scale, the quantification of road network density suggests that populations of some animals, such as large snakes, may decline by 50% or more due to road-associated mortality (Rudolph, Burgdorf, Conner, & Schaefer, 1999). For insectivorous bats, road mortality can increase the risk of local extinction because these animals have low fecundity, late maturation and a population that depends on adult survival (Medinas, Marques, & Mira, 2013). In addition to road mortality, high night-time traffic can actually lead to the reduced use of breeding habitats near the motorway by acting as a barrier to forest habitats, and this road-effect zone operates well beyond 1,000 m from the road (Eigenbrod, Hecnar, & Fahrig, 2009). Thus, roads and traffic can reduce the persistence of wildlife populations, particularly when they restrict the access of individuals to breeding sites or foraging habitats (Forman et al., 2003).

Since 2000, the worldwide roadway network length has increased by approximately 12 million lane-km, and globally roads are predicted to grow by nearly 25 million paved lane-km by 2050 (Dulac, 2013). Hence, there is an urgent need to facilitate the safe movement of animals across landscapes fragmented by roads or other forms of linear infrastructure. One method used to reduce road-associated mortality is the creation of fauna crossing structures (Smith, van der Ree, & Rosell, 2015).

Most studies on road effects have focused on terrestrial mammals and amphibians, and until recently, few studies have focused on the effects of roads on flying animals, such as birds and bats. However, recent studies have highlighted that roads have a negative impact on the activity and movement of insectivorous bats (Abbott et al., 2015; Bennett & Zurcher, 2013; Berthinussen & Altringham, 2012b; Fensome & Mathews, 2016; Kitzes & Merenlender, 2014; Zurcher, Sparks, & Bennett, 2010). Indeed, connectivity in the landscape that allows daily movements between roosting and foraging areas is a key element for bats (Frey-Ehrenbold, Bontadina, Arlettaz,

& Obrist, 2013; Pinaud, Claireau, Leuchtmann, & Kerbiriou, 2018). For example Hale, Fairbrass, Matthews, and Sadler (2012) demonstrated that bat activity in a habitat patch (e.g. ponds) increased with the degree of connectivity of the surrounding landscape.

In the European Union, all bat species are strictly protected by the Habitats Directive (Council of the European Union 1992), the most influential nature conservation framework in Europe (Fontaine et al., 2007). Developers must demonstrate that they will establish mitigation measures to prevent, reduce and compensate for impacts that result in any loss of bat foraging or roosting habitats (Bezombes, Gaucherand, Kerbiriou, Reinert, & Spiegelberger, 2017). The mitigation measures that have been proposed to reduce road impacts are overpasses (e.g. bat overpasses), underpasses (e.g. viaducts), vehicle speed reduction, deterrence and diversion (e.g. planting hedges), artificial roosting sites (e.g. bat boxes) and habitat improvement (Møller et al., 2016). Recent studies have suggested that wildlife crossings and underpasses could be the best solutions to restore ecological continuity, whereas bat overpasses seem to be less effective (Abbott, Butler, & Harrison, 2012; Berthinussen & Altringham, 2012a; Møller et al., 2016).

Bat overpasses are presumed to function as linear features (e.g. a hedgerow) that will attract and guide bats across the roads above traffic and have been recommended by environmental impact assessments (EIA). However, Møller et al. (2016) highlighted that carefully designed research on bat overpasses and controlled testing, including studies of the behaviour of individual species, were needed to scientifically evaluate the effectiveness of these overpass designs for bats.

Studies on the effectiveness of mitigation infrastructure for bats are particularly scarce; only one peer-reviewed study has been performed to evaluate the effectiveness of bat gantries (a form of overpass) (Berthinussen & Altringham, 2012a), and few technical reports were identified in Møller et al. (2016). These studies found that the current recommendations for policy makers and road managers are inadequately implemented or have never been proven to be effective. These uncertainties emphasize the critical need to further test the efficacy of these mitigation methods, which are likely to be implemented across Europe and potentially further afield.

Our overall aim was to evaluate whether bat overpasses, as a recommended mitigation measure, contribute to the restoration of connectivity between habitats fragmented by roads. To achieve this aim, we developed a new methodology based on acoustic flight path reconstruction (AFPR) to better characterize bat flight trajectories in the vicinity of three bat overpasses and to evaluate

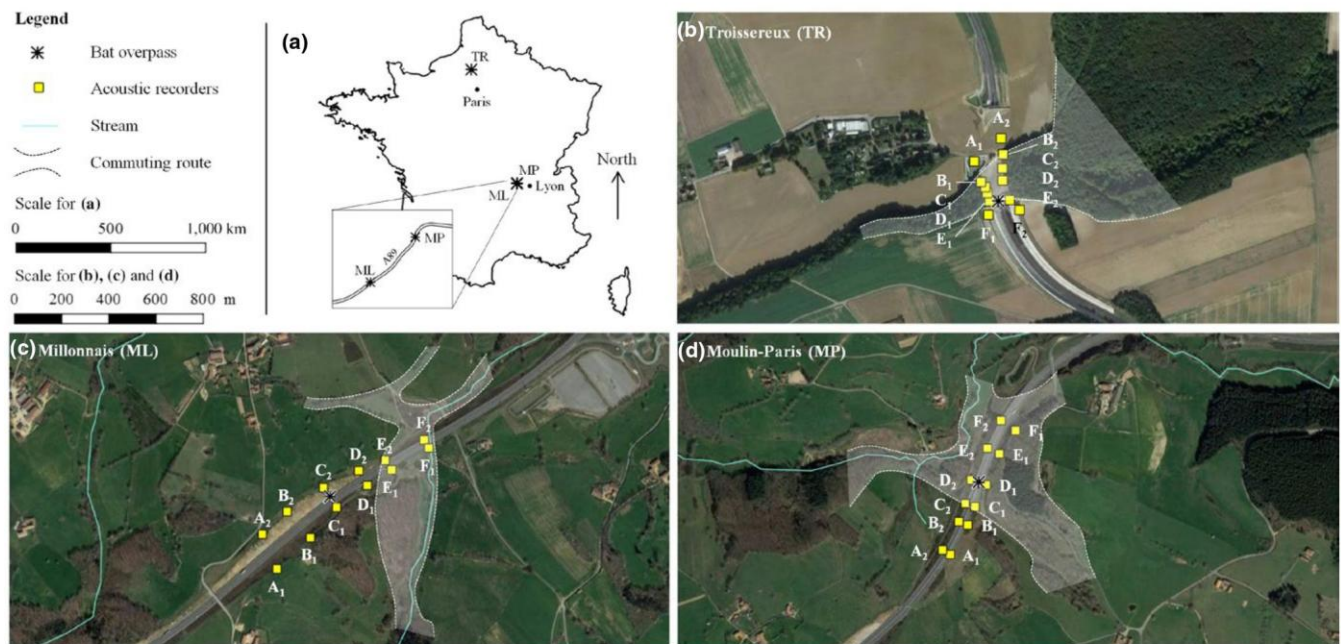


FIGURE 1 (a) Location of the three study sites with an enlarged image of each site with the locations of the overpasses (b, c and d) and the locations of acoustic recorders. Image source: Google Maps (October 2017)

their effectiveness in restoring habitat connectivity. More specifically, we tested two different overpass designs among three sites to determine whether (a) bats cross the road at the location of bat overpasses, (b) bat crossings at bat overpasses were more numerous than at other nearby unmitigated commuting routes identified in the EIAs, (c) bat overpasses placed on known commuting routes were used more frequently than bat overpasses that were located outside the route and (d) bat overpass designs influence the effectiveness of bat crossings when the overpasses are placed along known commuting routes.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study site

The study was undertaken in France, which experienced a 12% increase in the length of roads between 1995 and 2015 [from 962,000 km to 1,078,000 km (MEEM 2017)], with an additional 673 km planned to be in place by 2030 (DGITM 2011).

We studied three bat overpasses located in rural areas mainly surrounded by woodlands and grasslands. Two overpasses were in the Rhône-Alpes region near Lyon, named Millonnais (ML) (45°50'N, 4°12'E) and Moulin-Paris (MP) (45°51'N, 4°14'E), both crossing the A89 highway which became operational in 2013 (Figure 1). These two sites were separated by 2.3 km and bat overpasses have been permanently installed on this highway since November 2012. The third overpass was in the Picardie region near Beauvais, named Troissereux (TR) (49°28'N, 2°3'E) on the road D901. Construction of the TR road, which occurred between 2015 and 2016, led to the bisection of a large natural wildlife corridor. The mitigation measures planned in the EIA consisted of (a) building a wildlife crossing and (b) installing a bat

overpass at the location where the road bisected the ecological corridor during road construction. Both infrastructures were built in parallel with our monitoring (Figure S1.1, S1.2) before the road became operational in December 2016. The characteristics of the roads are detailed in Table S1.1.

2.2 | Known bat communities and bat commuting routes

During the aforementioned EIAs, bibliographic searches and acoustic surveys (passive and/or active) were conducted for each site by consulting firms (methods detailed in Appendix S1). The main objectives were to detect protected species and identify biodiversity issues (locations of commuting routes, roosting bats and foraging areas) in the areas that would be impacted by the road work.

The bat community at ML and MP included the following species: *Pipistrellus pipistrellus*, *P. kuhlii*, *Eptesicus serotinus*, *Plecotus* spp. and *Myotis myotis/blythii*. A hibernacula of *Barbastella barbastellus*, which is a species of conservation concern, was also reported 700 m away from the A89 (approximately 330 individuals) (Letscher, Prat, & Vincent, 2007). At TR, the bat community was composed of *P. kuhlii*, *P. nathusii*, *P. pygmaeus*, *M. nattereri*, *M. mystacinus*, *M. daubentonii*, *M. bechsteinii*, *M. myotis*, *Myotis* spp., *Nyctalus noctula*, *N. leisleri*, and *Plecotus* spp. Furthermore, in 2012, an important breeding colony of approximately 370 individuals of *M. myotis* was located in a castle of TR, 1.2 km away from the study site (Dupuy & Yobokre, 2014).

Given the methodologies implemented in the aforementioned EIAs (Appendix S1), i.e. the absence of quantitative measures of bat

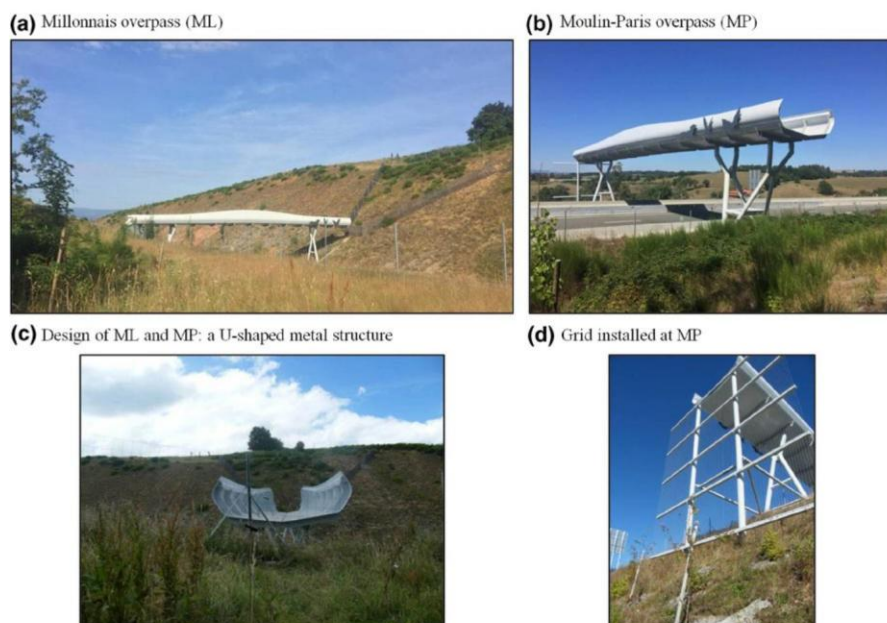


FIGURE 2 Pictures of bat overpasses permanently installed on highway A89 Millonnais (ML) (a, c) and Moulin-Paris (MP) (b, d) near Lyon



FIGURE 3 Pictures of bat overpass temporarily installed during road construction on road D901 (TR) (a, b) to the north of Paris

activity along the commuting route and the absence of a control site, it was not possible to re-use the data collected before construction to perform a Before-After-Control-Impact analysis.

2.3 | Placement and features of bat overpasses

To mitigate the fragmenting effect of the road and restore connectivity, two overpasses (MP & TR) were placed within the bat commuting routes identified during the preconstruction EIA. Due to technical constraints (the soil had insufficient bearing capacity), the third overpass (ML) was built 325 m away from the identified commuting route (Figure 1c). This preconstruction commuting route was situated at the lowest part of a valley (with a stream) which was backfilled for the road to cross the valley. The stream now flows through a culvert with a 1-m diameter that was obstructed by vegetation during our surveys, precluding bats from using it. Thus, bats had to cross above the road (Figures S1.3, S1.4).

The designs of the bat overpasses were different but were not specifically tested due to the confounding effect of road traffic. Indeed, while the TR overpass had a unique design—wires with polystyrene balls—and was studied at a site without traffic, the two other

sites had similar designs but were studied on a highway that was in operation. ML and MP were designed as U-shaped metal structures (Figure 2a,b,c). At MP, according to the experts who wrote the EIAs, a grid parallel to the road was installed to help bats to better detect the overpass and to force them to fly at a safe height across the road (Figure 2d). The last overpass (TR) comprised two tensioned wires vertically spaced 1.2 m apart with polystyrene spheres each spaced at short intervals on the wires (Figure 3). These polystyrene spheres were designed with a reflective micro-surface to optimize the likelihood of bats receiving sonar echoes while flying (Figure 3b). The wires were stretched between two tall trees and connected to the forest edge. The characteristics of the three bat overpasses are detailed in the Table S1.2.

2.4 | Sampling design

To assess the use of bat overpasses by bats at each site, we placed two automatic acoustic recorders per site (Song Meter SM2Bat+, Wildlife Acoustics Inc.), one on each side of the overpass (henceforth referred to as a "pair"). Acoustic recorders were used to capture stereo recordings with microphones (SMX-US and SMX-U1,

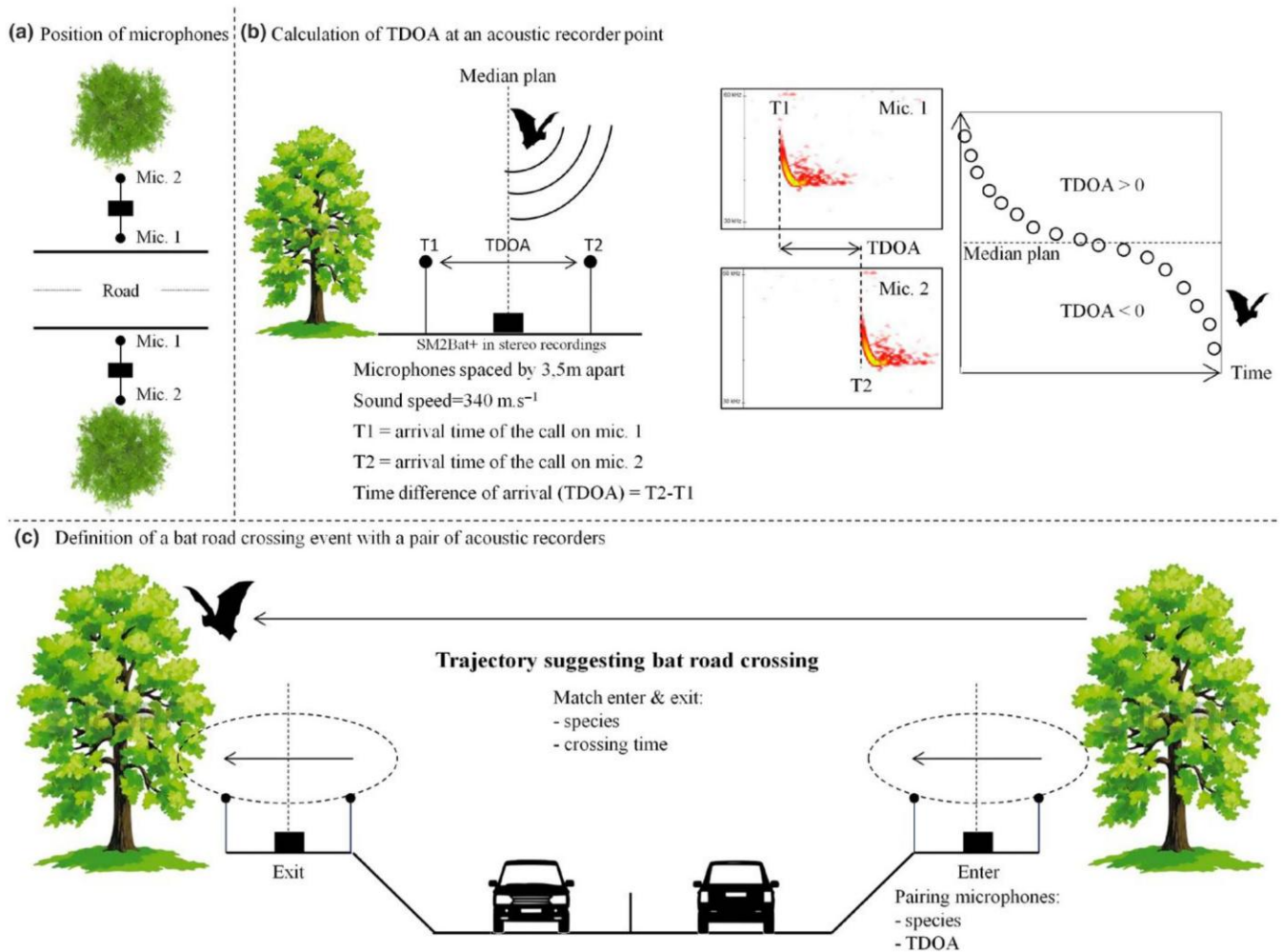


FIGURE 4 (a) Positions of the microphones: the left channel (mic 1) facing the road and the right channel (mic 2) facing the habitat context and perpendicular to the road. (b) Calculation of the time difference of arrival (TDOA). (c) We defined a crossing as when a bat that entered the road on one side was detected exiting the road on the other side. As it was not possible to identify individual bats based on their commuting/foraging calls, we matched entering and exiting using species identity and time elapsed

Wildlife Acoustics Inc.) spaced 3.5 m apart and connected to the same recorder. The microphone on the left channel was always placed facing the road, whereas the microphone on the right channel was placed perpendicular to the road, facing natural habitat (e.g. agricultural land, hedgerow) (Figure 4a). This placement permitted us to characterize the bat crossings based on the AFPR approach.

To determine if bat crossings were more numerous at overpasses compared to other crossings that occurred in the vicinity, we also placed pairs of acoustic recorders spaced at least 25 m apart ($\bar{x}$: 77.6 m; min: 25.2 m; max: 129.7 m). These additional pairs were placed at each site in the main habitat types present in the vicinity of the overpass (Figure 1). One pair was placed at a location with agricultural land on both sides of the road. This pair was our control pair because open agricultural lands are typically poorly utilised by the bat community considered (Kerbirou et al., 2018).

At the site level, this sampling involved the use of six pairs of acoustics recorders placed in the following six habitats: (a) overpass (O), (b) forest on both sides of the road (F/F), (c) stream on both sides of the road (S/S), (d) forest edge on one side and agricultural land

on the other side (F/A), (e) forest on one side and the hedgerow on the other side (F/H) and (f) agricultural land on each side of the road (A/A).

2.5 | Acoustic surveys

Ultrasonic recordings were collected in the spring and summer of 2016 for four successive nights for TR and five successive nights for ML and MP (at the end of May for TR, in July for ML, and in September for MP) under favourable weather conditions, i.e. without rain, with low wind speed (<7 m/s) and at temperatures higher than 12°C, as recommended by the French national bat-monitoring programme.

The acoustic surveys were performed for the whole night from 30 min before civil sunset to 30 min after civil sunrise. At the site level, all 12 acoustic recorders were operating simultaneously. The detectors were set with a trigger level of 6 dB signal-to-noise ratio and 192 kHz sampling rate on each channel.

As we used two models of omnidirectional ultrasonic microphones, we performed tests to compare their sensitivities. The

results showed no significant difference between microphones (bat pass duration and triggering distance); hence, the data have been analysed without considering the model of microphone as a covariate.

2.6 | Species identification

To identify the species from acoustic recordings, we first used Kaleidoscope© software (Wildlife Acoustics Inc.) to extract .wav files from the recorded .wac files. A time expansion factor of 10 was specified, and we split channels using 5 s as a maximum duration.

Then, we analysed the ultrasound recordings with the software *Tadarida* (Bas, Bas, & Julien, 2017), which identifies species-specific echolocation calls. This software automatically detects and extracts sound feature parameters of the recorded echolocation calls and classifies them into known classes according to a probability value that a call is from a specific group/bat species using a random forest algorithm (Cutler et al., 2007).

All bat calls involved in bat crossings (bat crossings were detected by the AFPR approach, see below for more details) were checked manually using BatSound© software (Pettersson Elektronik AB, Sweden). In addition to the calls assigned to *P. pipistrellus*, *E. serotinus* and *B. barbastellus*, we constructed three groups (*P. kuhlii/nathusii*, *Plecotus* spp. and *Myotis* spp.), as contacts with these taxa were difficult to identify with certainty (Obrist, Boesch, & Flückiger, 2004).

2.7 | Detection of bat crossings using acoustic flight path reconstruction (AFPR)

To determine the number of bat crossings, we developed an innovative method using AFPR (two open source scripts in R [see Appendix S1] and online repository: <https://github.com/FabienClaireau>).

For each acoustic recorder, we calculated the time difference of arrival (TDOA) for each bat pass, allowing the recorder to detect whether a bat crossed the median plane of the two microphones and in which direction it went. To calculate the TDOA, we needed to obtain the time-frequency features of each echolocation call. For that purpose, the .wav files were processed by the open software *Tadarida-L* 1.0.2 (Bas et al., 2017; github.com/YvesBas/Tadarida-L).

When the bat was in the left plane, closer to the road than the median plane, the TDOA was a positive value and vice versa (Figure 4b). When a change of sign was observed in more than 10% of the calls, we assumed that the bat had crossed the median plane. According to the spatial design of our microphones (i.e. at a right angle to the road), we could determine whether a bat from outside the road was headed towards the road (TDOA changing from negative to positive), or if a bat coming from the road was exiting the road (TDOA changing from positive to negative) (Figure 4c). Hence, to identify a bat crossing, the detection of a bat on all four microphones was required.

Then, we used species identity and the time elapsed as the two criteria to match the entering and exiting flights on each side of the

road to detect road crossing events. The time elapsed ($\bar{x}$: 23.21 s; min: 13.1 s; max: 38.6 s) was defined according to the distance between the paired acoustic recorders and the expected bat flight speed (approximately 4–15 m/s) (Figure 4c). A pair of acoustic recorders can detect bats at an average distance of 25 m for common species, such as *Pipistrellus* spp. (Barataud, 2015). This detection distance must be taken into account for the placement of pairs of acoustic recorders along the road to avoid recording and hence counting the same bat with two separate pairs.

2.8 | Statistical analyses

Our sampling design generated the number of bat crossings in different habitat types around the road and bat overpass. In the case where bats randomly crossed the road in any habitat type, we did not expect to detect any significant variations in bat crossings between these habitats. However, in the case where a bat overpass was used more frequently by bats to cross the road than other areas, we expected a greater number of bat crossings at the location of the bat overpass than within the surrounding habitat. Finally, if bats continued to cross the road by moving along the commuting route rather than using the overpass (Figure 1), we expected to have a greater number of bat crossings along the commuting route.

The first analysis assessed whether there was an overall effect of bat overpasses on bats (placement and features were combined such as the design of bat overpass, traffic and type of road). For this purpose, we evaluated the habitat types that contained the greatest number of bat crossings, and compared the number of crossings among them. This analysis was performed for all pairs in the three sites with a generalized linear mixed model (GLMM, R package *glmmADMB*; Skaug, Fournier, Bolker, Magnusson, & Nielsen, 2014). The response variable in our analyses was the number of bat crossings for all species (bat crossings) and the explanatory variable was the habitat type ($n = 6$). According to the nature of our response variable (count data), we performed a zero-inflated GLMM with a negative binomial error distribution (link=log) (Zuur, Ieno, Walker, Saveliev, & Smith, 2009). We included a first random effect of date in the model because all recorders ran simultaneously on the same night, allowing us to implicitly account for the conditions that night, such as the effects of weather. In addition, we included a second random effect of the pair of acoustic recorders nested in the site to account for the hierarchical sampling design. Bat crossings at the overpass were used as the reference (i.e. intercept) in the model. The difference in the number of survey nights between sites was taken into account with the random effect structure (pairs nested in site). The full model was written as follows:

$$\text{Bat crossings} \sim \text{Habitat types} + 1|\text{Date} + 1|\text{Site/Pairs}$$

As we only had one explanatory variable, there was no model selection process. However, we compared it to a null model based on the Akaike weight of each model. We aimed to evaluate whether the quality of our model was good by comparing it to the null model

(including only the random effects) using Akaike's information criterion (AIC) (MacNally, Duncan, Thomson, & Yen, 2017).

The second analysis assessed the effect of each single bat overpass by determining whether the number of bat crossings was higher at each overpass than in the surrounding habitat. We applied a similar GLMM (i.e. zero-inflated, negative binomial and a random effect on date), but performed the analysis separately at each site. Thus, we used one full model for each site. The response variable in our analyses was the number of bat crossings for all species (bat crossings) and the explanatory variable was composed of the pairs of acoustic recorders (pairs). Bat crossings at the overpass were used as the reference (i.e. intercept) in each model. The full model was written as follows:

Bat crossings ~ Pairs + 1|Date

We also compared this model to a null model based on the AIC. Finally, when we wanted to compare the sites, we used the ratio between bat crossings and bat passes in each site. Thus, the difference in the number of recording nights between sites did not bias the results.

3 | RESULTS

3.1 | Bat detections and bat crossings

For the three study sites, we recorded 57,941 bat passes (for details at the site level, see Table S3.1); within these bat passes, we detected 284 bat crossings (ML: 37, MP: 67 and TR: 180) for the six evaluated species. Species of conservation concern identified by EIAs [*B. barbastellus* (for ML and MP) and *M. myotis* (for TR)] were detected during our survey. However, detections were rare, precluding meaningful statistical analysis at the species level. Among the 284 bat crossings detected, the species with sufficient occurrences for the assessment of bat road crossings were *P. pipistrellus* at 73% (*n* = 208) and *P. kuhlii/nathusii* at 22% (*n* = 61). Details on bat crossings are presented in Table S4.1 and S4.2.

At ML, 37 bat crossings were detected; 19% occurred at the bat overpass (*n* = 7), whereas 65% occurred where the road crossed the commuting route identified by the EIA (*n* = 24). The remaining 16% of the bat crossings were located in other habitat types (*n* = 6). At MP, 67 bat crossings were recorded; 39% were detected where the overpass was installed (*n* = 26), whereas 51% occurred where the road crossed the previously identified commuting route (*n* = 34). The remaining 10% of the bat crossings were located in other habitat types (*n* = 7). At TR, 180 bat crossings were recorded; 54% were detected where the overpass was installed (*n* = 97), whereas 43% occurred where the road crossed the previously identified commuting route (*n* = 77). The remaining 3% of the bat crossings were located on agricultural land (control sample) (*n* = 6).

3.2 | Effect of the overpasses on flight crossings

Our analyses demonstrated that bats do not cross the road randomly. Our control pair of microphones, i.e. agricultural land on both sides of the road ('A/A'), recorded the lowest number of bat crossings (Figure 5, Table S4.1). Furthermore, when we analysed the overall effect of bat overpasses in comparison to the surrounding habitat without overpasses, we found no difference in the number of bats crossing between the bat overpass and the stream on both sides of the road, or between the bat overpass and the forest/hedgerow (Table 1), which were two categories with limited samples (Table 1). As the habitat type with the stream on both sides of the road ('S/S') is only present in one site, with only one pair of microphones replicated for five nights, we ran the model without these data and found similar results (Table S5.1). Moreover, it is noteworthy that we found similar patterns when we used the ratio of crossings (i.e. the ratio between the number of bat crossings and bat passes) as the response variable instead of the number of bat crossings (Table S5.2).

Then, at the site level (for MP and TR), bat crossings were more numerous at the location of the bat overpass in comparison

TABLE 1 Estimates, standard errors (SE) and *p*-value for the number of bat crossings according to habitat types for each pair of detectors at each site. Comparisons of bat crossings between overpass pairs and the other pairs were calculated at the site scale by generalized linear mixed model (GLMM) (Bat crossings ~ Habitat types + 1|Date + 1|Site/Pairs). Bat crossings at the overpass were used as the reference (i.e. intercept) in the model. The estimates and SE were the gaps at the intercept. Back-transformed values were the values corresponding to the category

Habitat types per pair	<i>n</i>	Estimates	SE	<i>z</i> value	<i>p</i> -value	Back-transformed value
Overpass (intercept)	14	1.812	0.481	/	/	6.123 (3.785, 9.905)
Agricultural land/ Agricultural land	18	-2.954	0.547	-5.4	<0.001	0.319 (0.172, 0.593)
Forest/ Agricultural land	15	-1.026	0.508	-2.02	0.043	2.197 (1.240, 3.892)
Forest/Forest	27	-0.869	0.38	-2.29	0.022	2.570 (1.602, 4.125)
Forest/ Hedgerow	5	-1.362	0.832	-1.64	0.102	1.568 (0.658, 3.740)
Stream/Stream	5	-0.833	0.77	-1.08	0.279	2.664 (1.191, 5.960)

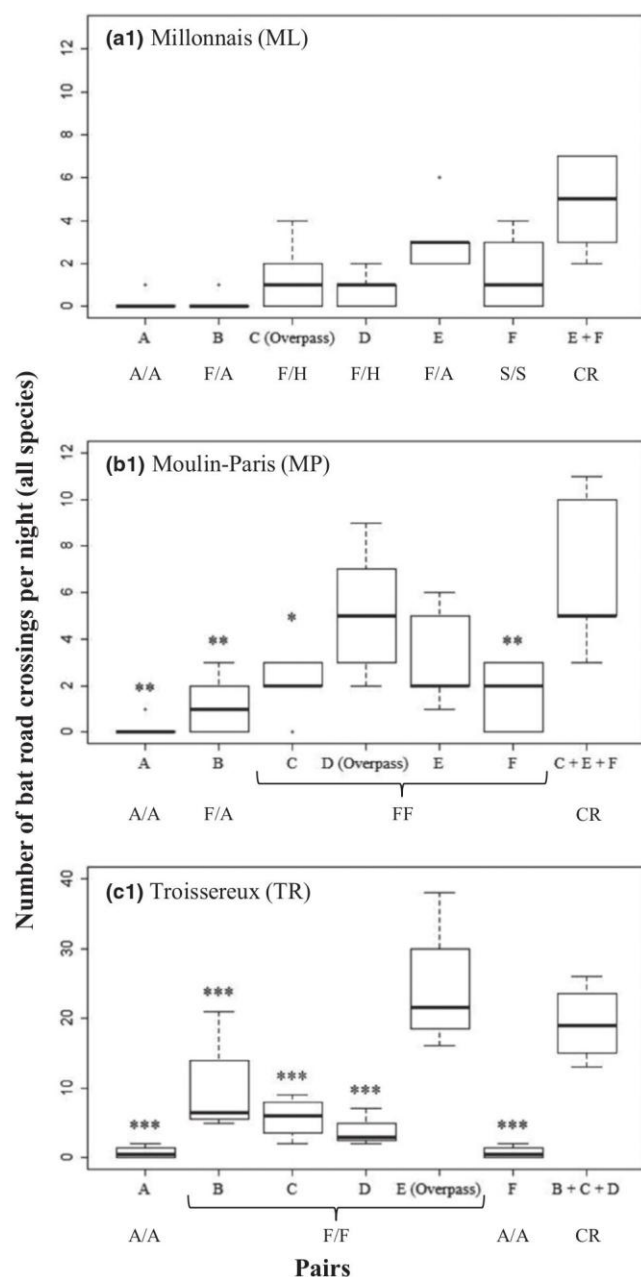


FIGURE 5 Number of bat road crossings per night for all bats (raw data) per pair of acoustic recorders per overpass (a1, ML; b1, MP; c1, TR). Table S4.1 lists the number of bat crossings per pair. The habitat types (A, agricultural land; F, forest; H, hedgerow; S, stream; CR, commuting route) are included under the number of pairs. Comparisons of bat crossings between overpass pairs and the other pairs were conducted at the site scale by GLMM (Bat crossings $\sim$ Pairs + 1|Date). Bat crossings at the overpass were used as the reference (i.e. intercept) in each model (*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$)

to the other locations (Figure 5, Table S4.1). At MP, we found significantly fewer bat crossings at the control pair of microphones ('A/A') ($p < 0.001$), at forest/agricultural land ('F/A') ($p < 0.001$), and for two of three pairs on both sides of the road in the same forest ('F/F') ($p < 0.01$; $p < 0.001$) compared to the bat overpass

(Figure 5b1). At TR, we found significantly more bat crossings at the bat overpass than at all the other pairs ($p < 0.001$) (Figure 5c1). However, at ML, we did not detect any difference in the number of bat crossings between the bat overpass and other habitat types (Figure 5a1).

It is also noteworthy that we had a change in AIC greater than 10 between the full models and the null models (Table S5.3).

3.3 | Bat crossings at the overpass and at the unmitigated commuting route

When we compared the number of bat crossings at the bat overpass to the sum of the crossings at other locations without overpasses along the commuting corridor (CR) (as identified during the EIA), we obtained conflicting results. Considering the length of the bat commuting route and our sampling design (number of pairs within commuting route and interval distance between pairs), we covered approximately 57% of the width of the commuting route at ML, 39% at MP and 100% at TR.

At ML, where two pairs were placed along the commuting route and where the overpass was built 325 m away from the commuting route identified by the EIA, bats crossed the road 3.4 times more often at the unmitigated commuting route than at the location of the bat overpass (Figure 5a1). At MP, where four pairs were placed along the commuting route (including the bat overpass), bats crossed the road 1.3 times more frequently at the sites along the commuting route that did not include the overpass (forest) than at the location of the bat overpass (Figure 5b1). At TR, where four pairs were placed along the commuting route (including the bat overpass), bats crossed the road 1.3 times more frequently at the location of the bat overpass than at the rest of the commuting route without the overpass (forest) (Figure 5c1). Finally, we found similar patterns for the most abundant species, *P. pipistrellus* and *P. kuhlii/nathusii* (Figure S6.1).

Again, the full models had an AIC 10 points higher than the null model (Table S5.3).

4 | DISCUSSION

4.1 | Bat crossings at the bat overpasses

We demonstrate that some bats cross the road at the locations of bat overpasses. However, this does not prove their effectiveness at restoring habitat connectivity because these numbers could not be compared to the pre-bat overpass construction numbers.

4.2 | Bat crossings at the bat overpasses compared to the surrounding habitat including the unmitigated commuting route

Overall, our results show that bat overpasses are more successful when they are placed in a location with forested areas on both side of the road and that they are avoided when placed in open habitats

such as farmland. The avoidance of flight across open areas is common in numerous species (Frey-Ehrenbold et al., 2013). In contrast, we found no difference between the number of bat crossings at the location of the overpass and at pairs with a stream on both sides of the road ('S/S'). This was expected as it is well documented that bats use linear aquatic habitats to commute and forage (Hale et al., 2012). At ML, bat crossings were 3.4 times more frequent along the commuting route identified by the EIA study than at location of the bat overpass. Surprisingly, we recorded twice as many bat crossings at microphone pair E with forest-agricultural land ($n = 16$) than at pair F, where the stream is present on both sides of the road ($n = 8$) (Figure 5a1, Figure S1.3, S1.4, Table S4.1). These results suggest a modification of the main commuting route after the construction of the road (pair F to pair E). This interpretation cannot be confirmed in the absence of a Before-After-Control-Impact (BACI) approach, emphasizing the need to include the AFPR methodology at the earliest stage of EIA and not only post-construction.

At MP and TR, 57% and 55%, respectively, of the bat crossings were at the location of the bat overpass, which was installed along the commuting route identified during the EIAs. Even though we detected two to six times more crossings at the location of the bat overpass compared to any other pair individually (Figure 5b1, c1, Table S4.1), when the number of bat crossings across the commuting route (excluding those along the overpass) were summed, we detected the same proportion of bat crossings compared to the overpass (MP: 43%; TR: 44%). Furthermore, bat crossings along the commuting route are probably underestimated because the pairs did not cover the full width of the commuting route at ML and MP (57% and 39% coverage). Thus, the number of bat crossings along the unmitigated part of the commuting route is higher than presently estimated for these two sites.

Finally, although we do not know whether the proportion of bat crossings at the commuting route after the construction of the road was the same as it was after the installation of the overpasses, we believe that this mitigation measure failed to fully restore habitat connectivity, since a large proportion of bat crossings occurred along the commuting routes and not at the overpass. Overall, bat crossings are dispersed over the entire width of the commuting route (100–330 m in length, Figures 1 and 5) and are not restricted to overpass sites.

4.3 | Influence of bat overpass placement and/or their features

The ML bat overpass was built 325 m away from the identified commuting route because of technical constraints. Our results demonstrate that bats did not make a detour to cross the road at the location of the bat overpass. Bats continued to cross the road where the commuting route was identified before the construction (Letscher, 2007). Hence, although this is based on a limited number of sites investigated, a bat overpass is more likely to fail to restore connectivity when it is not positioned where the commuting route was identified.

In the case of bat overpasses placed within a commuting route (MP and TR), our results showed a greater use of the overpass at TR than at MP. Indeed, the ratio between bat crossings and bat passes at MP was 15 times lower than that at TR. The first hypothesis to explain these results is the absence of vehicular traffic at TR. A second non-mutually exclusive hypothesis is the influence of the overpass design, which seems to be more effective when it consists of ropes with polystyrene balls stretched between tall trees than when it is a U-shaped metal structure. The absence of a gap between the bat overpass and the trees possibly allows a better continuity with the forest edge. Moreover, the wires at TR were positioned directly at the flight height of the bats (<2 m). A third non-mutually exclusive hypothesis is the influence of the road profile; at TR, the shoulders are higher than the road, while at MP, one side is lower than the road while the other is higher. These results suggest that the effectiveness of overpasses placed within the commuting route is likely to be influenced by several variables and their interaction (e.g. topography, habitat), highlighting the need for further research.

4.4 | Limitations and benefits of the AFPR approach to identifying bat crossings

To detect bat crossings, we developed an innovative method using an AFPR approach. However, this method did not allow us to measure whether bats fly at safe heights above traffic when crossing at bat overpasses. Furthermore, not all bat crossings are detected. Indeed, the condition that must be met to obtain a bat crossing is that the bat is detected by the four microphones. This is highly linked with the distance of detection of the bat (Barataud, 2015), which varies among species according to the average intensity of their calls (in dB) and the directionality of the sound emitted. This constraint is important for species that have a very narrow echolocation system oriented forward such as *Rhinolophus ferrumequinum* (distance of detection of 5 m; Barataud, 2015). Regardless of the habitat type considered, the proportion of bat crossings detected was very low compared to the number of bat passes recorded (2% of the number of bat passes were bat crossings). A field trial would be necessary to objectively compare the automated AFPR approach with direct field observations based on thermal imaging videos.

Although the AFPR method only detected a subset of the bat crossings, there is no reason to believe the pattern observed (i.e. variation between pairs or habitat types or with vs. without an overpass) would be biased towards greater/lower detection in different habitats or environments.

4.5 | Usability of the AFPR approach

AFPR is suitable for a repeatable non-biased BACI studies design (e.g. before and after traffic is introduced to a new road) and it does not depend on the experience of the experimenter, in contrast to direct visual observations, which require extensive training. This

innovative method could be included in EIA studies to perform before and after surveys. Such a flight behaviour monitoring system can also be included in EIAs concerned with any kind of development projects, including, for example, wind turbine establishment (Roemer, Disca, Coulon, & Bas, 2017). Most consulting firms already have such equipment (acoustic recorders for stereo recordings) for bat species inventories and can use the methodology developed herein. The use of this method allows automated monitoring throughout the night and does not require the attendance of specialized staff, which drastically reduces the cost of the study. Moreover, the software *Tadarida* and our scripts are open source and freely available.

4.6 | Management implications

Some bats crossed the road at the location of bat overpasses that were installed within their commuting routes. However, our results demonstrate that the two types of bat overpasses investigated in this study did not fully restore habitat connectivity, despite being specifically designed to do so.

These conclusions also highlight the importance of the EIA to propose measures to effectively avoid fragmentation (e.g. changing the road layout). However, if avoidance is impossible, wildlife overpasses or underpasses (especially the latter) should be favoured (Møller et al., 2016). It is imperative to carry out monitoring prior to road construction to identify commuting routes used by bats.

Moreover, as shown here at one site, road construction can modify bat commuting routes. As bats seem to avoid making a detour to use bat overpasses to cross the road (Berthinussen & Altringham, 2012a; Czerniak, Miler, Sylwester, Bernard, & Marcin, 2013; O'Connor & Green, 2011; Schut et al., 2013), it seems imperative to correctly place the overpass where the post-construction commuting route will be. To determine the placement of these mitigation measures, EIAs should use a BACI design, i.e. identifying the existing flight path and quantifying the flow of bats along a commuting route before and after road construction (Møller et al., 2016). The before phase provides an initial state against which it is possible to evaluate the efficacy of the mitigation measures, and post-construction monitoring should be compulsory.

Due to lack of knowledge, the implementation of mitigation measures without clear evidence for their effectiveness is, unfortunately, common, highlighting the need already expressed in the literature to monitor offset measures over time (Quétiér, Regnery, & Levrel, 2014). To fill in this knowledge gap and provide EIA studies with scientific data on which to base their recommendation, before and after analyses should be systematically carried out and the data made publicly available to inform meta-analyses.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to sincerely thank our partners, especially Cédric Heurtebise and Philippe Chavaren from VINCI-autoroutes and Jean-François Drevet from Bouygues Construction, who allowed us to conduct our study. We

would also like to thank Lenaïc Roussel from Naturalia Environnement, Mélanie Higoa from FRAPNA-Loire and EGIS Environnement for their assistance with the fieldwork. The authors declare that there are no conflicts of interest. Funding for this work was provided through Naturalia Environnement and ANRT (CIFRE grant, number: 2015/0893). We are grateful to the Associate Editor, Matthew Struebig, Isobel M. Abbott and a second anonymous reviewer for providing valuable comments that greatly strengthened this manuscript. This is contribution ISEM 2018-228 of the Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

F.C., Y.B., S.J.P., B.A. and C.K. devised the study. F.C., Y.B. and C.K. implemented the study. F.C. collected the data. F.C. and Y.B. wrote the scripts to characterize the bat crossings. F.C. and C.K. analysed the data and led the writing of the manuscript. All authors critically contributed to the draft of the manuscript and gave their final approval for its publication.

DATA ACCESSIBILITY

Acoustic data are available via the Dryad Digital Repository <https://doi.org/10.5061/dryad.vn36290> (Claireau et al., 2018).

Raw acoustic data are also archived and available via the French citizen science programme "VigieChiro" (<http://vigenature.mnhn.fr/page/participer-vigie-chiro>), at the portal <http://vigiechiro.herokuapp.com/> with the following site ID: 420395, 420420, 420421 and 600548.

ORCID

Fabien Claireau  <http://orcid.org/0000-0003-3848-7427>

Yves Bas  <http://orcid.org/0000-0003-4249-1429>

Sébastien J. Puechmaile  <http://orcid.org/0000-0001-9517-5775>

Christian Kerbirou  <http://orcid.org/0000-0001-6080-4762>

REFERENCES

- Abbott, I. M., Berthinussen, A., Stone, E., Boonman, M., Melber, M., & Altringham, J. (2015). Bats and Roads. In R. van der Ree, D. J. Smith, & C. Grilo (Eds.), *Handbook of Road Ecology* (pp. 290–299). Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd.
- Abbott, I. M., Butler, F., & Harrison, S. (2012). When flyways meet highways – The relative permeability of different motorway crossing sites to functionally diverse bat species. *Landscape and Urban Planning*, 106, 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2012.03.015>
- Barataud, M. (2015). *Acoustic Ecology of European Bats; Species Identification, Study of Their Habitats and Foraging Behaviour* (tran A Cockle-Betian). Paris; Biotope, Mèze: National Museum of Natural History.
- Bas, Y., Bas, D., & Julien, J.-F. (2017). Tadarida: A toolbox for animal detection on acoustic recordings. *Journal of Open Research Software*, 5, 4823. <https://doi.org/10.5334/jors.154>
- Bennett, V. J., & Zurcher, A. A. (2013). When corridors collide: Road-related disturbance in commuting bats. *The Journal of Wildlife Management*, 77, 93–101. <https://doi.org/10.1002/jwmg.467>

- Berthinussen, A., & Altringham, J. (2012a). Do bat gantries and underpasses help bats cross roads safely? *PLoS ONE*, 7, e38775. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038775>
- Berthinussen, A., & Altringham, J. (2012b). The effect of a major road on bat activity and diversity: Effect of a major road on bat activity. *Journal of Applied Ecology*, 49, 82–89. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2011.02068.x>
- Bezombes, L., Gaucherand, S., Kerbiriou, C., Reinert, M.-E., & Spiegelberger, T. (2017). Ecological equivalence assessment methods: What trade-offs between operationality, scientific basis and comprehensiveness? *Environmental Management*, 60, 216–230. <https://doi.org/10.1007/s00267-017-0877-5>
- Claireau, F., Bas, Y., Puechmaille, S. J., Julien, J.-F., Allegrini, B., & Kerbiriou, C. (2018). Data from: Bat overpasses: An insufficient solution to restore habitat connectivity across roads. *Dryad Digital Repository*, <https://doi.org/10.5061/dryad.vn36290>
- Council of the European Union. (1992). Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the Conservation of Natural Habitats and of Wild Fauna and Flora.
- Cutler, D. R., Edwards, T. C., Beard, K. H., Cutler, A., Hess, K. T., Gibson, J., & Lawler, J. J. (2007). Random forests for classification in ecology. *Ecology*, 88, 2783–2792. <https://doi.org/10.1890/07-0539.1>
- Czerniak, A., Miler, A. T., Sylwester, G., Bernard, O., & Marcin, P. (2013). *Funkcjonalność Bramowych Przejść dla Nietoperzy, Wybudowanych Na Trasie S-3. [Functionality of a wildlife crossing for bats constructed over the S-3 expressway]*. Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu.
- DGITM. (2011). *Schéma National Des Infrastructures de Transport*. Ministère de l'Écologie, du Développement durable, des Transports et du Logement.
- Dulac, J. (2013). *Global Land Transport Infrastructure Requirements; Estimating Road and Railway Infrastructure Capacity and Costs to 2050*. International Energy Agency.
- Dupuy, A., & Yobokre, R. (2014). *Projet de Déviation RD 901 Troissereux (60); Dossier de Demande de Dérogation Aux Interdictions de Destruction d'espèces Animales et d'habitats d'espèces Animales Protégées*. Biositiv, D3 Société de la déviation de Troissereux.
- Eigenbrod, F., Hecnar, S., & Fahrig, L. (2009). Quantifying the road-effect zone: Threshold effects of a motorway on anuran populations in Ontario, Canada. *Ecology and Society*, 14, 2441. <https://doi.org/10.5751/ES-02691-140124>
- Fensome, A. G., & Mathews, F. (2016). Roads and bats: A meta-analysis and review of the evidence on vehicle collisions and barrier effects. *Mammal Review*, 46, 311–323. <https://doi.org/10.1111/mam.12072>
- Fontaine, B., Bouchet, P., Vanachterberg, K., Alonsozarazaga, M., Araujo, R., Asche, M., ... Bailly, N. (2007). The European Union's 2010 target: Putting rare species in focus. *Biological Conservation*, 139, 167–185. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.06.012>
- Forman, R. T. T., & Alexander, L. E. (1998). Roads and their major ecological effects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29, 207–231. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.207>
- Forman, R. T. T., Sperling, D., Bissonette, J. A., Clevenger, A. P., Cutshall, C. D., Dale, V. H., ... Winter, T. C. (2003). *Road ecology: Science and solutions*. Washington, DC: Island Press.
- 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. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12034>
- 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, e33300. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033300>
- Kerbiriou, C., Azam, C., Touroult, J., Marmet, J., Julien, J.-F., & Pellissier, V. (2018). Common bats are more abundant within Natura 2000 areas. *Biological Conservation*, 217, 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.10.029>
- Kitzes, J., & Merenlender, A. (2014). Large roads reduce bat activity across multiple species. *PLoS ONE*, 9, e96341. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096341>
- Krauss, J., Bommarco, R., Guardiola, M., Heikkinen, R. K., Helm, A., Kuussaari, M., ... Steffan-Dewenter, I. (2010). Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels: Immediate and time-delayed biodiversity loss. *Ecology Letters*, 13, 597–605. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01457.x>
- Letscher, R. (2007). *Expertise "Chiroptères" Dans Le Cadre Des Études Préalables à La Réalisation de l'A89 Tronçon Balbigny – Violay (Loire); 1ème Phase: Inventaire Estival Des Chiroptères*. Centre Ornithologique Rhône-Alpes, Groupe Chiroptères Rhône-Alpes.
- Letscher, R., Prat, C., & Vincent, S. (2007). *Expertise "Chiroptères" Dans Le Cadre Des Études Préalables à La Réalisation de l'A89 Tronçon Balbigny – Violay (Loire); 1ère Phase: Synthèse Des Données Existantes, Prospections Préliminaires*. Centre Ornithologique Rhône-Alpes, Groupe Chiroptères Rhône-Alpes.
- MacNally, R., Duncan, R. P., Thomson, J. R., & Yen, J. D. L. (2017). Model selection using information criteria, but is the 'best' model any good? *Journal of Applied Ecology*, 55, 1441–1444. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13060>
- Maxwell, S. L., Fuller, R. A., Brooks, T. M., & Watson, J. E. M. (2016). Biodiversity. The ravages of guns, nets and bulldozers. *Nature*, 536, 143–145. <https://doi.org/10.1038/536143a>
- Medinas, D., Marques, J. T., & Mira, A. (2013). Assessing road effects on bats: The role of landscape, road features, and bat activity on road-kills. *Ecological Research*, 28, 227–237. <https://doi.org/10.1007/s11284-012-1009-6>
- MEEM. (2017). *Chiffres Clés Du Transport – Édition 2017*. Ministère de l'environnement, de l'énergie et de la mer, en charge des relations internationales sur le climat.
- Møller, J. D., Dekker, J., Baagøe, H. J., Garin, I., Alberdi, A., Christensen, M., & Elmeros, M. (2016). *Effectiveness of mitigating measures for bats – A review*. CEDR Transnational Road Research Programme.
- Obrist, M. K., Boesch, R., & Flückiger, P. F. (2004). Variability in echolocation call design of 26 Swiss bat species: Consequences, limits and options for automated field identification with a synergetic pattern recognition approach. *Mammalia*, 68, 307–322. <https://doi.org/10.1515/mamm.2004.030>
- O'Connor, G., & Green, R. (2011). *A review of bat mitigation in relation to highway severance*. Highways Agency.
- Pinaud, D., Claireau, F., Leuchtmann, M., & Kerbiriou, C. (2018). Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance. *Journal of Applied Ecology*, 55, 2600–2611. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13228>
- Quétier, F., Regnery, B., & Levrel, H. (2014). No net loss of biodiversity or paper offsets? A critical review of the French no net loss policy. *Environmental Science & Policy*, 38, 120–131. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2013.11.009>
- Roemer, C., Disca, T., Coulon, A., & Bas, Y. (2017). Bat flight height monitored from wind masts predicts mortality risk at wind farms. *Biological Conservation*, 215, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.09.002>
- Rudolph, D. C., Burgdorf, S. J., Conner, R. N., & Schaefer, R. R. (1999). Preliminary evaluation of the impact of roads and associated vehicular traffic on snake populations in eastern Texas. In G. L. Evink, P. Garrett, & D. Zeigler (Eds.), *Proceedings of the Third International Conference on wildlife ecology and transportation* (pp. 129–136). Tallahassee, FL: FL-ER-73-99. Florida Department of Transportation.
- Saunders, D. A., Hobbs, R. J., & Margules, C. R. (1991). Biological consequences of ecosystem fragmentation: A review. *Conservation Biology*, 5, 18–32. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1991.tb00384.x>
- Schut, J., Limpens, H., La Haye, M., van der Heide, Y., Koelman, R., & Overman, W. (2013). *Belangrijke Factoren Voor Het Gebruik van*

- Hop-Overs Door Vleermuizen over Wegen. Veldonderzoek Bij Sumar En Gieten.* Feanwâlden: Altenburg & Wymenga ecologisch onderzoek.
- Skaug, H. J., Fournier, D. A., Bolker, B. M., Magnusson, A., & Nielsen, A. (2014). Generalized linear mixed models using AD model builder.
- Smith, D. J., van der Ree, R., & Rosell, C. (2015). Wildlife crossing structures: An effective strategy to restore or maintain wildlife connectivity across roads. In R. van der Ree, D. J. Smith, & C. Grilo (Eds.), *Handbook of Road Ecology* (pp. 172–183). Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd.
- Trombulak, S. C., & Frissell, C. A. (2000). Review of ecological effects of roads on terrestrial and aquatic communities. *Conservation Biology*, 14, 18–30. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2000.99084.x>
- Zurcher, A. A., Sparks, D. W., & Bennett, V. J. (2010). Why the bat did not cross the road? *Acta Chiropterologica*, 12, 337–340. <https://doi.org/10.3161/150811010X537918>
- Zuur, A. F., Leno, E. N., Walker, N. J., Saveliev, A. A., & Smith, G. M. (2009). *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. New York, NY: Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-87458-6>

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

How to cite this article: Claireau F, Bas Y, Puechmaille SJ, Julien J-F, Allegrini B, Kerbiriou C. Bat overpasses: An insufficient solution to restore habitat connectivity across roads. *J Appl Ecol.* 2018;00:1–12. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13288>

Bat overpasses: an insufficient solution to restore habitat connectivity across roads - Supporting Information

Claireau Fabien ^{1,2,3,*}, Bas Yves ^{1,6}, Puechmaille Sébastien J. ^{2,5}, Julien Jean-François¹, Allegrini Benjamin ³ and Kerbiriou Christian ^{1,4}

Affiliations:

¹ Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation (CESCO), Muséum national d'Histoire naturelle, Centre National de la Recherche Scientifique, Sorbonne Université, CP 135, 57 rue Cuvier 75005 Paris, France.

² University of Greifswald, Zoological Institute and Museum, Loitzer-Str. 26, D – 17 489 Greifswald, Germany.

³ Naturalia Environnement, Site Agroparc, Rue Lawrence Durell, 84 911 Avignon, France.

⁴ Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation (CESCO), Muséum national d'Histoire naturelle, Station de Biologie Marine, 1 place de la Croix, 29900 Concarneau, France

⁵ ISEM, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France.

⁶ Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR 5175, CNRS – Université de Montpellier – Université Paul-Valéry Montpellier – EPHE, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier, France

* Corresponding author:

fabien.claireau@gmail.com

Appendix 1: Additional information about the study sites

Appendix 2: Scripts used for the AFPR

Appendix 3: Detailed information on bat activities for each species, site and points

Appendix 4: Bat crossings

Appendix 5: Bat crossings adjusted for bat activity and comparison of full models to a null model

Appendix 6: Bat crossings for *P. pipistrellus* and *P. kuhlii/nathusii*

Appendix 1: Additional information about the study sites

Table S1.1. Characteristics of roads in the three study sites

Characteristics	A89 - Millonnais and Moulin-Paris (ML and MP)	D901 - Troissereux (TR)
Tarmac	Present	Present
Number of lanes	4	4
Emergency lane on both sides	Present	Absent
Speed limit	130 km/h	90 km/h
Annual average daily traffic	17 220 (in 2015)	11 696 (in 2017)

Materials and methods used in the EIAs at each study site

At ML and MP, during the summer of 2007, 20-min acoustic surveys were completed at four points using a hand-held Pettersson D240X bat detector (Pettersson Electronic AB, Uppsala, Sweden). Two points were surveyed for two nights for ML and one night for MP. For MP, a researcher walked a 700-m transect using a Pettersson D240X for one night. One capture night was also performed for MP and ML (Letscher, Prat & Vincent 2007). At TR, during the summer of 2012 and 2013, 10-min acoustic surveys were completed on six nights at five points using a Pettersson D240X and whole-night passive recordings were taken at two points using an automatic ecoObs-batcorder detector (ecoObs GmbH, Nürnberg, Germany) on six nights in 2012 and 2013 (Dupuy & Yobokre 2014).

Table S1.2. Characteristics of bat overpasses at the three study sites

Characteristics	A89 - Millonnais and Moulin-Paris (ML and MP)	D901 - Troissereux (TR)
Type	U-shaped metal structure	Wires with polystyrene balls
Length	40 m	80 m
Width	4.82 m	/
Maximum height	9.66 m	2 m
Height of guidance of bats	1.65 m to 2.45	0 m to 1.8 m
Number of polystyrene balls	/	29
Diameter of polystyrene balls	/	23 cm

47
48
49

50
Road at the exit of the tunnel



Bat overpass



51
52
53

Figures S1.1 and S1.2: pictures of TR during road construction and our monitoring



Location of the F pair
Location of the culvert
(diameter: 100 cm)
Location of the stream

Figure S1.3: location of the F pair in the backfilled valley. The stream now flows through a 100-cm diameter culvert that was obstructed by vegetation during our surveys, precluding bats from using it. Thus, bats had to cross above the road.



Figure S1.4: A culvert (diameter: 100 cm) to allow the stream to flow under the road. This culvert was obstructed by vegetation on both sides of the highway during our surveys.

63 **Appendix 2: Script used for acoustic flight path reconstruction**

64 The scripts for AFPR are available on github: <https://github.com/FabienClaireau>.

65 **Script 2.1. Pairing microphones**

66 The purpose of this R script is to pair two microphones connected to the same acoustic
67 recorder and to locate the position of the bats (particularly their direction).

```
68 # Cleans everything
69 rm(list = ls())
70 # Working directory
71 setwd("C:/Users/Fabien/Documents/PhD_Nat_MNHN_Inst_All/GitHub")
72
73 # Opening the table containing all the data (export of TADARIDA)
74 library(data.table)
75 DataTot=fread("C:/Users/Fabien/Documents/PhD_Nat_MNHN_Inst_All/GitHub/export.txt",sep="\t")
76 colnames(DataTot)[10]="temps_fin"
77
78 # Select only bats
79 SpeciesList=read.csv("C:/Users/Fabien/Documents/PhD_Nat_MNHN_Inst_All/GitHub/SpeciesList.csv")
80 BatSpecies=subset(SpeciesList,SpeciesList$Group=="bat")
81 head(BatSpecies)
82 TC=merge(DataTot,BatSpecies,by.x="espece",by.y="Nesp")
83 TC=droplevels(TC)
84
85 # Change of classes
86 TC$temps_debut=as.numeric(as.character(TC$temps_debut))
87 TC$temps_fin=as.numeric(as.character(TC$temps_fin))
88 TC$frequence=as.numeric(as.character(TC$frequence))
89
90 library(Hmisc) # Loads a function library for pairings
91
92 # Specify the directory where the files (*.TA) are stored
93 DirCri="C:/Users/Fabien/Documents/PhD_Nat_MNHN_Inst_All/GitHub/ta"
94
95 # Micro and time information extraction
96 micro=vector(length=nrow(TC))
97 Date=vector(length=nrow(TC))
98 Heure=vector(length=nrow(TC))
99 Minute=vector(length=nrow(TC))
100 Seconde=vector(length=nrow(TC))
101 MiliSec=vector(length=nrow(TC))
102
103 Fich=as.character(TC$donnee)
104
105 for (i in 1:length(Fich)){
106   micro[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-20,nchar(Fich[i])-20)
107   Date[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-18,nchar(Fich[i])-11)
108   Heure[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-9,nchar(Fich[i])-8)
109   Minute[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-7,nchar(Fich[i])-6)
110   Seconde[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-5,nchar(Fich[i])-4)
111   MiliSec[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-2,nchar(Fich[i]))
112 }
113
114 Datenum=as.numeric(Date)
115 Heure=as.numeric(Heure)
116 Minute=as.numeric(Minute)
117 Seconde=as.numeric(Seconde)
118 MiliSec=as.numeric(MiliSec)
119 Temps=Heure*3600+Minute*60+Seconde+MiliSec/1000
120
121 # Creation of a new table incorporating: micro, Hour, Minute, Second, MiliSec, Time, Date, Datenum
```



```

122 TCExt=cbind(TC,micro,Date,Datenum,Heure,Minute,Seconde,MiliSec, Temps)
123
124 # Creation of 2 sub-sets (2 new tables) per microphone number
125 TC0=subset(TCExt,micro=="0")
126 TC1=subset(TCExt,micro=="1")
127
128
129 # Matching files *.wav
130 TC01=find.matches(cbind(TC0$Datenum,TC0$Temps)
131                   ,cbind(TC1$Datenum,TC1$Temps),tol=c(0,5))
132 # tol=c(no tolerance between date, tolerance of 5 seconds: this corresponds to our cutting of the wav)
133
134 # Pairing of left and right mics
135
136 TempsCriG=vector()
137 TempsCriDtot=vector()
138 for(i in 1:nrow(TC0))
139 {
140   rm(TempsCriDtot)
141   rm(TempsCriG)
142   TempsCriDtot=vector()
143   TempsCriG=vector()
144   # The detected calls are isolated on the left microphone corresponding to the contact
145   CriFichier=read.table(paste(DirCri,"/",TC0$donnee[i],".ta",sep=""),h=T,sep="\t") # Name of the field to adjust
146   # Select the cries (on TA) that interests us between two values, that is to say between the beginning and the end of a contact
147   (on TC)
148   CriFilTemps=subset(CriFichier
149                      ,(CriFichier$StTime>(TC0$temps_debut[i]*1000))
150                      &(CriFichier$StTime<(TC0$temps_fin[i]*1000)))
151   CriFilFreq=subset(CriFilTemps
152                    ,(CriFilTemps$Fmin<(TC0$frequence[i]))
153                    &((CriFilTemps$Fmin+CriFilTemps$BW)>(TC0$frequence[i])))
154   CriFilEcho=subset(CriFilFreq,
155                    (CriFilFreq$PrevMP2>35))
156   TempsCriG=TC0$Heure[i]*3600+TC0$Minute[i]*60+TC0$Seconde[i]+TC0$MiliSec[i]/1000+CriFilEcho$StTime/1000
157   # A corresponding contact is retrieved on the right microphone
158   if(TC01$matches[i,1]!=0)
159   {
160     for (j in 1:ncol(TC01$matches))
161     {
162       if(TC01$matches[i,j]!=0){
163         if (TC0$espece[i]==TC1$espece[TC01$matches[i,j]])
164         {
165           CriFichierD=read.table(paste(DirCri,"/",TC1$donnee[TC01$matches[i,j]],".ta",sep=""),h=T,sep="\t")
166           CriFilTempsD=subset(CriFichierD
167                              ,(CriFichierD$StTime>(TC1$temps_debut[TC01$matches[i,j]]*1000))
168                              &(CriFichierD$StTime<(TC1$temps_fin[TC01$matches[i,j]]*1000)))
169           CriFilFreqD=subset(CriFilTempsD
170                             ,(CriFilTempsD$Fmin<(TC1$frequence[TC01$matches[i,j]]))
171                             &((CriFilTempsD$Fmin+CriFilTempsD$BW)>(TC1$frequence[TC01$matches[i,j]])))
172           CriFilEchoD=subset(CriFilFreqD,
173                             (CriFilFreqD$PrevMP2>35))
174
175           TempsCriD=TC1$Heure[TC01$matches[i,j]]*3600+TC1$Minute[TC01$matches[i,j]]*60+TC1$Seconde[TC01$matches[i,j]]
176                   +TC1$MiliSec[TC01$matches[i,j]]/1000+CriFilEchoD$StTime/1000 #temps macro du début du cri côté
177           droit
178           if(j==1){TempsCriDtot=TempsCriD}else{TempsCriDtot=c(TempsCriDtot,TempsCriD)}
179         }
180       }
181     }
182
183     if((length(TempsCriDtot)>0)&(length(TempsCriG)>0)){
184       CriMatch=find.matches(TempsCriG,TempsCriDtot,tol=0.013,maxmatch=1)
185       # tol = spacing of microphones / 340m/s (speed of sound)
186       # Taking into account the time lag
187       DecTemps=vector()
188       TempsG2=vector()

```

```

189   Int=vector()
190   for (k in 1:length(TempsCriG))
191   {
192     if (CriMatch$matches[k]!=0)
193     {
194       DecTemps=c(DecTemps,TempsCriG[k]-TempsCriDtot[CriMatch$matches[k]])
195       TempsG2=c(TempsG2,CriFilEcho$StTime[k])
196       if (k>1){Int=c(Int,(CriFilEcho$StTime[k]-CriFilEcho$StTime[k-1]))}
197     }
198   }
199
200   if(length(DecTemps)>1){
201     Dec10=quantile(DecTemps,0.1) # 10% of small values
202     Dec90=quantile(DecTemps,0.9) # 10% of major values
203     DecMin=min(DecTemps) # Previous but the extreme
204     DecMax=max(DecTemps)
205     DecDeb=mean(DecTemps[1:(ceiling(length(DecTemps)/10))])
206     DecFin=mean(DecTemps[(floor(length(DecTemps)*9/10):(length(DecTemps))])
207     Int50=quantile(Int,0.5)
208     Int25=quantile(Int,0.25)
209     Trajtemp=c(as.character(TC0$participation[i])
210               ,as.character(TC0$donnee[i]),as.character(TC0$espece[i])
211               ,as.numeric(as.character(TC0$probabilite[i]))
212               ,as.character(TC0$temps_debut[i]),as.character(TC0$temps_fin[i])
213               ,DecDeb,DecFin,Dec10,Dec90,DecMin,DecMax,Int50,Int25)
214     if(exists("TrajTot")==T){TrajTot=rbind(TrajTot,Trajtemp)} else {TrajTot=Trajtemp}
215     print(paste(i,"/",nrow(TC0)," ",Sys.time(),sep=""))
216   }
217 }
218 }
219 }
220
221 # Rename columns
222 colnames(TrajTot)=c("Participation","File","Species","Prob","tdeb","tfin","DecDeb","DecFin","Dec10","Dec90","DecMin",
223 "DecMax","Int50","Int25")
224
225 # Write file
226 write.csv2(TrajTot,"TrajTot.csv")
227

```

228 **Script 2.2.** Find bat crossings

229 The purpose of this R script is to define a crossing as when a bat that entered the road
230 on one side was detected exiting the road on the other side.

```

231 # Cleans everything
232 rm(list = ls())
233 # Working directory
234 setwd("C:/Users/Fabien/Documents/PhD_Nat_MNHN_Inst_All/GitHub")
235
236 # Opening the table containing the results of the script Pairing microphones
237 library(data.table)
238 TrajTot=read.csv2("A89_Mill_TrajTot.csv")
239
240 # Opening the table containing the pairs and their characteristics
241 ListPaires=read.csv2("ListPairs.csv")
242
243 for (h in 1:nrow(ListPaires)){
244   TrajTot1=subset(TrajTot, Participation %in% ListPaires$participation_1[h])
245   TrajTot1=cbind(TrajTot1,Cote=1, Point=ListPaires$point_1[h])
246
247   TrajTot2=subset(TrajTot, Participation %in% ListPaires$participation_2[h])
248   TrajTot2=cbind(TrajTot2,Cote=2, Point=ListPaires$point_2[h])
249
250   Trav=rbind(TrajTot1,TrajTot2)
251
252   Trav$DecDeb=as.numeric(as.character(Trav$DecDeb))
253   Trav$DecFin=as.numeric(as.character(Trav$DecFin))
254   Trav$Prob=as.numeric(as.character(Trav$Prob))
255
256   Date=vector(length=nrow(Trav))
257   Heure=vector(length=nrow(Trav))
258   Minute=vector(length=nrow(Trav))
259   Seconde=vector(length=nrow(Trav))
260   MiliSec=vector(length=nrow(Trav))
261
262   Fich=as.character(Trav$File)
263
264   for (i in 1:length(Fich)){
265     Date[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-18,nchar(Fich[i])-11)
266     Heure[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-9,nchar(Fich[i])-8)
267     Minute[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-7,nchar(Fich[i])-6)
268     Seconde[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-5,nchar(Fich[i])-4)
269     MiliSec[i]=substr(Fich[i],nchar(Fich[i])-2,nchar(Fich[i]))
270   }
271   Datenum=as.numeric(Date)
272   Heure=as.numeric(Heure)
273   Minute=as.numeric(Minute)
274   Seconde=as.numeric(Seconde)
275   MiliSec=as.numeric(MiliSec)
276   Temps=Heure*3600+Minute*60+Seconde+MiliSec/1000
277
278   Trav=cbind(Trav,Heure,Minute,Seconde,MiliSec,Temps,Date,Datenum)
279
280   Ent1=subset(Trav, DecDeb>0 & DecFin<0 & Cote==1)
281   Sort1=subset(Trav, DecDeb<0 & DecFin>0 & Cote==1)
282   Ent2=subset(Trav, DecDeb>0 & DecFin<0 & Cote==2)
283   Sort2=subset(Trav, DecDeb<0 & DecFin>0 & Cote==2)
284
285   decalage=ListPaires$decalage[h]
286   decalage=as.numeric(as.character(decalage))
287   Ent1$Temps=Ent1$Temps+decalage
288   Sort1$Temps=Sort1$Temps+decalage
289

```

```

290 library(Hmisc)
291 TC12=find.matches(cbind(Ent1$Datum,Ent1$Species,Ent1$Temps)
292                   ,cbind(Sort2$Datum,Sort2$Species,Sort2$Temps)
293                   ,tol=c(0,0,(ListPaires$inter_distance[h]/5+(ListPaires$inter_distance[h]/5*0.5)+5))
294                   ,maxmatch=1)
295
296 DecMesure12=vector()
297 for (i in 1:length(TC12$matches))
298 {
299   if (TC12$matches[i]!=0)
300   {
301     DecMesure12=c(DecMesure12,Ent1$Temps[i]-Sort2$Temps[TC12$matches[i]])
302   }
303 }
304
305 TC21=find.matches(cbind(Ent2$Datum,Ent2$Species,Ent2$Temps)
306                   ,cbind(Sort1$Datum,Sort1$Species,Sort1$Temps)
307                   ,tol=c(0,0,(ListPaires$inter_distance[h]/5+(ListPaires$inter_distance[h]/5*0.5)+5))
308                   ,maxmatch=1)
309
310 DecMesure21=vector()
311 for (i in 1:length(TC21$matches))
312 {
313   if (TC21$matches[i]!=0)
314   {
315     DecMesure21=c(DecMesure21,Sort1$Temps[TC21$matches[i]]-Ent2$Temps[i])
316   }
317 }
318
319 rm(Trav12,Trav21)
320
321 Trav12=subset(Ent1,TC12$matches!=0)
322 Trav21=subset(Ent2,TC21$matches!=0)
323
324 Trav12=cbind(Trav12,DecMesure12)
325 names(Trav12)[25]<-"DecMesure"
326 if(nrow(Trav12)>0){Trav12=cbind(Trav12,Sens=12)}
327 Trav21=cbind(Trav21,DecMesure21)
328 names(Trav21)[25]<-"DecMesure"
329 if(nrow(Trav21)>0){Trav21=cbind(Trav21,Sens=21)}
330
331 TravTot12=rbind(Trav12,Trav21)
332
333 if(nrow(TravTot12)>0){TravTot12=cbind(TravTot12,Paire=ListPaires$num_paire[h],Site=ListPaires$site[h],Passage=ListPa
334 ires$passage[h])}
335
336 write.csv2(TravTot12,paste0(ListPaires$passage[h],"_",ListPaires$site[h],"_",TravTot,"_",ListPaires$num_paire[h],".csv")
337 )
338 }
339

```

340 **Appendix 3: Detailed information on bat activities for each species, site and points**

341 **Table S3.1.** Bat passes per species, per site and per point.

Species	Millonnais (ML)													Bat passes (Total)	Bat crossings
	Points														
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2	F1	F2			
<i>Barbastella barbastellus</i>	126	14	28	3	8	12	11	135	28	17	24	56	462	2	
<i>Eptesicus serotinus</i>	4	6	23	3	29	5	27	24	14	7	9	7	158	0	
<i>Myotis spp.</i>	71	39	56	27	73	106	85	92	35	21	145	53	803	1	
<i>Nyctalus spp. / Tadarida teniotis</i>	114	99	158	65	110	72	274	100	77	95	114	103	1381	14	
<i>Pipistrellus kuhlii-nathussi / Hypsugo savii</i>	483	376	6431	527	657	670	293	447	319	275	416	303	11197	20	
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	144	168	3502	105	192	162	341	274	141	174	294	230	5727	0	
<i>Pipistrellus pipistrellus / Pipistrellus pygmaeus / Miniopterus schreibersii</i>	6	5	7	7	72	1	1	5	13	3	3	1	124	0	
<i>Plecotus spp.</i>	8	3	11	7	4	14	13	17	11	8	25	21	142	0	
<i>Rhinolophus hipposideros</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2	0	
Bat passes (Total)	956	710	10216	744	1145	1042	1046	1094	639	600	1030	774	19996	37	

Species	Moulin-Paris (MP)													Bat passes (Total)	Bat crossings
	Points														
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2	F1	F2			
<i>Barbastella barbastellus</i>	5	41	33	34	68	59	258	304	266	28	402	53	1551	1	
<i>Eptesicus serotinus</i>	21	60	23	38	104	67	59	115	55	46	62	40	690	2	
<i>Myotis spp.</i>	19	50	132	99	132	141	280	428	186	178	101	228	1974	1	
<i>Nyctalus spp. / Tadarida teniotis</i>	66	68	49	112	60	141	70	142	79	207	197	160	1351	0	
<i>Pipistrellus kuhlii-nathussi / Hypsugo savii</i>	181	385	307	412	1089	561	5053	1775	3863	637	2924	918	18105	44	
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	72	110	131	121	247	129	2206	509	917	151	1856	213	6662	16	
<i>Pipistrellus pipistrellus / Pipistrellus pygmaeus / Miniopterus schreibersii</i>	2	7	5	17	28	2	198	92	16	11	182	10	570	0	
<i>Plecotus spp.</i>	36	48	31	55	45	70	42	141	25	54	51	41	639	3	
<i>Rhinolophus hipposideros</i>	1	1	0	3	0	2	0	0	0	2	0	1	10	0	
Bat passes (Total)	403	770	711	891	1773	1172	8166	3506	5407	1314	5775	1664	31552	67	

Species	Troissereux (TR)													Bat passes (Total)	Bat crossings
	Points														
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2	F1	F2			
<i>Barbastella barbastellus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2	0	
<i>Eptesicus serotinus</i>	2	14	11	15	14	13	6	10	3	4	0	0	92	2	
<i>Myotis spp.</i>	47	14	15	20	35	33	25	37	32	29	0	1	288	2	
<i>Nyctalus spp. / Tadarida teniotis</i>	10	3	5	8	7	9	15	14	11	23	12	17	134	0	
<i>Pipistrellus kuhlii-nathussi / Hypsugo savii</i>	14	24	17	46	33	49	28	48	62	59	32	12	424	3	
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	292	179	208	628	297	477	414	480	1090	776	320	58	5219	172	
<i>Pipistrellus pipistrellus / Pipistrellus pygmaeus / Miniopterus schreibersii</i>	1	0	9	7	0	2	0	1	2	0	1	0	23	0	
<i>Plecotus spp.</i>	14	4	19	20	26	23	7	31	18	27	6	16	211	1	
<i>Rhinolophus hipposideros</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Bat passes (Total)	380	238	284	744	413	606	495	621	1218	919	371	104	6393	180	

342

Appendix 4: Bat crossings

Table S4.1. Number of bat crossings per site, per pair and per date within the context of the habitat (A, agricultural land; F, forest; H, hedgerow; O, bat overpass and S, stream); the points refer to figure 1.

Site	Date	Pairs	Points	Habitat types	Species						
					<i>B. barbastellus</i>	<i>E. serotinus</i>	<i>Myotis spp.*</i>	<i>P. kuhlii/nathusii</i>	<i>P. pipistrellus</i>	<i>Plecotus spp.**</i>	All species
ML	20160704	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160705	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160706	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160707	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	1	0	1
ML	20160708	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160704	B	B1 / B2	F / A	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160705	B	B1 / B2	F / A	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160706	B	B1 / B2	F / A	0	0	0	1	0	0	1
ML	20160707	B	B1 / B2	F / A	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160708	B	B1 / B2	F / A	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160704	C	C1 / C2	O	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160705	C	C1 / C2	O	0	0	0	2	2	0	4
ML	20160706	C	C1 / C2	O	0	0	0	1	1	0	2
ML	20160707	C	C1 / C2	O	0	0	0	1	0	0	1
ML	20160708	C	C1 / C2	O	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160704	D	D1 / D2	F / H	0	0	0	1	0	0	1
ML	20160705	D	D1 / D2	F / H	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160706	D	D1 / D2	F / H	0	0	0	0	1	0	1
ML	20160707	D	D1 / D2	F / H	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160708	D	D1 / D2	F / H	0	0	0	0	2	0	2
ML	20160704	E	E1 / E2	F / A	0	0	1	1	0	0	2
ML	20160705	E	E1 / E2	F / A	2	0	0	0	4	0	6
ML	20160706	E	E1 / E2	F / A	0	0	0	1	2	0	3
ML	20160707	E	E1 / E2	F / A	0	0	0	0	2	0	2
ML	20160708	E	E1 / E2	F / A	0	0	0	1	2	0	3
ML	20160704	F	F1 / F2	S / S	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160705	F	F1 / F2	S / S	0	0	0	1	0	0	1

Species

Site	Date	Pairs	Points	Habitat types	<i>B. barbastellus</i>	<i>E. serotinus</i>	<i>Myotis spp.*</i>	<i>P. kuhlii/nathusii</i>	<i>P. pipistrellus</i>	<i>Plecotus spp.**</i>	All species
ML	20160706	F	F1 / F2	S / S	0	0	0	0	0	0	0
ML	20160707	F	F1 / F2	S / S	0	0	0	2	1	0	3
ML	20160708	F	F1 / F2	S / S	0	0	0	2	2	0	4
MP	20160905	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
MP	20160906	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	1	0	0	1
MP	20160907	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
MP	20160908	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
MP	20160909	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
MP	20160905	B	B1 / B2	F / A	0	0	0	0	0	2	2
MP	20160906	B	B1 / B2	F / A	0	0	0	1	1	1	3
MP	20160907	B	B1 / B2	F / A	0	1	0	0	0	0	1
MP	20160908	B	B1 / B2	F / A	0	0	0	0	0	0	0
MP	20160909	B	B1 / B2	F / A	0	0	0	0	0	0	0
MP	20160905	C	C1 / C2	F / F	0	0	0	1	1	0	2
MP	20160906	C	C1 / C2	F / F	0	0	0	2	1	0	3
MP	20160907	C	C1 / C2	F / F	1	0	0	2	0	0	3
MP	20160908	C	C1 / C2	F / F	0	0	0	1	1	0	2
MP	20160909	C	C1 / C2	F / F	0	0	0	0	0	0	0
MP	20160905	D	D1 / D2	O	0	0	0	3	2	0	5
MP	20160906	D	D1 / D2	O	0	0	0	2	1	0	3
MP	20160907	D	D1 / D2	O	0	0	0	6	1	0	7
MP	20160908	D	D1 / D2	O	0	0	0	8	1	0	9
MP	20160909	D	D1 / D2	O	0	0	0	2	0	0	2
MP	20160905	E	E1 / E2	F / F	0	1	0	0	0	0	1
MP	20160906	E	E1 / E2	F / F	0	0	0	0	2	0	2
MP	20160907	E	E1 / E2	F / F	0	0	0	3	2	0	5
MP	20160908	E	E1 / E2	F / F	0	0	1	2	3	0	6
MP	20160909	E	E1 / E2	F / F	0	0	0	2	0	0	2
MP	20160905	F	F1 / F2	F / F	0	0	0	0	0	0	0
MP	20160906	F	F1 / F2	F / F	0	0	0	0	0	0	0
MP	20160907	F	F1 / F2	F / F	0	0	0	2	0	0	2
MP	20160908	F	F1 / F2	F / F	0	0	0	3	0	0	3
MP	20160909	F	F1 / F2	F / F	0	0	0	3	0	0	3
TR	20160523	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	1	0	1

Site	Date	Pairs	Points	Habitat types	Species						All species
					<i>B. barbastellus</i>	<i>E. serotinus</i>	<i>Myotis spp.*</i>	<i>P. kuhlii/nathusii</i>	<i>P. pipistrellus</i>	<i>Plecotus spp.**</i>	
TR	20160524	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	2	0	2
TR	20160525	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
TR	20160526	A	A1 / A2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
TR	20160523	B	B1 / B2	F / F	0	0	0	0	7	0	7
TR	20160524	B	B1 / B2	F / F	0	0	0	0	5	0	5
TR	20160525	B	B1 / B2	F / F	0	1	0	0	19	1	21
TR	20160526	B	B1 / B2	F / F	0	0	0	0	6	0	6
TR	20160523	C	C1 / C2	F / F	0	0	0	0	7	0	7
TR	20160524	C	C1 / C2	F / F	0	0	1	1	7	0	9
TR	20160525	C	C1 / C2	F / F	0	0	1	0	1	0	2
TR	20160526	C	C1 / C2	F / F	0	0	0	0	5	0	5
TR	20160523	D	D1 / D2	F / F	0	0	0	0	7	0	7
TR	20160524	D	D1 / D2	F / F	0	0	0	0	3	0	3
TR	20160525	D	D1 / D2	F / F	0	0	0	0	3	0	3
TR	20160526	D	D1 / D2	F / F	0	0	0	0	2	0	2
TR	20160523	E	E1 / E2	O	0	0	0	0	22	0	22
TR	20160524	E	E1 / E2	O	0	0	0	1	15	0	16
TR	20160525	E	E1 / E2	O	0	1	0	1	36	0	38
TR	20160526	E	E1 / E2	O	0	0	0	0	21	0	21
TR	20160523	F	F1 / F2	A / A	0	0	0	0	2	0	2
TR	20160524	F	F1 / F2	A / A	0	0	0	0	1	0	1
TR	20160525	F	F1 / F2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
TR	20160526	F	F1 / F2	A / A	0	0	0	0	0	0	0
Total of bat crossings					3	4	4	61	208	4	284

346

347 * *Myotis spp.* (4): very likely to be *M. nattereri* (3) and *M. emarginatus* (1), ** *Plecotus spp.*: very likely to be *P. austriacus*

Table S4.2. Summary of species assigned to bat crossings in *Tadarida* software and final number of bat crossings used in the models after manual validation.

TADARIDA results		Manual validation			Real no. of bat road crossing
Species	No. of bat crossings	Checked %	% of errors	Correction	
<i>Barbastella barbastellus</i>	3	100	0	-	3
<i>Eptesicus serotinus</i>	4	100	0	-	4
<i>Pipistrellus kuhlii</i>	57	100	4	<i>Myotis emarginatus</i> (1) <i>P. nathusii</i> (1)	55
<i>Pipistrellus nathusii</i>	5	100	0	-	5 + 1
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	208	100	0	-	208
<i>Myotis nattereri</i>	3	100	0	-	3
<i>Plecotus austriacus</i>	4	100	0	-	4
New species					
<i>Myotis emarginatus</i>					1
Total of bat crossings					284

In addition to the calls assigned to *Pipistrellus pipistrellus*, *Eptesicus serotinus* and *Barbastella barbastellus*, we constructed three groups (*P. kuhlii/nathusii*, *Plecotus spp.* and *Myotis spp.*) because the calls in these taxa were difficult to identify with certainty (Obrist, Boesch & Flückiger 2004).

Appendix 5: Bat crossings adjusted by bat activity and comparison of full models to a null model

Statistical analysis for bat crossings comparing the number of bat crossings between overpass pairs and pairs without overpasses, excluding the habitat type 'S/S'.

Table S5.1. Estimates, standard errors (SEs) and *P* of the number of bat crossings according to habitat types (without 'S/S') with comparisons for each pair of detectors at each site. Site-scale comparisons of bat crossings between overpass pairs and the other pairs by GLMM (Bat crossings ~ Habitat types + 1|Date + 1|Site/Pairs). Bat crossings at the overpass were used as the reference (i.e. intercept) in the model. Values of estimates and SE are the gaps at the intercept. Back-transformed values are the values corresponding to the category.

Habitat types per pair	<i>n</i>	Estimates	SE	<i>z</i> value	<i>P</i>	Back-transformed value
Overpass (intercept)	14	1.796	0.487	/	/	6.025 (3.702, 9.806)
Agricultural land / Agricultural land	18	-2.968	0.563	-5.27	<0.001	0.309 (0.166, 0.577)
Forest / Agricultural land	15	-1.049	0.532	-1.97	0.04873	2.111 (1.179, 3.77)
Forest / Forest	27	-0.851	0.400	-2.13	0.03355	2.573 (1.598, 4.141)
Forest / Hedgerow	5	-1.406	0.860	-1.63	0.10215	1.477 (0.608, 3.589)

Statistical analysis for bat crossings adjusted by bat activity

In this analysis, we evaluated whether a habitat type was avoided or preferred for bat crossings. For that evaluation, we compared the ratio between the number of bat crossings with bat passes (log transformed value) (ratio) between an overpass point and a point without an overpass. This analysis was performed for all points in the 3 sites with a GLMM [R package lme4 (Bates *et al.* 2014)]. The response variable was the ratio, and the explanatory variable was the habitat type. According to the nature of our response variable (ratio), we performed GLMM with a binomial error distribution (link=logit). We included a first random effect of date in the model because all recorders were run simultaneously on the same night, allowing us to implicitly account for the conditions that night, such as the effects of weather.

In addition, we included a second random effect of acoustic recorder nested in site to account for the hierarchical sampling design. The ratio at the overpass was used as a reference (i.e. intercept) in the model. The difference in the number of recording nights between sites were taken into account with the random effect structure. The full model was written as follows:

$$\text{Ratio} \sim \text{Habitat types} + 1|\text{Date} + 1|\text{Site/Point}$$

As we had only one explanatory variable, there was no model selection. However, we compared it to a null model based on the Akaike weight of each model. We aimed to evaluate whether the quality of our model was good by comparing it to the null model (including only the random effects) using AIC (Burnham, Anderson & Huyvaert 2011; Mac Nally *et al.* 2017).

Table S5.2. Estimates, standard errors and *P* of the ratio between the number of bat crossings and bat passes according to habitat type compared for each detector point at each site. Comparisons of the ratio between the overpass point and the other points at the site scale by GLMM (Bat crossings $\sim$ Habitat types + 1|Date + 1|Site/Point). The ratio at the overpass was used as the reference (i.e. intercept) in the model. Values of the estimates and SE are the gaps at the intercept. Back-transformed values are the values corresponding to the shown category.

Habitat types per point	<i>n</i>	Estimates	SE	z value	<i>P</i>	Back-transformed value (ratio crossings / bat activity)
Overpass (intercept)	28	-1.5637	0.3151	/	/	0.173 (0.132, 0.223)
Agricultural land	51	-1.6272	0.377	-4.316	<0.001	0.039 (0.026, 0.058)
Forest	74	-0.4216	0.2349	-1.795	0.0727	0.121 (0.093, 0.155)
Hedgerow	5	-1.3929	1.0623	-1.311	0.1898	0.049 (0.017, 0.132)
Stream	10	-0.6078	0.5947	-1.022	0.3067	0.102 (0.058, 0.173)

For the 3 sites, the ratios between the number of bat crossings and bat activity according to habitat type showed that agricultural contexts were significantly avoided by crossing bats ($P < 0.001$) (Table S5.2). We compared the full models to a null model based on

the Akaike weight of each model. It was necessary to have 2-7 Δ AIC compared to the null model to determine whether this model was the best model (Burnham, Anderson & Huyvaert 2011). We had a Δ AIC>10 between the full models and the null model (Table S5.3).

Comparison of full models to a null model

Table S5.3. Comparison of models with an effect of a bat overpass to models without an effect of an overpass.

Bat crossings dependent on habitat types (first analysis in manuscript, Table 1)	AIC
<i>All bats in all sites</i>	
Model with habitat types	341.9
Null model	351.3
Site and models (second analysis):	
- for all bats, in manuscript, Fig. 5;	
- for <i>P. pipistrellus</i> and <i>P. kuhlii/nathusii</i> , in supporting information, Fig. S6.1)	AIC
Bat crossings at ML	
<i>All bats</i>	
Model with habitat context	117.7
Null model	143.4
<i>P. pipistrellus</i>	
Model with habitat context	92.3
Null model	107.8
<i>P. kuhlii/nathusii</i>	
Model with habitat context	78.3
Null model	92.8
Bat crossings at MP	
<i>All bats</i>	
Model with habitat context	137.9
Null model	161
<i>P. pipistrellus</i>	
Model with habitat context	77.1
Null model	90.6
<i>P. kuhlii/nathusii</i>	
Model with habitat context	116.7
Null model	136.2
Bat crossings at TR	
<i>All bats</i>	
Model with habitat context	151
Null model	190.3
<i>P. pipistrellus</i>	
Model with habitat context	148.3
Null model	187.6
<i>P. kuhlii/nathusii</i>	
Insufficient data	/

Ratio between bat crossings and bat passes (analysis in supporting information 5, Table S5.1)	AIC
<i>All bats in all sites</i>	
Model with habitat types	286.6
Null model	302

408

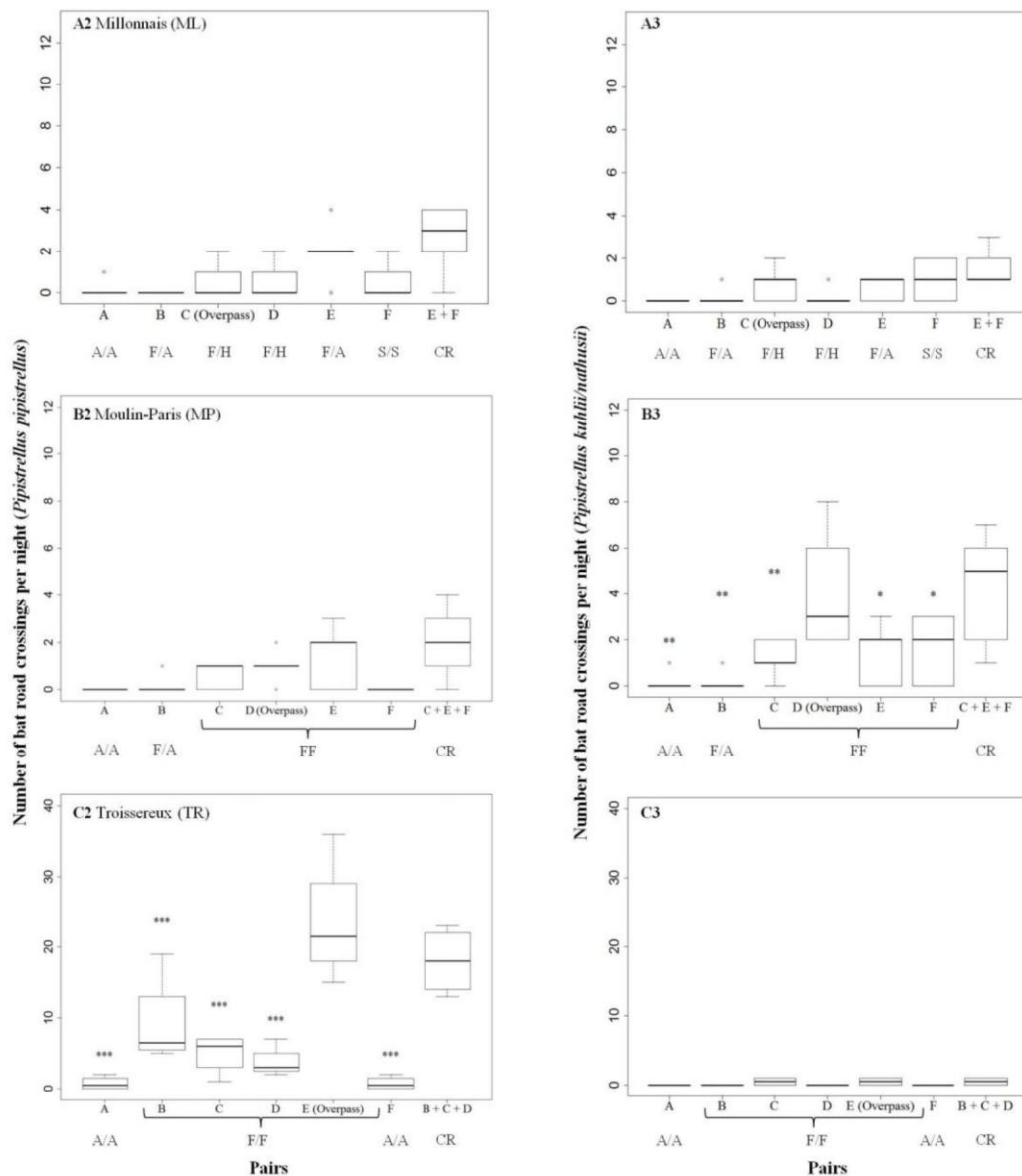


Figure S6.1. Number of bat road crossings (raw data) per night for *P. pipistrellus* (number 2) and *P. kuhlii/nathusii* (number 3) per pair of acoustic recorders per overpass (A, ML; B, MP; C, TR). Table S4.1 lists the number of bat crossings per pair. The habitat context (A, agricultural land; F, forest; H, hedgerow; S, stream; CR, commuting route) is included under the number of pairs. Comparisons of bat crossings between overpass pairs and the other pairs were calculated at site scale by GLMM for each species (Bat crossings ~ Pairs + 1|Date). Bat crossings at the overpass were used as the reference (i.e. intercept) in each model (***, $P < 0.001$; **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$).

References

- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B.M. & Walker, S. (2014) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *arXiv preprint arXiv:1406.5823*.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R. & Huyvaert, K.P. (2011) AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **65**, 23–35.
- Dupuy, A. & Yobokre, R. (2014) *Projet de Déviation RD 901 Troissereux (60); Dossier de Demande de Dérogation Aux Interdictions de Destruction d'espèces Animales et d'habitats d'espèces Animales Protégées*. Biositiv, D3 Société de la déviation de Troissereux.
- Letscher, R., Prat, C. & Vincent, S. (2007) *Expertise « Chiroptères » Dans Le Cadre Des Études Préalables à La Réalisation de l'A89 Tronçon Balbigny – Violay (Loire); 1ère Phase : Synthèse Des Données Existantes, Prospections Préliminaires*. Centre Ornithologique Rhône-Alpes, Groupe Chiroptères Rhône-Alpes.
- Mac Nally, R., Duncan, R.P., Thomson, J.R. & Yen, J.D.L. (2017) Model selection using information criteria, but is the ‘best’ model any good? *Journal of Applied Ecology*.
- Obrist, M.K., Boesch, R. & Flückiger, P.F. (2004) Variability in echolocation call design of 26 Swiss bat species: consequences, limits and options for automated field identification with a synergetic pattern recognition approach. *Mammalia*, **68**, 307–322.

ARTICLE N°5

Manuscript Number:

Title: Bat overpasses as an alternative solution to restore habitat
connectivity in the context of road requalification

Article Type: Short Communication

Keywords: Acoustic flight path reconstruction (AFPR); bat gantry; before-
after control-impact analysis (BACI); commuting route; crossing
structure; mitigation measure

Corresponding Author: Mr. Fabien Claireau, MS

Corresponding Author's Institution: Muséum national d'Histoire naturelle

First Author: Fabien Claireau, MS

Order of Authors: Fabien Claireau, MS; Yves Bas, Dr.; Sébastien J
Puechmaille, Dr.; Jean-François Julien, Dr.; Nathalie Machon, Pr.;
Benjamin Allegrini, MS; Christian Kerbirou, Dr.

Research Data Related to this Submission

Title: Data accessibility

Repository: Vigie-chiro

<https://vigiechiro.herokuapp.com/>

Bat overpasses as an alternative solution to restore habitat connectivity in the context of road requalification

Highlights

- We performed a BACI analysis to assess the efficiency of a bat overpass;
- An acoustic flight path reconstruction approach was used to quantify bat crossings;
- An overpass correctly placed could efficiently restore bat habitat connectivity.

Bat overpasses as an alternative solution to restore habitat connectivity in the context of road requalification

Author names: Claireau Fabien^{1,2,3}, Bas Yves¹, Puechmaille Sébastien J.^{2,4}, Julien Jean-François¹, Machon Nathalie¹, Allegrini Benjamin³, Kerbiriou Christian^{1,5}

Corresponding author: f.claireau@naturalia-envrionnement.fr

Running head: Bat overpasses as a mitigation measure.

Affiliations:

1) Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation (CESCO), Muséum national d'Histoire naturelle, Centre National de la Recherche Scientifique, Sorbonne Université, CP 135, 57 rue Cuvier 75005 Paris, France.

2) Zoology Institute and Museum, University of Greifswald, Soldmann-Str. 14, D – 17 489 Greifswald, Germany.

3) Naturalia environnement, Site Agroparc, Rue Lawrence Durell, 84 911 Avignon, France.

4) *Present address:* Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier (ISEM), Université de Montpellier, Centre National de la Recherche Scientifique, Institut de Recherche pour le Développement, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Place Eugène Bataillon - Cc 065 - 34 095 Montpellier cedex 05, France.

5) *Present address:* Station de Biologie Marine de Concarneau, Muséum national d'Histoire naturelle, BP 225, Place de la Croix, 29182 Concarneau cedex, France.

Bat overpasses as an alternative solution to restore habitat connectivity in the context of road requalification

Abstract

Roads have a multitude of negative effects on wildlife, including their prominent role in habitat fragmentation. Habitat fragmentation particularly affects bats during their nightly movements between roosts and foraging areas. Bat overpasses are among the proposed improvements intended to reduce the fragmentation impact of roads, but they have rarely been tested. In this study, we performed a Before-After Control-Impact analysis to assess the efficiency of one bat overpass on the number of bat crossings, by using an acoustic flight path reconstruction (AFPR) approach. We obtained 888 bat crossings of five taxa. Our results showed that the number of bat crossings increased significantly after the installation of the bat overpass. Finally, we demonstrated that an overpass correctly placed with respect to a narrow commuting route (a twenty meter wide hedgerow) could efficiently restore bat habitat connectivity.

Keywords: Acoustic flight path reconstruction (AFPR), bat gantry, before-after control-impact analysis (BACI), commuting route, crossing structure, mitigation measure.

1. Introduction

Transport has been identified as one of the ten main pressures on biodiversity (Maxwell et al., 2016) because it contributes to habitat destruction, causes habitat degradation and fragmentation barrier effects, light and noise disturbance, chemical pollution and direct mortality by collision with vehicles (Forman and Alexander, 1998; Forman and Deblinger, 2000; Trombulak and Frissell, 2000). These dramatic changes in landscape configurations

have consequences on the overall functionality of ecosystems, from individual behaviour all the way up to population dynamics (Krauss et al., 2010; Quinn and Harrison, 1988; Saunders et al., 1991). Indeed, the cumulative ecological effect of the road system on biodiversity at landscape scale (i.e., the road effect-zone) can extend 100 to 800 m depending the type of road, the traffic volume and the habitat crossed by roads (Forman, 2000; Forman and Deblinger, 2000).

Until recently few studies were focused on the impact of roads on bats, while, according to their life cycle (i.e. low fecundity, late maturation), population growth rate heavily depends on adult survival. Thus road mortality is expected to increase their local extinction risk (Medinas et al., 2013). Recent studies have highlighted that roads have a negative impact on the movement and activity of insectivorous bats (Abbott et al., 2015; Bennett and Zurcher, 2013; Berthinussen and Altringham, 2012a; Fensome and Mathews, 2016; Kitzes and Merenlender, 2014). Indeed, connectivity in the landscape is a key element for bats because it fosters nightly movements between roost and foraging areas (Frey-Ehrenbold et al., 2013). Hale *et al.* (2012) demonstrated that bat activity in a habitat patch (e.g., ponds) increased with the degree of connectivity of the surrounding landscape. Moreover, Pinaud *et al.* (2018) established that bat movements are significantly affected by gap width: the probability of crossing decreases from 80 % for gaps smaller than 10 m to less than 50 % for gaps larger 38 m (i.e. similar to a gap caused by major roads).

In addition to its existing size, the roadway network has experienced a worldwide length increase: 12 million additional lane-km since 2000, and expectations are that there will be further growth of nearly 25 million paved lane-km by 2050 (Dulac, 2013). Hence, there is an urgent need for timely action to facilitate the safe movement of animals across landscapes fragmented by roads or other forms of linear infrastructure, such as the creation of fauna

crossing structures to increase landscape connectivity and reduce mortality (Smith et al., 2015).

In order to reduce road impacts and restore habitat connectivity for bats, a range of mitigation measures have been proposed, including bat overpasses (Møller et al., 2016). Bat overpasses are supposed to function as linear features (e.g., hedgerows) that attract and guide bats across the roads above traffic and are thus recommended in the mitigation hierarchy. However, while more bat overpasses are likely to be setup across Europe, Møller *et al.* (2016) highlighted that the current recommendation targets for policy makers and road managers are inadequately implemented or have never had their efficacy been proven. These authors stressed the need for soundly designed research on bat overpasses involving Before-After Control-Impact (BACI) approaches and including behavioral studies to evaluate the efficiency of these overpasses for bats.

Thus, the aim of our study was to evaluate whether bat overpasses, as a recommended mitigation measure, contribute to the restoration of connectivity among habitats severed by roads, using a BACI analysis. We assessed the number of bat crossings where an overpass was installed, using an acoustic flight path reconstruction (AFPR) approach. This overpass bisects a hedgerow in an agricultural landscape in Western France. The experiment was operated from April to September 2016 before the bat overpass was added and from May 2017 to May 2018 after its establishment.

2. Methods

2.1. Study site

The study was carried out in France which experienced a road increase of 12% between 1995 and 2015 (MEEM, 2017), and is expected to see an increase of 0.06% in primary roads by 2030 (i.e., 673 km) (DGITM, 2011).

We studied one bat overpass located in a rural areas (intensive farming) near Niort (46°24'W, 0°35'W) on the A83 highway (tarmac; 4 lanes with an emergency lane on each side; speed limit: 130 km/h; annual average daily traffic: 16 218 vehicles in 2015) (Fig. 1). This highway became operational in 2001 and the bat overpass was permanently installed in May 2017.

2.2. Placement and features of bat overpass

The choice of location for the bat overpass followed on from the conclusions of a field study conducted by consulting firm Naturalia Environnement in October 2015. They identified a bat commuting route in an agricultural landscape bisected by a highway. This commuting route is a large hedgerow (a disused railway, closed in 1971, and completely reforested, 20 m wide) that connects two main rivers (Fig. 1).

The bat overpass consists of a gantry without road signs (length: 31,5 m, height: 6 m) (Fig. 1). Instead of road sign, a diamond mesh metal grate was installed on the gantry in order to reflect bat echolocation signals more efficiently (grate height: 1,5 m; diamond mesh: 4,13 X 1,3 cm) (Fig. 1). In addition, ten trees were planted on both sides of the highway in order to guide bats from the hedge to the bat overpass.

2.3. Sampling design

For the sampling, we designed a BACI analysis, a sound and effective approach to assess the impact of the installation of the bat overpass. In order to quantify the number of bat crossings, we placed two automatic acoustic recorders: SM2Bat+ (Wildlife Acoustics Inc., Concord, MA, USA), one on each side of the overpass location (i.e., treatment) and in a control site. The control and experimental sites were located as close as possible to each other. As there are no other hedges severed by the highway in the same context in a radius of 5 km,

we have positioned the control at 215 m from treatment at the level of the hedge parallel to the road (Fig. 1). Accounting for the species existing in the study area and their respective distance of detection (Barataud, 2015), the distance between the treatment and the control site is sufficient for avoiding the simultaneous recording of the same bat crossing event. This control also takes into account annual and seasonal variations in bat crossings.

Acoustic recorders recorded two independent tracks with 2 microphones spaced 2,1 m to 3,5 m apart plugged into the same recorder (Fig. B.1). One microphone was placed facing the road and the other facing the natural habitat perpendicular to the road. This placement of microphones allowed us to characterize the bat crossings based on the AFPR approach developed in Claireau *et al.* (in revision) (appendix A).

2.4. Acoustic survey

The BACI experiment was conducted from April 2016 to May 2018. We performed the acoustic survey during a period of 25 nights before the installation of the bat overpass (6 sessions from April 2016 to September 2016), and 25 nights following the installation (5 sessions from May 2017 to May 2018). We recorded the treatment and control site simultaneously for 4 or 5 successive nights each month (from 30 min before sunset to 30 min after sunrise). The detectors were set to automatically trigger in response to any sound at a frequency of between 8 and 192 KHz and a signal-to-noise-ratio (SNR) level above 6 dB (more information in appendix B).

2.5. Species identification

Recordings were processed and automatically analysed with *Tadarida* (Bas et al., 2017). This software toolbox automatically detects and extracts sound features of recorded

call sequences and classifies them according to a confidence index if emitted by a defined species or group of species using Random Forest as a classification algorithm.

In addition to the calls assigned to *Pipistrellus pipistrellus* and *Barbastella barbastellus*, we defined three groups: *P. kuhlii/nathusii*, '*Eptesicus/Nyctalus*' (*Eptesicus serotinus* and *Nyctalus spp.*) and 'gleaners' (*Plecotus spp.* and *Myotis spp.*) as contacts with these taxa were difficult to identify with certainty at the species level (Obrist et al., 2004). Moreover, suspect bat calls involved in bat crossings detected by the AFPR approach were checked manually using BatSound© software (Pettersson Elektronik AB, Sweden).

2.6. Statistical analyses

In our study, we quantified the number of bat crossings at the treatment and at control site before and after the installation of the bat overpass. The response variable in our analyses was 'Bat crossings'. The explanatory variables were the 'Pair' (i.e., control or treatment) and the interaction between 'Pair' and 'Period' (i.e., before or after). According to the nature of our response variable (count data and potential over-dispersion), we performed a generalized linear mixed model (GLMM) with the *glmer* function (R package *lme4*) with a negative binomial error distribution and a log link (Zuur et al., 2009). We included a random effect on 'Date' allowing us to implicitly account for the conditions of nights, such as the effects of weather, the temporal correlation and the seasonal effects. The full model was written as follows:

'Bat crossings' ~ 'Pair' + 'Pair:Period' + 1|'Date'

We evaluated the quality of our model by comparing it to the null model using Akaike's information criterion (AIC) (Mac Nally et al., 2017).

3. Results

Among the 888 bat crossings detected: 75,8 % were assigned to *P. pipistrellus*, 11,5 % to *P. kuhlii/nathusii*, 7,3 % to *B. barbastellus*, 3,8 % to '*Eptesicus/Nyctalus*' and 1,6 % to gleaners (Table C.1 & C.2).

We detected more bat crossings at the treatment than at the control ($P < 0.001$, Table 1), and we did not find a change of bat crossings between the two periods (i.e., before and after the bat overpass establishment) at the control site ($P = 0.165$, Table 1) while we detected an increase of bat crossings between the two periods at the treatment site ($P = 0.001$, Table 1). These significant interaction effects indicated a positive effect as a result of the bat overpass on bat crossings for the whole set of bats analysed together ($\chi^2 = 15.264$, $df = 2$, $P < 0.001$) (Table 1). For the following species or group: *P. pipistrellus*, *P. kuhlii/nathusii* and *B. barbastellus*, results showed a similar effect (Table 1).

Regarding taxa for which the establishment of the overpass had a significant positive effect on bat crossings, there was a difference of at least 24.5 points in AIC between the model and the null model (Table 1).

4. Discussion

Our experiment based on a BACI design demonstrated that bat crossings increased significantly after the installation of the bat overpass and thus that it likely contributes to the restoration of habitat connectivity.

Our study is the first to find a positive effect from gantries on bat crossings while two studies found the reverse (Berthinussen and Altringham, 2012b; Claireau et al., in revision). The difference compared to these previous studies may be in the sampling design (i.e., our study is the only one based on BACI, a robust and powerful approach). A non-exclusive

alternative hypothesis is the importance of the placement of bat overpasses (i.e. in our study the bat overpass was placed with respect to a narrow commuting route).

Furthermore, even if we have shown that bat overpasses can aid in the restoration of habitat connectivity, we would still need to assess whether or not the bats fly at a safe height in order to know if the bat overpasses are actually efficient. Moreover, there is a need to confirm our results through other studies dealing with different overpass structures and landscapes. Here, our unique study site was located in an agricultural landscape dominated by intensive farming with a unique bat commuting route (a large hedgerow) bisected by a highway.

5. Conclusions

Assuming that bat overpasses restore commuting routes, it appears to be a possible solution to restoring habitat connectivity where hedgerows are bisected by large roads for road requalification. For future road construction, we advocate for the assessment of loss of connectivity with the aim of evaluating connectivity gains obtained by mitigation measures, including bat overpasses, in order to understand if they are fully effective or not - and thus if other mitigation measures might be more effective in achieving a not net loss.

Acknowledgements

We would like to sincerely thank our partners, especially Cédric Heurtebise from “Vinci-autoroutes”. Thanks go to Jacob Porteous for editing the manuscript and to Koox-production for drone photography of the study site.

Funding sources

This research was supported by “Naturalia Environnement” and “Association Nationale de la Recherche et de la Technologie” (grant number: 2015/0893).

Data accessibility

The acoustic data are posted with the citizen science programme “VigieChiro” (<https://vigiechiro.herokuapp.com/>)

Appendices

The appendix A describes the AFPR approach; the appendix B, the additional material and methods; the appendix C, the additional results. They may be found in the online version of this article.

References

- Abbott, I.M., Berthinussen, A., Stone, E., Boonman, M., Melber, M., Altringham, J., 2015. Bats and roads, in: *Handbook of Road Ecology*. John Wiley & Sons, Ltd., pp. 290–299.
- Barataud, M., 2015. *Acoustic Ecology of European Bats; Species Identification, Study of their Habitats and Foraging Behaviour, Inventaires & biodiversité*. National Museum of Natural History, Paris ; Biotope, Mèze.
- Bas, Y., Bas, D., Julien, J.-F., 2017. Tadarida: A Toolbox for Animal Detection on Acoustic Recordings. *J. Open Res. Softw.* 5, 8. <https://doi.org/10.5334/jors.154>
- Bennett, V.J., Zurcher, A.A., 2013. When corridors collide: Road-related disturbance in commuting bats. *J. Wildl. Manag.* 77, 93–101. <https://doi.org/10.1002/jwmg.467>
- Berthinussen, A., Altringham, J., 2012a. The effect of a major road on bat activity and diversity: Effect of a major road on bat activity. *J. Appl. Ecol.* 49, 82–89. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2011.02068.x>
- Berthinussen, A., Altringham, J., 2012b. Do bat gantries and underpasses help bats cross roads safely? *PloS One* 7, e38775.
- Claireau, F., Bas, Y., Puechmaille, S.J., Julien, J.F., Allegrini, B., Kerbiriou, C., in revision. Bat overpasses: an insufficient solution to restore habitat connectivity across roads. *J. Appl. Ecol.*
- DGITM, 2011. *Schéma national des infrastructures de transport*. Ministère de l'Écologie, du Développement durable, des Transports et du Logement.
- Dulac, J., 2013. *Global Land Transport Infrastructure Requirements; Estimating road and railway infrastructure capacity and costs to 2050*. International Energy Agency.
- Fensome, A.G., Mathews, F., 2016. Roads and bats: a meta-analysis and review of the evidence on vehicle collisions and barrier effects. *Mammal Rev.* 46, 311–323. <https://doi.org/10.1111/mam.12072>

- Forman, R.T.T., 2000. Estimate of the Area Affected Ecologically by the Road System in the United States. *Conserv. Biol.* 14, 31–35. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2000.99299.x>
- Forman, R.T.T., Alexander, L.E., 1998. Roads and their major ecological effects. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29, 207–231. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.207>
- Forman, R.T.T., Deblinger, R.D., 2000. The Ecological Road-Effect Zone of a Massachusetts (U.S.A.) Suburban Highway. *Conserv. Biol.* 14, 36–46. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2000.99088.x>
- Frey-Ehrenbold, A., Bontadina, F., Arlettaz, R., Obrist, M.K., 2013. Landscape connectivity, habitat structure and activity of bat guilds in farmland-dominated matrices. *J. Appl. Ecol.* 50, 252–261. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12034>
- 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, e33300. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033300>
- Kitzes, J., Merenlender, A., 2014. Large Roads Reduce Bat Activity across Multiple Species. *PLoS ONE* 9, e96341. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096341>
- Krauss, J., Bommarco, R., Guardiola, M., Heikkinen, R.K., Helm, A., Kuussaari, M., Lindborg, R., Öckinger, E., Pärtel, M., Pino, J., Pöyry, J., Raatikainen, K.M., Sang, A., Stefanescu, C., Teder, T., Zobel, M., Steffan-Dewenter, I., 2010. Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels: Immediate and time-delayed biodiversity loss. *Ecol. Lett.* 13, 597–605. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01457.x>
- Mac Nally, R., Duncan, R.P., Thomson, J.R., Yen, J.D.L., 2017. Model selection using information criteria, but is the ‘best’ model any good? *J. Appl. Ecol.* <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13060>
- Maxwell, S.L., Fuller, R.A., Brooks, T.M., Watson, J.E.M., 2016. Biodiversity The ravages of guns, nets and bulldozers. *Nature* 536, 143–145. <https://doi.org/10.1038/536143a>
- Medinas, D., Marques, J.T., Mira, A., 2013. Assessing road effects on bats: the role of landscape, road features, and bat activity on road-kills. *Ecol. Res.* 28, 227–237. <https://doi.org/10.1007/s11284-012-1009-6>
- MEEM, 2017. Chiffres clés du transport - Édition 2017, DataLab. Ministère de l’environnement, de l’énergie et de la mer, en charge des relations internationales sur le climat.
- Møller, J.D., Dekker, J., Baagøe, H.J., Garin, I., Alberdi, A., Christensen, M., Elmeros, M., 2016. Effectiveness of mitigating measures for bats – a review. CEDR Transnational Road Research Programme.
- Obrist, M.K., Boesch, R., Flückiger, P.F., 2004. Variability in echolocation call design of 26 Swiss bat species: consequences, limits and options for automated field identification with a synergetic pattern recognition approach. *Mammalia* 68, 307–322.
- Pinaud, D., Claireau, F., Leuchtmann, M., Kerbiriou, C., 2018. Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance. *J. Appl. Ecol.* <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13228>
- Quinn, J.F., Harrison, S.P., 1988. Effects of habitat fragmentation and isolation on species richness: evidence from biogeographic patterns. *Oecologia* 75, 132–140.
- Saunders, D.A., Hobbs, R.J., Margules, C.R., 1991. Biological Consequences of Ecosystem Fragmentation: A Review. *Conserv. Biol.* 5, 18–32. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1991.tb00384.x>
- Smith, D.J., van der Ree, R., Rosell, C., 2015. Wildlife Crossing Structures: An Effective Strategy to Restore or Maintain Wildlife Connectivity Across Roads, in: *Handbook of Road Ecology*. John Wiley & Sons, Ltd., pp. 172–183.
- Trombulak, S.C., Frissell, C.A., 2000. Review of Ecological Effects of Roads on Terrestrial and Aquatic Communities. *Conserv. Biol.* 14, 18–30. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2000.99084.x>
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A., Smith, G.M., 2009. *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer-Verlag, New York.

288 **Tables**

289 **Table 1:** Estimates, standard errors and *P* of the number of bat crossings at the control and the treatment before and after the bat overpass
290 establishment. The control and the after period are the intercept in this model's summary.

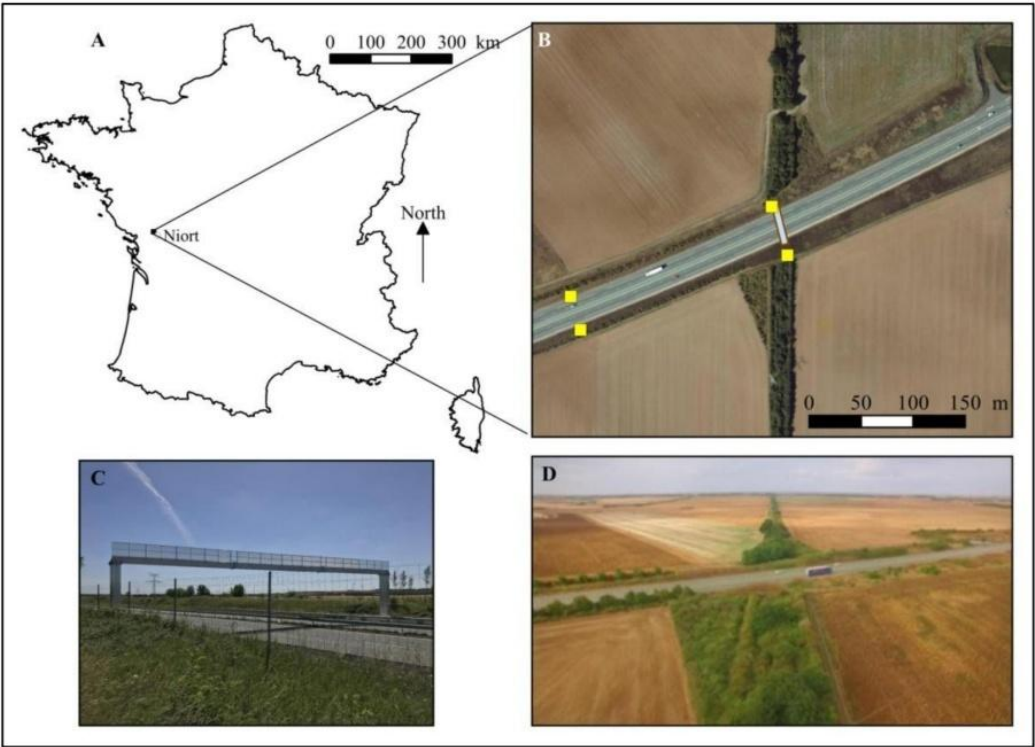
GLMM: 'Bat crossings' ~ 'Pair' + 'Pair:Period' + 1|'Date'

	All bats			<i>P. pipistrellus</i>			<i>P. kuhlii/nathusi</i>			<i>B. barbastellus</i>			' <i>Eptesicus/Nyctalus</i> '			Gleaners		
	β	SE	p-value	β	SE	p-value	β	SE	p-value	β	SE	p-value	β	SE	p-value	β	SE	p-value
(Intercept)	-0.438	0.310	0.158	-1.886	0.440	<0.001	-2.888	0.665	<0.001	-20.826	23.869	0.383	-1.127	0.485	0.020	-19.481	3075.657	0.995
PairTreatment	2.994	0.182	<0.001	3.958	0.324	<0.001	3.106	0.594	<0.001	20.938	23.871	0.380	-0.975	0.454	0.032	17.886	3075.657	0.995
PairControl:Periodbefore	-0.665	0.479	0.165	-0.466	0.699	0.505	0.962	0.805	0.232	17.005	23.890	0.477	-2.844	1.124	0.011	15.812	3075.658	0.996
PairTreatment:Periodbefore	-1.313	0.378	0.001	-1.237	0.442	0.005	-1.094	0.496	0.027	-1.371	0.489	0.005	-0.085	0.726	0.907	-0.465	0.726	0.522
AIC full model	535.4			428.3			236.5			163.0			143.5			83.8		
AIC nul model	569.0			1211.6			261.0			204.5			143.2			90.1		

Anova(GLMM)

	All bats			<i>P. pipistrellus</i>			<i>P. kuhlii/nathusi</i>			<i>B. barbastellus</i>			' <i>Eptesicus/Nyctalus</i> '			Gleaners		
	Chisq	df	p-value	Chisq	df	p-value	Chisq	df	p-value	Chisq	df	p-value	Chisq	df	p-value	Chisq	df	p-value
Pair	346.920	1	<2.2e-16	196.574	1	<2.2e-16	29.097	1	0.000	8.775	1	0.003	3.429	1	0.064	2.321	1	0.128
Pair:Period	15.264	2	<0.001	9.382	2	0.009	11.112	2	0.004	8.430	2	0.015	6.699	2	0.035	0.409	2	0.815

292 **Figure with legends**



293
294 **Figure 1:** A. Location of study site. B. Sampling plan: acoustic recorders (yellow squares)
295 and bat overpass (solid blue line). C. Picture of the gantry D. Picture of the study site before.
296 (Source: Institut national de l'information géographique et forestière, Koox-production/Vinci-
297 autoroutes).

Bat overpasses as an alternative solution to restore habitat connectivity in the context of road requalification

Appendices

The appendix A describes the AFPR approach; the appendix B, the additional material and methods; the appendix C, the additional results. They may be found in the online version of this article.

Appendix A: Acoustic flight path reconstruction (AFPR) approach.

To determine the number of bat crossings, we used an innovative method: AFPR approach (the two open source scripts in R are available in the online repository: <https://github.com/FabienClaireau>) developed in Claireau et al. (in revision).

First, for each acoustic recorder, we calculated the time difference of arrival (TDOA) for each bat pass, allowing the recorder to detect whether a bat crossed the median plane of the two microphones and in which direction it went. To calculate the TDOA, we needed to obtain the time-frequency features of each echolocation call. For that purpose, the .wav files were processed by the open software *Tadarida-L* 1.0.2 (Bas, Bas & Julien 2017; github.com/YvesBas/Tadarida-L).

When the bat was in the left plane, closer to the road than to the median plane, the TDOA took a positive value and vice versa (Fig. A.1 B). When a change of sign was observed in more than 10% of the calls, we assumed that the bat had crossed the median plane. According to the spatial design of our microphones (i.e., at a right angle to the road), we could determine whether a bat coming from a habitat was headed towards the road (TDOA changing from negative to positive) or if a bat coming from the road was exiting the road (TDOA changing from positive to negative) (Fig. A.1 C). Hence, to identify a bat crossing,

the detection of a bat on all four microphones (two microphones on both sides of the road) was required.

Then, we used species identity and the time elapsed as the two criteria to match the entering and exiting flights on each side of the road to detect road crossing events. The time elapsed ($\bar{x}$: 23.21 s; min: 13.1 s; max: 38.6 s) was defined according to the distance between the paired of acoustic recorders and the expected bat flight speed (approximately 4-15 m.s⁻¹) (Fig. A.1 C). A pair of acoustic recorders can detect bats at an average distance of 25 m for common species, such as *Pipistrellus spp.* (Barataud, 2015). This detection distance must be taken into account for the placement of pairs of acoustic recorders along the road to avoid recording and hence counting the same bat with two separate pairs.

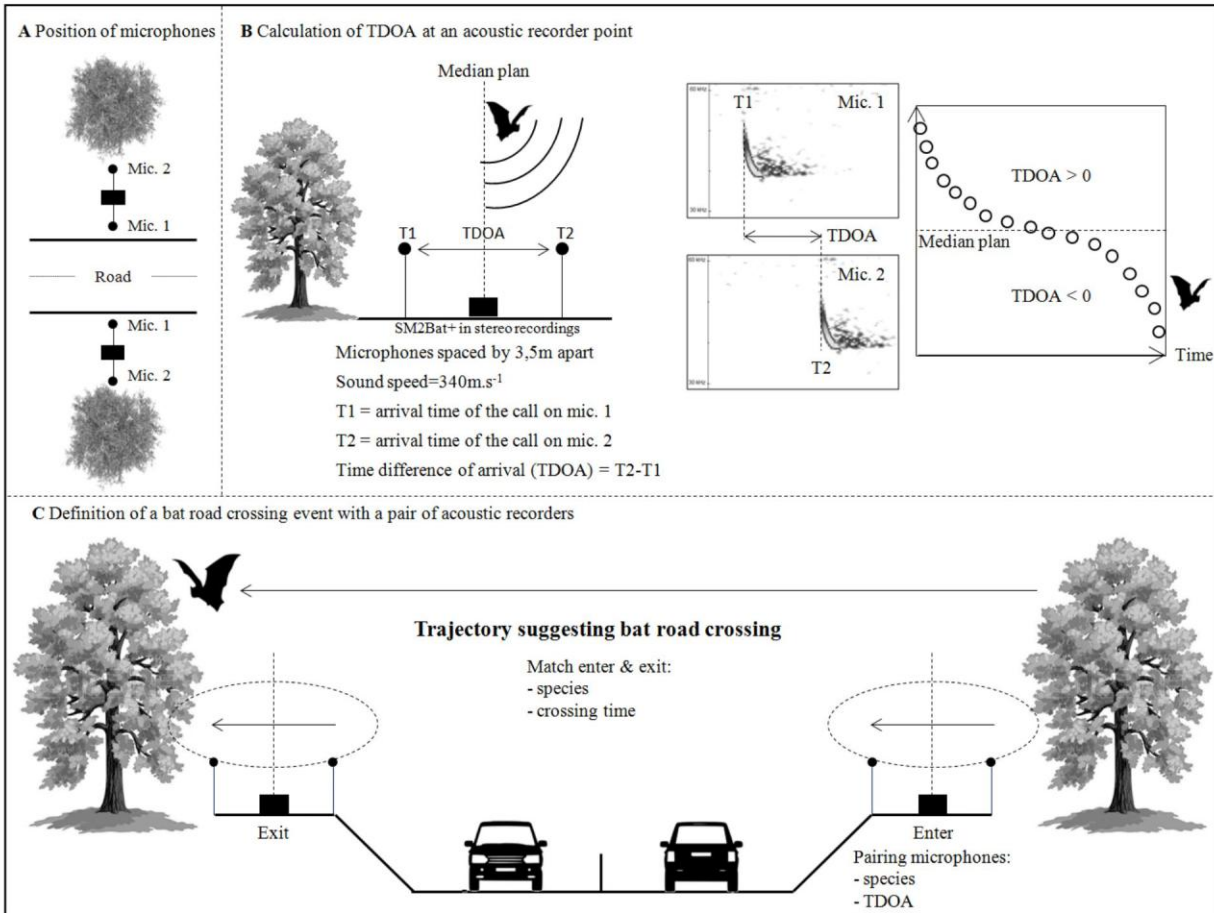


Figure A.1 A. Positions of the microphones: the left channel (mic 1) facing the road and the right channel (mic 2) facing the habitat context and perpendicular to the road. **B.** Calculation

of the time difference of arrival (TDOA). **C.** We defined a crossing when a bat who entered the road on one side was detected exiting the road. As it was not possible to identify individual bats based on their commuting/foraging calls, we matched entering and exiting using two criteria: species identity and time elapse.

Appendix B: Additional material and methods

As we used two models of omnidirectional ultrasonic microphones (SMX-US and SMX-U1, Wildlife Acoustics Inc., Concord, MA, USA), we performed tests to compare their sensitivity. The results showed no significant difference between microphones (bat pass duration and triggering distance), hence the data have been analysed without considering the model of microphone as a covariate.

To carry out species identification from acoustic recordings, we first used the Kaleidoscope© software (Wildlife Acoustics Inc., Concord, MA, USA) to extract .wav file from the recorded .wac files. A time expansion factor of 10 was specified and we split channels using 5 s as a maximum duration.

56 **Appendix C:** Additional results

57 **Table C.1:** Number of bat crossings per species or group before and after the installation of the bat overpass according to the treatment and
58 the control.

Period	Location	Species					Total
		<i>P. pipistrellus</i>	<i>P. kuhlii/nathusi</i>	<i>B. barbastellus</i>	<i>'Eptesicus/Nyctalus'</i>	Gleaners	
Before	Control	5	8	1	1	1	16
	Treatment	121	23	13	6	5	168
After	Control	10	3	0	20	0	33
	Treatment	537	68	51	7	8	671
Total		673	102	65	34	14	888

59

60 **Table C.2.** Number of bat crossings per date, per pair and per species or group

Date	DateCategory	Period	Pair	All bats	<i>P. pipistrellus</i>	<i>P. kuhlii/nathusi</i>	<i>B. barbastellus</i>	<i>'Eptesicus/Nyctalus'</i>	Gleaners
20160404	D20160404	Before	Control	0	0	0	0	0	0
20160404	D20160404	Before	Impact	0	0	0	0	0	0
20160405	D20160405	Before	Control	0	0	0	0	0	0
20160405	D20160405	Before	Impact	6	5	0	1	0	0
20160406	D20160406	Before	Control	0	0	0	0	0	0
20160406	D20160406	Before	Impact	1	1	0	0	0	0
20160407	D20160407	Before	Control	0	0	0	0	0	0
20160407	D20160407	Before	Impact	5	5	0	0	0	0
20160509	D20160509	Before	Control	0	0	0	0	0	0
20160509	D20160509	Before	Impact	0	0	0	0	0	0
20160510	D20160510	Before	Control	0	0	0	0	0	0
20160510	D20160510	Before	Impact	3	2	1	0	0	0
20160511	D20160511	Before	Control	1	0	1	0	0	0
20160511	D20160511	Before	Impact	6	3	0	3	0	0
20160512	D20160512	Before	Control	0	0	0	0	0	0
20160512	D20160512	Before	Impact	20	14	0	4	0	2

Date	DateCategory	Period	Pair	All bats	<i>P. pipistrellus</i>	<i>P. kuhlii/nathusi</i>	<i>B. barbastellus</i>	<i>'Eptesicus/Nyctalus'</i>	Gleaners
20160920	D20160920	Before	Impact	1	0	0	1	0	0
20170612	D20170612	After	Control	1	0	1	0	0	0
20170612	D20170612	After	Impact	4	4	0	0	0	0
20170613	D20170613	After	Control	0	0	0	0	0	0
20170613	D20170613	After	Impact	8	6	1	1	0	0
20170614	D20170614	After	Control	0	0	0	0	0	0
20170614	D20170614	After	Impact	6	1	5	0	0	0
20170615	D20170615	After	Control	0	0	0	0	0	0
20170615	D20170615	After	Impact	72	46	14	12	0	0
20170616	D20170616	After	Control	1	0	0	0	1	0
20170616	D20170616	After	Impact	81	56	17	6	1	1
20170718	D20170718	After	Control	0	0	0	0	0	0
20170718	D20170718	After	Impact	5	0	3	2	0	0
20170719	D20170719	After	Control	0	0	0	0	0	0
20170719	D20170719	After	Impact	5	0	3	0	1	1
20170720	D20170720	After	Control	1	0	0	0	1	0
20170720	D20170720	After	Impact	0	0	0	0	0	0
20170721	D20170721	After	Control	2	0	0	0	2	0
20170721	D20170721	After	Impact	2	1	0	1	0	0
20170813	D20170813	After	Control	0	0	0	0	0	0
20170813	D20170813	After	Impact	3	2	1	0	0	0
20170814	D20170814	After	Control	1	1	0	0	0	0
20170814	D20170814	After	Impact	3	2	0	0	0	1
20170815	D20170815	After	Control	0	0	0	0	0	0
20170815	D20170815	After	Impact	4	3	0	0	1	0
20170816	D20170816	After	Control	4	4	0	0	0	0
20170816	D20170816	After	Impact	10	9	0	1	0	0
20170817	D20170817	After	Control	3	2	1	0	0	0
20170817	D20170817	After	Impact	11	6	3	1	0	1
20170818	D20170818	After	Control	2	1	1	0	0	0
20170818	D20170818	After	Impact	8	6	1	1	0	0
20170918	D20170918	After	Control	0	0	0	0	0	0
20170918	D20170918	After	Impact	27	24	2	1	0	0

Date	DateCategory	Period	Pair	All bats	<i>P. pipistrellus</i>	<i>P. kuhlii/nathusi</i>	<i>B. barbastellus</i>	<i>'Eptesicus/Nyctalus'</i>	Gleaners
20170919	D20170919	After	Control	10	0	0	0	10	0
20170919	D20170919	After	Impact	67	56	2	9	0	0
20170920	D20170920	After	Control	1	0	0	0	1	0
20170920	D20170920	After	Impact	12	9	0	1	0	2
20170921	D20170921	After	Control	6	2	0	0	4	0
20170921	D20170921	After	Impact	49	46	1	1	1	0
20170922	D20170922	After	Control	0	0	0	0	0	0
20170922	D20170922	After	Impact	130	118	7	2	1	2
20180514	D20180514	After	Control	0	0	0	0	0	0
20180514	D20180514	After	Impact	30	26	0	3	1	0
20180515	D20180515	After	Control	0	0	0	0	0	0
20180515	D20180515	After	Impact	44	40	0	4	0	0
20180516	D20180516	After	Control	1	0	0	0	1	0
20180516	D20180516	After	Impact	75	66	5	3	1	0
20180517	D20180517	After	Control	0	0	0	0	0	0
20180517	D20180517	After	Impact	13	8	3	2	0	0
20180518	D20180518	After	Control	0	0	0	0	0	0
20180518	D20180518	After	Impact	2	2	0	0	0	0

62 **References**

- 63 Barataud, M., 2015. Acoustic Ecology of European Bats; Species Identification, Study of their
64 Habitats and Foraging Behaviour, Inventaires & biodiversité. National Museum of Natural
65 History, Paris ; Biotope, Mèze.
- 66 Bas, Y., Bas, D., Julien, J.-F., 2017. Tadarida: A Toolbox for Animal Detection on Acoustic
67 Recordings. J. Open Res. Softw. 5, 8. <https://doi.org/10.5334/jors.154>
- 68 Claireau, F., Bas, Y., Puechmaille, S.J., Julien, J.F., Allegrini, B., Kerbiriou, C., in revision. Bat
69 overpasses: an insufficient solution to restore habitat connectivity across roads. J. Appl. Ecol.
70

SYNTHESE N°2

DEVELOPPEMENT D'UN OUTIL DE TRAJECTOGRAPHIE DES CHAUVES-SOURIS A PARTIR D'IMAGES THERMIQUES : LE BAT TRACKING TOOLBOX (BTT)

Contribution des auteurs : Fabien Claireau (FC), Yves Bas (YB), Benjamin Allegrini (BA), Christian Kerbiriou (CK) et Sébastien J. Puechmaille (SJP) ont conçu la question de recherche. FC, FCh et YB, le plan d'échantillonnage. FC et Flavien Charton (FCh) ont récolté les données. Cédric De Almeida Braga (CDAB), FCh et YB ont établi les algorithmes. FC a écrit le résumé ci-après. FC, CK, YB, FCh et CDAB ont participé à la réflexion. FC et YB ont dirigé l'ensemble de la question de recherche.

1. Introduction

Pour préserver et rétablir les connectivités rompues par les infrastructures de transport des ouvrages dédiés aux chauves-souris, ont été récemment mis en œuvre (Møller *et al.* 2016). Ces ouvrages nommés chiroptéroducts (*bat overpass*) n'ont que très peu fait l'objet d'évaluations et ce en partie lié à l'absence de méthode consensuelle pour évaluer efficacement ces mesures. L'efficacité de ces mesures de restauration des continuités reste donc théorique (Claireau *et al.* in revision; Berthinussen & Altringham 2012b).

Selon Berthinussen & Altringham (2015), ces chiroptéroducts pourraient être considérés comme efficace s'il était avéré qu'ils sont empruntés par au moins 90 % des Chiroptères et ce à une hauteur suffisante pour prévenir les risques de collision, hauteur fixée à 5 mètres (Berthinussen & Altringham 2012b). Ce type de relevés ne peut se baser uniquement sur des observations visuelles, difficilement répétables et très subjectives (Magnusson *et al.* 2015). Si nous avons pu élaborer une méthodologie permettant une évaluation quantitative du nombre de passages effectués sur les structures dédiées (articles 4 et 5), des mesures

comportementales permettant notamment d'estimer les hauteurs de passage sont des éléments clés (Smith *et al.* 2017). C'est pourquoi, dans le cadre des évaluations environnementales, certaines expertises mobilisent désormais la vidéo pour évaluer les comportements des chauves-souris. Cependant, l'analyse des données recueillies est encore manuelle, ce qui présente des inconvénients majeurs.

En effet, l'analyse manuelle d'enregistrements vidéos est reconnue pour être chronophage et coûteuse. Cela a pour conséquence de limiter la quantité de données pouvant être traitées. A cela s'ajoute les biais associés à l'analyse manuelle (subjectivité de l'observateur, effet d'apprentissage) qui limitent les comparaisons (avant-après installation de la structure, entre sites, entre type de structures...), (Duberstein *et al.* 2012; Beyan & Fisher 2013; Matzner, Cullinan & Duberstein 2015; Atanbori *et al.* 2016). Du fait de l'absence d'outil automatisant l'analyse de données vidéos pour la reconstruction de trajectoires de vol de chauves-souris, nous nous sommes investis dans la création d'un tel outil.

Pour l'étude comportementale des chauves-souris, s'agissant d'un animal nocturne, l'utilisation d'une caméra thermique ou infrarouge est recommandée (Smith, van der Ree & Rosell 2015). La capacité de ces animaux à émettre de la chaleur corporelle (c.-à-d., émissivité) est proche de 0,98, ce qui en fait de bons candidats pour l'observation nocturne par imagerie thermique (Monteith & Unsworth 2013). Néanmoins, il s'agit d'un matériel assez coûteux (ex. : Flir T640bx : env. 30 000€ HT). Et bien que l'utilisation d'une seule caméra est suffisante pour l'acquisition de données de comptage et l'observation d'activité générale des chauves-souris (Matzner, Cullinan & Duberstein 2015), elle suscite différents problèmes pour l'automatisation. En effet, l'observation à une seule caméra avec un fond complexe (ex. : pour notre cas d'étude : autoroute, haies, talus et ciel) nécessite de gérer la détection d'un "bruit de

fond" (mouvement du feuillage, passage de véhicules...) bruit, ainsi que des occlusions plus ou moins longues [c.-à-d., disparition d'un objet (ex. : chauves-souris) sur une ou plusieurs images] (Breitenstein *et al.* 2011).

Les objectifs de cet outil sont :

- réduire le temps d'analyse (car les vérifications sont actuellement faites par revisionnage de toutes les vidéos) ;
- réduire le coût d'analyse ;
- un gain en terme de volumes traités permettant des échantillonnages ambitieux ;
- éliminer les biais observateurs et les biais liés aux mesures (hauteur de vol, vitesse relative...);
- établir une méthode reproductible et standardisée permettant des méta-analyses à partir de plusieurs cas d'études.

L'évaluation de l'effet du portique sur les hauteurs de vol n'a pu être mise en œuvre dans le temps imparti car la finalisation de l'outil s'est réalisé en août 2018. Toutefois, le type d'analyses pouvant être réalisées se rapprocherait des analyses réalisées dans l'article n 5.

2. Matériel et méthodes

2.1. Design expérimental

Le site d'étude choisi pour collecter des enregistrements vidéo se situe au nord-ouest de Niort (79) au PK119.6 de l'A83 au niveau d'une structure expérimentale dédiée au rétablissement d'un corridor écologique pour les chauves-souris. Il s'agit d'un portique (type portique de signalisation routière) sur lequel a été installée une grille dont le maillage a été dimensionné pour permettre le retour des cris d'écholocation des chauves-souris (cf. article 5).

Le recueil des vidéos s'est déroulé sur deux années de suivis. Une année sans ouvrage et l'autre année avec ouvrage en période printanière, estivale et automnale. Durant ces deux années, nous avons réalisé quatre points de suivis d'observations (deux points de part et d'autre de la route). Le matériel utilisé était une caméra thermique de marque FLIR et de modèle T640bx (Flir Systems Inc., Wilsonville, OR, USA). Cette caméra est munie d'une lentille standard de distance focale 13,1 millimètres permettant d'enregistrer des images en 16 bits, en format de compression MPEG4, de résolution 640*480 pixels à une fréquence d'images d'environ 21 images (c.-à-d., *frame*) par seconde. A partir de ces caractéristiques nous avons défini la distance optimale d'observation. Ainsi, les points de suivis étaient à une distance moyenne de 30 m de l'ouvrage de sorte à pouvoir identifier le comportement de vol des chauves-souris à sur deux points d'observation (l'un centré sur la route et l'autre sur l'approche de la route) de part et d'autre de la route (Figs. 45 et 46, page suivante).



Figure 45 : Point de suivi "approche"

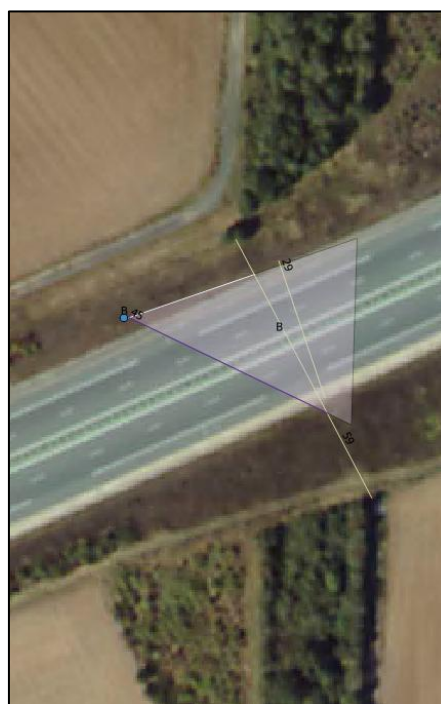


Figure 46 : Point de suivi "centré sur la route"

Les observations se sont déroulées en début de nuit sur au moins 3 à 4 h d'observation depuis le coucher du soleil. Cette tranche horaire correspond au pic d'activité des chauves-souris (Newson, Evans & Gillings 2015). Une étape d'étalonnage a précédé chaque prise vidéo pour rééquilibrer les niveaux de température et s'assurer que les chauves-souris se démarqueraient bien sur l'image.

2.2. Développement d'un outil de trajectographie à partir d'images thermiques - le Bat Tracking Toolbox (BTT)

Pour l'extraction des trajectoires à partir des vidéos, l'approche de *tracking*² par détection a été privilégiée, en raison de son exigence moindre en termes de quantité de données à fournir.

Une série d'algorithmes sous Python et R a été développée (figure 47, page suivante) :

- détection des contours (calcul des caractéristiques : taille, intensité...) ;
- appariement des détections (c.-à-d., assignation de paires de points) ;
- regroupement des appariements de détections en trajectoire ;
- concaténation des trajectoires partielles ;
- synthèse de toutes les trajectoires obtenues (ID, caractéristiques) ;
- classification des trajectoires via Random Forest (Cutler *et al.* 2007) ;
- fichier *.csv de sortie uniquement des signaux considérés comme des trajectoires de chauves-souris.

² Le tracking est une étape suivant la détection automatique des objets, qui consiste à faire correspondre, entre eux, les objets dans l'espace, pour chaque paire d'images successives. L'objet d'étude étant la chauve-souris en vol (c.-à-d., en mouvement). On appelle cette méthode le *motion tracking*.

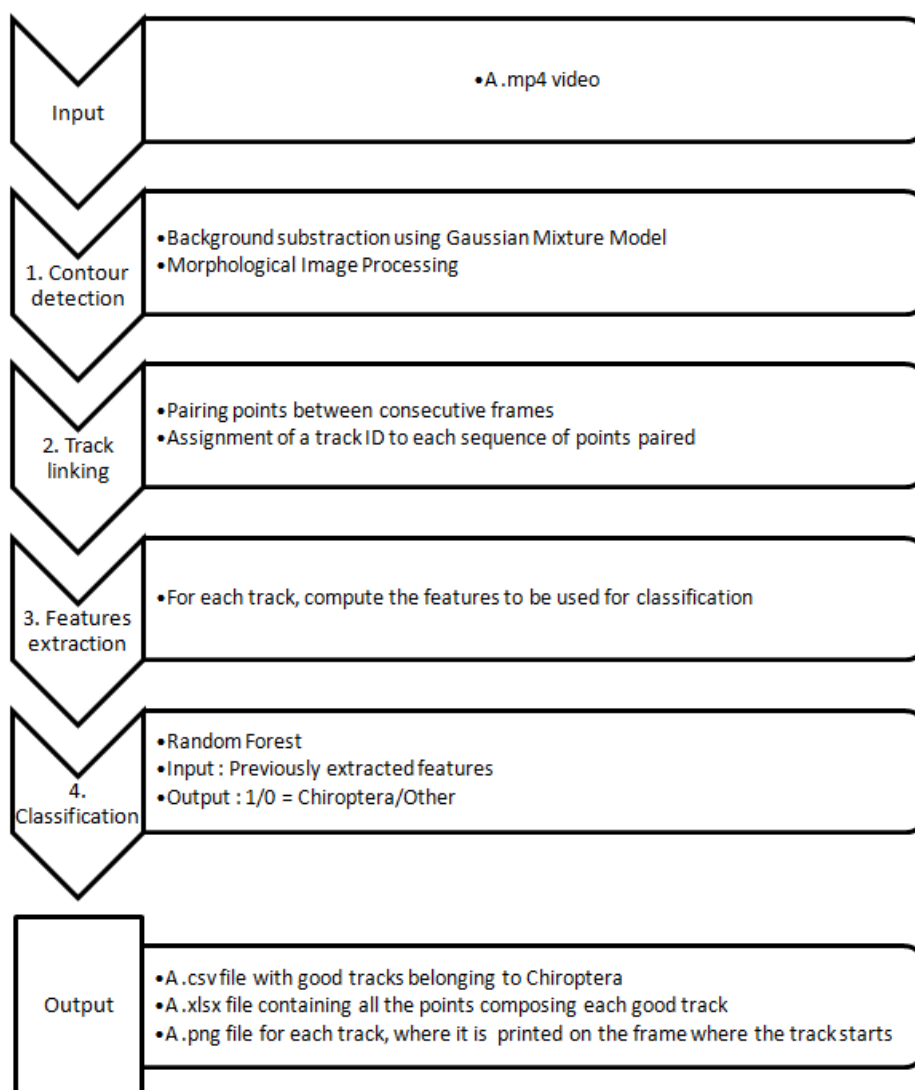


Figure 47 : Étapes des scripts de programmation du Bat Tracking Toolbox

2.3. Comparaison BTT vs utilisateur

Afin de tester l'efficacité du BTT, nous l'avons confronté à un traitement manuel sur deux semaines de terrain (c.-à-d., huit soirées de terrains de trois heures) en termes de nombre de chauves-souris retrouvées et de temps d'analyse.

3. Résultats

3.1. Développement d'un outil de trajectographie à partir d'images thermiques - BTT

Nos premiers résultats montrent que les algorithmes utilisés sont assez performants pour la détection et la reconstitution des trajectoires (Figs. 48 et 49).

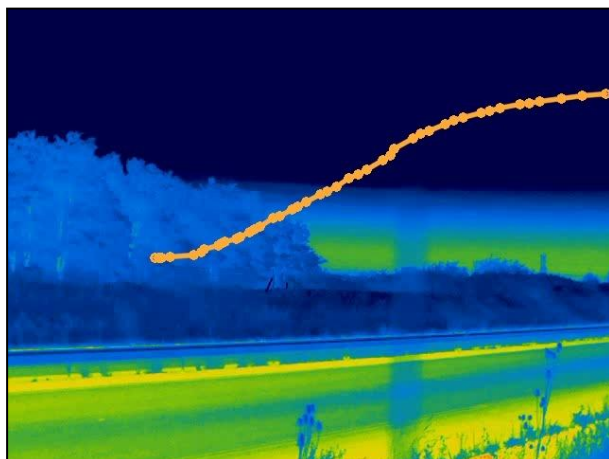


Figure 48 : Trajectoire de chauves-souris avant la pose du chiroptéroduc

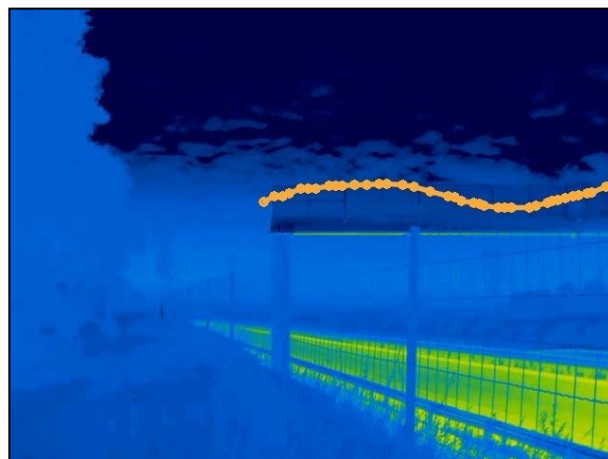


Figure 49 : Trajectoire de chauves-souris après la pose du chiroptéroduc

Néanmoins, ces algorithmes rendent compte d'un taux de faux positifs qu'il est nécessaire de vérifier manuellement (Tab. 6) comme pour les données issues de *Passive Acoustic Monitoring* (chapitre 1).

Tableau 6 : Bat Tracking Toolbox (BTT) vs utilisateur

	Manuellement (terrain + revisionnage)	Bat tracking toolbox (BTT)
Nombre de chauves-souris	193	150/193
Nombre de chauves-souris parmi le "bruit de fond"	NA	75
Nombre de chauves-souris au total	193	225
Main d'œuvre		
Terrain	36 heures	36 heures
Bureau	environ 42 heures (6 jours)	< à 14 heures

La recherche d'un seuil optimal à utiliser (c.-à-d., score/probabilité) a été établi arbitrairement en fonction du nombre de chauves-souris retrouvées par rapport au "bruit de fond" retrouvé. Ainsi, le seuil, le plus restrictif correspond à 0.93 (Fig. 50) et permet de retrouver 66 % des chauves-souris observées manuellement (c.-à-d., par revisionnage).

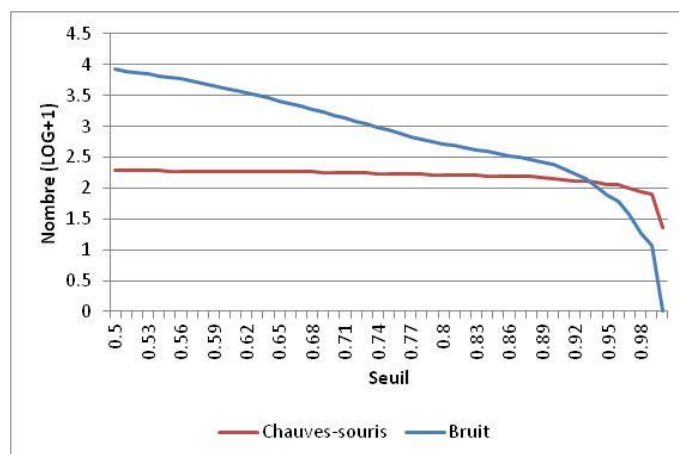


Figure 50 : Relation entre nombre de chauves-souris détectées par rapport au "bruit de fond"

Et la chance de retrouver de façon conséquente de nouvelles chauves-souris s'arrête à 0.88 (Fig. 51) et retrouve 79 % des chauves-souris observées manuellement (terrain et revisionnage).

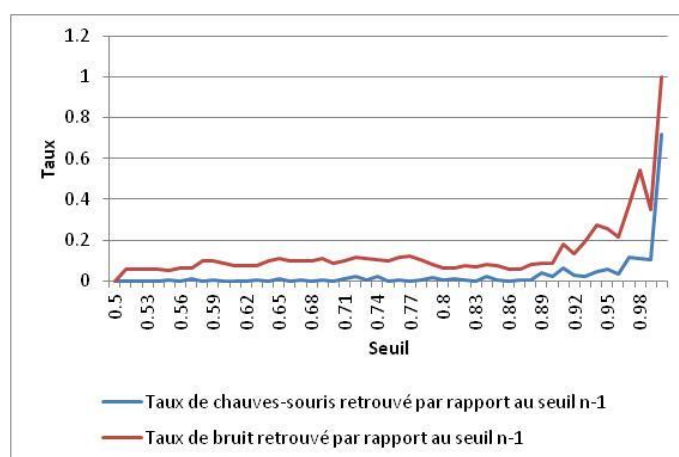


Figure 51 : Relation entre le taux de chauves-souris et de bruit retrouvé par rapport au seuil n-1 (c-a-d, par rapport au score/probabilité précédent)

Sur la base d'un seuil optimal fixé à 0.88, nous avons retrouvé, pour 12 soirées de terrain, 435 trajectoires dont 285 correspondent à du "bruit de fond". Afin de confronter la robustesse du BTT, nous avons comparé le nombre de trajectoires de chauves-souris retrouvé à celui retrouvé par revisionnage : 150 trajectoires ont ainsi été retrouvées sur les 193 trouvées manuellement (c.-à-d., 78 %). Toutefois, dans le "bruit de fond" (285 trajectoires), environ

50 % des trajectoires correspondent à des chauves-souris non détectée par un visionnage des vidéos. Au final, avec le BTT nous avons retrouvé 32 trajectoires supplémentaires pour un temps d'analyse divisé par trois (Tab. 6).

4. Discussion

4.1. Développement d'un outil de trajectographie à partir d'images thermiques - le BTT

En termes d'extraction des trajectoires, l'outil s'est montré plus performant qu'une détection manuelle sur le jeu de données fourni. Néanmoins, un certain nombre d'individus détectés présentent plusieurs trajectoires partielles. Cela est dû à des occlusions (c-a-d, disparition de la chauve-souris sur une ou plusieurs images) trop longues pour être gérées par les algorithmes actuellement en place. Ces occlusions durent en effet généralement plus de 15 frames (c.-à-d., image) et sont dues à un faible contraste de la chauve-souris, causé par une trop grande distance à la caméra et des fonds (ex. : ciel) rendant la détection difficile (Matzner, Cullinan & Duberstein 2015).

Le temps d'exécution des algorithmes de construction et de concaténation des trajectoires quant à lui, semble plus dépendre du nombre de détections que de la durée d'enregistrement et évoluer de façon non linéaire. En effet, le traitement est beaucoup plus long lorsqu'il y a beaucoup d'objets détectés. Par ailleurs de récents tests semblent montrer que le traitement est beaucoup plus long si les réglages de la caméra sur le terrain sont mal effectués (ex. : utilisation de l'autofocus). Il est néanmoins important de prendre en compte le fait que jusqu'ici, aucun effort n'a été entrepris pour optimiser le code en termes de temps de calcul. Mais bien que ce temps n'ait pas été optimisé, il reste abordable et non coûteux pour une structure souhaitant l'utiliser puisqu'il suffit juste de laisser tourner l'ordinateur aussitôt finie la session de terrain.

Par ailleurs, le BTT permet un gain de temps considérable d'analyse des vidéos et représente un bon compromis entre coûts et bénéfices. En effet, pour 36 heures de données vidéos acquises sur le terrain (c.-à-d., 12 jours de terrain avec 3 h d'observation), il est nécessaire de passer au moins 6 jours au bureau pour revisionner (5 jours pour la visualisation des vidéos et 1 jour pour l'annotation). Avec l'outil, nous avons retrouvés environ 435 trajectoires qui ont été traitées en 1,5-2 jours, soit un gain de temps divisé par 3.

Enfin, bien que le BTT ait ses limites notamment un taux de 22 % de non détection de chauves-souris par revisionnage, il est très performant puisque l'outil trouve de nouvelles chauves-souris non détectées par visionnage manuel (50 %) et augmente le nombre total de chauves-souris retrouvées manuellement (multiplié par 1,17).

CONCLUSION GENERALE

1. IMPORTANCE DES ELEMENTS LINEAIRES

Plusieurs études ont déjà en mis en avant l'intérêt des éléments linéaires dans le paysage pour l'activité de chasse et/ou de transit des chauves-souris (Frey-Ehrenbold *et al.* 2013; Dietz, Pir & Hillen 2013; Kelm *et al.* 2014; Lacoeyuilhe *et al.* 2016; Froidevaux *et al.* 2017). A travers l'article 3, nous confirmons ces études. En effet, pour neuf des treize taxons étudiés, nos modèles montrent le rôle positif de façon significative des haies et/ou lisières forestières dans l'activité de chasse et/ou de transit pour plusieurs espèces chauves-souris. Pour les espèces où aucun effet des haies n'est détecté, il s'agit des espèces de haut vols (noctules), de la Pipistrelle de Kuhl et des oreillards. Le manque d'effet sur les oreillards (*gleaner*) est probablement dû à leur faible abondance relative dans le jeu de données. Ainsi, au travers de cette thèse, nous avons confirmé l'importance des éléments linéaires pour les chauves-souris (articles 2 et 3).

De plus, nous avons pu caractériser le fait que des haies puissent être plus importantes que d'autres. Nous savons que la taille des haies et sa structuration en différentes strates est importante (Lacoeyuilhe *et al.* 2018) et des retours d'expériences sur leur continuité existent mais sans pour autant l'avoir testé (Entwistle *et al.* 2001). Au travers de l'article 2 (Pinaud *et al.* 2018), nous avons précisé l'importance des discontinuités de ces éléments linéaires. Nos résultats montrent qu'à partir de 38 m d'écart dans un élément linéaire, la probabilité de franchissement du Grand rhinolophe chute de 50 %. Il est intéressant de noter que le gap détecté correspond à la largeur moyenne d'une autoroute. Ainsi, il est possible d'émettre l'hypothèse que les autoroutes peuvent constituer un frein pour l'accès aux territoires pour cette espèce.

2. EFFET DES AUTOROUTES SUR L'ACTIVITE DES CHAUVES-SOURIS ET LA GENETIQUE DES POPULATIONS

A travers l'article 2 et la synthèse 1, nous avons détecté un important effet négatif des autoroutes sur l'activité de plusieurs chauves-souris. Il est probable que l'effet cumulé dans le temps et l'espace soit si fort qu'il puisse impacter la structure génétique de leurs populations.

2.1. EFFETS SUR L'ACTIVITE DES CHAUVES-SOURIS

Nos résultats de l'article 2 suggèrent des effets significatifs négatifs des autoroutes à plus de 5 km pour cinq taxons différents : *R. hipposideros*, *E. serotinus*, *Myotis spp.* et le groupe des clutters et confirment deux études publiées : Kitze & Merenlender (2014) aux États-Unis et Berthinussen & Altringham (2012a) en Angleterre. Berthinussen & Altringham (2012a) avaient trouvé des effets négatifs significatifs uniquement sur la Pipistrelle commune jusqu'à 1,6 km et nos résultats les généralisent à d'autres espèces et à plus grande distance.

Les causes pouvant expliquer ces effets négatifs peuvent être liés à la rupture de connectivités écologiques, le trafic et ses conséquences associées (c.-à-d., le risque de collisions, le bruit et la lumière). En effet, notre plan d'échantillonnage n'a pas spécifiquement testé l'une de ces causes, mais il serait probable qu'une route avec un fort trafic serait plus impactant qu'une route avec un faible trafic (Medinas, Marques & Mira 2013; Fensome & Mathews 2016; Pourshoushtari *et al.* 2018). De plus, nous nous attendions à détecter un plateau, c'est-à-dire à ce que l'activité de chasse et de transit des chauves-souris augmente avec la distance à la route mais finisse par se stabiliser à un moment. Mais nous avons trouvé que cet effet négatif est linéaire. Ainsi, des études complémentaires seraient donc à mener afin d'affiner cette zone d'effet des autoroutes.

Par ailleurs, cette généralisation des résultats n'a été rendue possible que grâce à la puissance de notre plan d'échantillonnage. En effet, Berthinussen & Altringham (2012a) ont réalisé 20 transects perpendiculaires à la route sur lesquels huit points d'écoute de 10 minutes en début de nuit et non simultanés ont été effectués. Ce qui leur a permis d'obtenir 3 407 contacts de chauves-souris. Notre jeu de données, récolté par des enregistreurs acoustiques sur toute une nuit, dans plusieurs habitats différents à différentes distances de l'autoroute en simultané, quant à lui, a permis de constituer un jeu de données de 223 601 contacts de chauves-souris rendant possible de détecter un effet sur d'autres espèces autre que la Pipistrelle commune : le Petit rhinolophe, la Sérotine commune, le groupe des murins et le groupe des clutters (c.-à-d., un plan d'échantillonnage avec plus de puissance).

D'autre part, la perte d'utilisation des habitats de chasse et transit par les chauves-souris, mis en avant par les deux précédentes études, à proximité des autoroutes n'est jamais prise en compte dans les évaluations environnementales alors que ces résultats sont assez inquiétants. Les raisons pouvant expliquer cela sont : des études très récentes (depuis 2012), pour des espèces où il n'y a pas d'enjeux de conservation et que cela est difficile à mettre en œuvre. Toutefois, nous avons désormais démontré que la zone d'effet des autoroutes concerne également des espèces à enjeux de conservation et nous préconisons la prise en compte de cet enjeu dans les dossiers réglementaires.

Par ailleurs, à une échelle plus globale et par extrapolation de nos résultats issus des modèles, nous avons évalué que c'est potentiellement 30 % des surfaces en Europe qui seraient au moins partiellement impactées par les autoroutes.

Ce résultat se rapproche des travaux de Forman (2000) qui a trouvé que les routes impactent 19 % des surfaces aux États-Unis (c.-à-d., 1/5 du pays). Dans une seconde étude, Forman & Deblinger (2000) précisent la *road-effect zone* (c.-à-d., zone d'influence des routes) sur un linéaire de 25 km d'autoroute tenant compte des habitats naturels et des groupes biologiques. La zone d'influence des routes est asymétrique et peut s'étendre jusqu'à 1 km de la route avec une largeur moyenne de 600 m. Par ailleurs, une autre étude a montré un effet négatif des routes sur les populations d'oiseaux et mammifères terrestres respectivement à plus de 1 km et 5 km de distance (Benítez-López, Alkemade & Verweij 2010).

Afin d'affiner la zone d'influence des routes de nos résultats, un travail pourrait être envisagé intégrant les variables jouant sur l'activité des chauves-souris tel que le trafic journalier moyen des autoroutes (Medinas, Marques & Mira 2013; Fensome & Mathews 2016; Pourshoushtari *et al.* 2018) et les différents paysages. Toutefois, en refaisant des analyses pour un seul site sur les trois étudiés : site de l'A83, plaine agricole intensive), nous avons retrouvé des effets négatifs significatifs sur l'activité de transit et de chasse pour la Pipistrelle commune, le Petit rhinolophe et un effet proche de la significativité pour les murins. Ainsi, même dans des paysages très dégradés, les autoroutes ont un fort impact négatif sur les chauves-souris.

2.2. EFFETS SUR LA GENETIQUE DES POPULATIONS

Nos résultats dans la synthèse 1 montrent la présence d'une barrière génétique pour les cinq colonies étudiées en Picardie. Il est difficile de clairement conclure à un effet négatif des autoroutes sur la structure génétique des populations. En effet, ici $n=1$, et il est (i) nécessaire de confirmer ces résultats avec d'autres répliques et (ii) possible qu'il puisse exister des phénomènes locaux liés à l'histoire des colonies dans ce secteur qui puissent expliquer cette

barrière. Néanmoins, de fortes présomptions laissent penser que la barrière génétique détectée dans la synthèse 1 correspond à la 2X2 voies (nationale 2, N2).

En effet, car en l'absence de la N2, toutes les colonies sont toutes connectées par un *continuum* forestier, essentiel pour l'activité de chasse et transit pour le Petit rhinolophe, qui est la forêt de Compiègne. De plus, nous avons eu l'opportunité de conforter nos résultats par notre plan d'échantillonnage restreint à cinq colonies avec deux colonies supplémentaires plus éloignées de la route, échantillonnées lors de précédents travaux. Lors de ces précédents travaux, un doute sur l'effet de la route sur la structuration génétique se posait déjà (com. pers. Éric Petit). Par ailleurs et pour rappel ce sont quasiment 90 % des individus qui restent d'un même côté de la route et aux vues des forts effets négatifs significatifs des autoroutes sur l'activité de chasse et/ou transit du Petit rhinolophe, sont cohérents avec la structuration génétique détectée.

La poursuite de ce travail est tout à fait envisageable. De prime abord, le plan d'échantillonnage est adapté : il est possible de trouver des effets locaux avec quelques colonies. De plus, nous avons échantillonné quatre autres sites en France qui feront l'objet d'analyses dès que nous aurons suffisamment de ressources financières.

Enfin, une analyse complémentaire et peu coûteuse pourrait être mise en œuvre. D'après Forman & Alexander (1998), les routes pourraient avoir des effets sur la consanguinité des populations (c.-à-d., plus une population est proche de la route plus le taux de consanguinité est élevé). Ainsi, il pourrait être intéressant d'analyser le taux de consanguinité de toutes les colonies, toutes espèces confondues, déjà échantillonnées génétiquement dans le cadre

d'études scientifiques dont les génotypes sont disponibles et de corréler ce taux à la distance des routes.

3. ÉVALUATION DE L'EFFICACITE DES CHIROPTERODUCS

A travers le chapitre 3, nous avons étudié quatre chiroptéroducts dont un expérimental. Dans le cadre de cette thèse, l'évaluation de l'efficacité de cette mesure de réduction s'est réalisée en deux temps : acoustique (quantification du nombre de franchissement de chauves-souris) et visuel (évaluation des hauteurs de vol).

Concernant, la capacité de ces ouvrages à faire franchir plus de chauves-souris, nos résultats suggèrent que les chiroptéroducts doivent être implantés dans des corridors écologiques préalablement identifiés et ont une meilleure fonctionnalité lorsqu'ils sont placés dans des corridors écologiques fins tels que des haies. Des études complémentaires sont ainsi à mener dans les corridors larges tels que les boisements afin de réduire les impacts résiduels.

Enfin, concernant la capacité de ces ouvrages à faire surélever la hauteur de vol des chauves-souris, il n'est pas possible de conclure car le *Bat Tracking Toolbox* a été finalisé en fin de thèse. Il s'agit néanmoins de travaux qui vont se poursuivre.

4. STANDARDISATION D'UNE METHODE D'EVALUATION

A travers le chapitre 3, nous avons rendu possible la standardisation d'une méthode d'évaluation des mesures de réduction à travers l'étude des passages dédiés aux chauves-souris.

Notre méthode permet en effet : (i) de déterminer simultanément où les chauves-souris franchissent au-dessus d'une route sans biais pour un coût quasiment égal aux études actuelles puisque les bureaux d'études ont déjà le matériel ; et (ii) d'évaluer leur hauteur de vol et ce pour un moindre coût qu'actuellement avec la réduction du temps de main-d'œuvre.

De plus, cette standardisation ne peut passer que par un design expérimental en before-after / control-impact (BACI) qui doit être repris dans les évaluations environnementales et le suivi des mesures post-construction. Que ce soit ici pour les chauves-souris ou pour d'autres groupes biologiques, le BACI reste la seule approche pour présumer d'une réelle efficacité des mesures "ERC" engagées dans les évaluations environnementales.

Les poursuites de cette standardisation concernent l'évaluation des hauteurs de vol qui apporteront une réponse claire et précise sur la réelle efficacité des structures dédiées aux chauves-souris afin de savoir si l'on peut utiliser et déployer et /ou déplacer les portiques de signalisations autoroutiers au niveau de haies rompues afin de rétablir la connectivité des habitats. Si ce cas devait se produire, il est impératif de réaliser à nouveau des relevés de terrain avec un BACI design car dans ma thèse n est égal à 1. Cela permettra de faire une méta-analyse confortant ou non nos résultats trouvés dans l'article 5.

5. CONCLUSIONS

Il est impératif de prendre en compte l'effet des autoroutes sur les chauves-souris sous l'angle de la perte de ressource en terrain de chasse et en termes de l'isolement génétique des populations lors des évaluations environnementales. Deux types de préconisations sont proposées dans les perspectives de cette thèse (prochain chapitre). Le premier type pour les

projets futurs autoroutiers et le second pour les projets existants n'ayant jamais pris en compte la *road-effect zone* (c-a-d, la zone d'influence des routes) sur les chauves-souris.

Enfin, au travers de cette thèse, il est désormais possible d'appliquer le travail que j'ai réalisé pour mesurer et évaluer :

- l'impact des routes sur l'activité et la structure génétique des chauves-souris (articles 1, 3 et synthèse 1) ;
- les mesures "ERC" (articles 4, 5 et synthèse 2).

PERSPECTIVES

Cette dernière partie de la thèse s'appuie à la fois sur les travaux menés dans le cadre de cette thèse mais également sur mon expérience.

1. DIFFUSION DES RESULTATS

C'est un aspect très important. et le transfert des résultats issus de la recherche scientifique vers la société civile est impératif. Par ailleurs, si le public ne comprend pas bien l'anglais, ils doivent alors être diffusés avec un résumé écrit dans la langue native. En effet, la société civile lisant très peu les articles scientifiques (Sutherland *et al.* 2004; Sunderland *et al.* 2009), peut avoir des difficultés à la compréhension de ces articles et ne pas avoir assez de recul sur la façon dont ils ont été engagés. C'est ainsi, que nous - chercheurs - devons présenter nos résultats non seulement dans des colloques scientifiques mais également dans des colloques spécialisés autour d'un thème précis (chauves-souris, herpétologie, infrastructure de transport). Outre une présentation en plénière ou en atelier, ces colloques amènent à de riches rencontres sur les expériences professionnelles de chacun. C'est par ailleurs aussi l'occasion pour les acteurs de terrain de faire remonter leur besoin auprès des chercheurs sur des problématiques pour lesquelles ils seraient en difficultés seuls.

Dans une autre forme de communication et diffusion des résultats, nous - chercheurs - pouvons transférer nos articles vers le monde appliqué (ex. : liste de diffusion). C'est ce à quoi je me suis efforcé concernant la méthode de trajectographie acoustique par l'écriture de tutoriels d'utilisation qui accompagnent les scripts de l'article 4. Ils ont été téléchargés 126 fois trois semaines après leur diffusion ; ce qui affirme l'intérêt du monde appliqué pour mieux réaliser les études de terrain. En effet, plusieurs acteurs de terrain utilisent déjà notre méthode acoustique pour l'évaluation d'autres mesures de réduction tel que les hop-overs, les écoponts (nouveaux types de passage à faune), mais également sur d'autres problématiques tel

que l'éclairage artificiel la nuit et l'éolien où les enjeux de conservation sont importants (Pauwels *et al.* in press; Millon *et al.* 2015, 2018; Azam *et al.* 2015, 2016, 2018; Minderman *et al.* 2017; Roemer *et al.* 2017; Barré *et al.* 2018). Cette transférabilité du monde académique vers le monde appliqué est à mon sens nécessaire face à l'urgence et c'était l'un des enjeux de ma thèse.

Enfin, la principale perspective de cette thèse est la diffusion des résultats à la plus large échelle, en France et à l'international via les articles scientifiques.

2. IMPLICATIONS POUR LES NOUVEAUX PROJETS

2.1. FAVORISER L'ÉVITEMENT

Pour les nouveaux projets de routes, il est nécessaire d'éviter au maximum les impacts. Le meilleur évitement possible reste la mise en place d'une planification territoriale qui soit stratégique au niveau national, régional et/ou départemental. Une fois cette stratégie adoptée, à une échelle plus locale (c.-à-d., à l'échelle du projet), il est nécessaire d'analyser plusieurs variantes et d'adopter le projet ayant favorisé au maximum l'évitement. Un évitement pourrait être envisagé par la requalification de route existante. C'est-à-dire, utiliser l'existant et le rendre plus performant (ex. : mise à 2X2 voies d'une route à 1X1 voie) afin de réduire l'emprise foncière et l'amplification de la fragmentation des paysages.

Si l'évitement ne peut être total (c.-à-d., construction d'une nouvelle route), il est nécessaire que le tracé soit à plus de 5 km de toute zone d'intérêt écologique (ex. : espaces protégés, ZNIEFF). C'est d'ailleurs ce que préconisent également Forman & Deblinger (2000). Or en Europe, ce sont déjà 5,2 % des zones d'intérêts écologiques qui sont sous la zone d'influence des routes.

2.2. PRENDRE EN COMPTE LA ZONE D'INFLUENCE DE LA ROUTE

Quant à la perte d'habitat (c.-à-d., *road-effect zone*), elle doit être prise en compte lors des aménagements fonciers liés à la construction de la route. D'une part, il faut conserver les haies connectant les habitats favorables aux chauves-souris à l'intérieur de la zone d'influence des routes afin de limiter la perte de territoires de chasse et la meilleure conservation possible des colonies. En effet, il a été démontré que la taille des colonies de chauves-souris est corrélée par la disponibilité des ressources (Froidevaux *et al.* 2017).

D'autre part, il est important de conserver tous les corridors écologiques rompus via des mesures de réduction qui peuvent, par ailleurs, servir à toute la biodiversité par le maintien de la connectivité des habitats servant aux échanges d'individus, à la reproduction, l'accès aux zones de chasse, etc.

Enfin, d'autres haies peuvent être plantées pour forcer les chauves-souris à changer de direction vers des passages inférieurs ou passage à faune prioritairement. En effet, plusieurs études récentes démontrent que les passages à faunes et passages sous-routiers sont les meilleures solutions pour restaurer les continuités écologiques (Møller *et al.* 2016).

2.3. N'AVOIR AUCUNE PERTE NETTE DE BIODIVERSITE

Afin d'évaluer si le *no net loss* est atteint via l'ensemble des mesures "ERC" proposées et mise en œuvre, il est nécessaire d'établir un plan d'échantillonnage tel que dans l'article 3 avant la construction de la route afin de mesurer l'activité des chauves-souris (c.-à-d., avoir un état de référence). Cela est réalisable dans le cadre de l'évaluation environnementale du projet. Il s'agira ensuite de refaire ce même plan d'échantillonnage une fois la route construite lors du bilan LOTI. La conformité des méthodes avant et après est essentielle afin de pouvoir

comparer. Par ailleurs, cela est également valable pour d'autres types de projets comme pour l'éolien (Coly *et al.* 2017).

3. IMPLICATIONS POUR LES ANCIENS PROJETS

3.1. LES PERTES RESIDUELLES, A QUI LA FAUTE ?

Comme nous l'avons vu en introduction, les raisons de la non prise en compte des chauves-souris dans les dossiers réglementaires des anciens projets autoroutiers sont nombreuses et sont principalement liées à une démocratisation récente du matériel d'études (fin des années 2000). Et bien que ces projets autoroutiers aient été validés, ils n'en restent pas moins non conformes à la réglementation. En effet, force est de constater que la loi de protection de la nature de 1976 et la protection juridique des chauves-souris depuis 1981 aurait dû s'appliquer pleinement, ces outils de protection n'étaient pas assez performants d'où leur renforcement ces dix dernières années.

Nous sommes actuellement dans un système où les projets d'aménagement proposés sont préférés et préférables par les maîtres d'ouvrage et l'analyse de variantes crédibles oubliées (ex. : aéroport de Notre-Dame-Des-Landes). De ce fait, les concessionnaires d'autoroutes sont souvent critiqués, par l'opinion publique, comme destructeurs de la nature et les bureaux d'études d'en être leur complice. Afin de clarifier un premier point, la responsabilité ne revient qu'aux porteurs de projet. Et si la responsabilité des bureaux d'études était engagée, probablement que les dossiers réglementaires seraient plus étayés.

Je dirais même, que selon moi, la responsabilité réelle en revient à l'État de ne pas donner à l'autorité environnementale et aux services instructeurs suffisamment de moyens pour imposer et suivre les mesures d'évitement, de réduction, de compensation ou d'accompagnement.

Néanmoins, en l'absence de connaissances, les services instructeurs aurait dû imposer en guise de mesures d'accompagnement le financement de programmes de recherches sur cette thématique.

"Est-ce que nous avons commencé à enrayer l'érosion de la biodiversité ? La réponse est non"

Nicolas Hulot lors de l'annonce de sa démission au gouvernement le 28/08/2018 sur France Inter

De plus, de façon générale, l'État se déresponsabilise et laisse les bureaux d'études et aménageurs trouver les solutions sur la façon d'entreprendre les études réglementaires sans donner d'indications précises. Cette thèse en est la preuve. Par ailleurs, la déresponsabilisation de l'État dans la conservation de la biodiversité n'est pas nouvelle. Premier exemple, la réglementation actuelle ne dit pas clairement quel groupe biologique doit être inventorié dans les dossiers réglementaires environnementaux (Claireau 2014). L'État a publié un guide national à ce sujet en 2012 seulement (c.-à-d., 36 années après la loi de protection de la nature) qui, au passage, présente des incohérences.

Second exemple, la politique de l'État dans la doctrine "ERC". Il aura fallu attendre 2016 pour que les mesures compensatoires soient devenues une obligation de résultat et non plus de moyens (c.-à-d., 40 ans après la loi de protection de la nature). Par ailleurs, le contrôle des mesures "ERC" est quasi inexistant et il aura fallu attendre début 2018 pour qu'une plateforme internet géo-localise les mesures "ERC" : GéoMCE mais n'est actuellement consultable que par les services instructeurs.

Cette restriction, contraire à la convention d'Aarhus de 1998 ratifiée par la France en 2002 sur l'accès à l'information, pose des problèmes à deux niveaux. Le premier, pour les porteurs de projets qui souhaiteraient rechercher des zones de compensation qui n'ont jamais fait l'objet de compensation ou tout simplement pour connaître les secteurs évités par d'autres projets. Et le

second, pour le public (notamment les entités qui portent un intérêt général telles que les associations de protection de la nature), qui souhaiterait contrôler, lors de la consultation du public, les mesures "ERC" proposées dans l'évaluation environnementale.

Il est, à mon sens, nécessaire d'aller plus loin et très vite dans ce qui a été entrepris et de mettre l'écologie au centre de notre développement tout comme le climat, de faire de notre économie un outil servant à préserver l'environnement, car ce sont les générations futures qui vont subir les conséquences de notre inaction.

"Une autre question se pose : même si nous arrivons à survivre, est-ce vraiment le monde dans lequel nous voulons vivre ? Est-ce le monde que nous voulons léguer à nos enfants ? La portée de cette question est différente, mais toutes deux sont très sérieuses. Je dirais même qu'il n'y aurait pas de sujet plus sérieux."

Elizabeth Kolbert interviewée en juin 2018 par National Geographic

Désormais, les pertes résiduelles sont là, mais, il est encore possible de trouver des solutions pour les autoroutes existantes en service n'ayant jamais pris en compte la zone d'influence des routes.

3.2. QU'EST-IL POSSIBLE DE METTRE EN ŒUVRE POUR RENDRE LES INFRASTRUCTURES PLUS TRANSPARENTE ECOLOGIQUEMENT ?

Actuellement, en France, nous pouvons considérer que ce sont 11 000 kilomètres d'autoroutes soit 110 000 km² sous l'emprise de la zone d'influence des routes, soit environ 20 % de la superficie de la France métropolitaine. Les actions pour atténuer ce chiffre inquiétant passe prioritairement par la mise en place de mesures équivalentes aux mesures de réduction tels que les passages à faune. Équivalente car ce type de mesure est indépendant du cadre réglementaire et dont les concessionnaires, en sont les principaux décideurs. Nous parlons alors ici, de "requalification".

Par ailleurs, rendre les infrastructures de transports plus perméables sera non seulement bénéfique pour les chauves-souris mais également à l'ensemble de la faune terrestre dans le cas de passages à faune ou écoponts par exemple. Toutefois, la mise en place de mesures de réduction volontaires dans un contexte de requalification des autoroutes est plus difficile à mettre en œuvre car elle nécessite de mobiliser des moyens financiers et est principalement dépendant de la maîtrise foncière.

En effet, l'implantation d'un passage à faune est souvent peu réalisable bien que ce soit la meilleure solution. Instaurer des passages sous-routiers est aussi difficile et se limite actuellement à la petite faune terrestre non volante : fouines, hérissons, amphibiens... (cas de la A81 en Mayenne, implantation de buses d'un diamètre de 1,20 m sous la route).

Pour les chauves-souris, bien que les passages sous-routiers soient également les plus recommandés (Abbott, Butler & Harrison 2012; Berthinussen & Altringham 2012b; Møller *et al.* 2016), leur dimensionnement est plus conséquent. En effet, il est admis qu'il est nécessaire d'avoir des ouvrages supérieurs à 3 m de hauteur pour que ce type d'ouvrage soit pleinement utilisé par les chauves-souris (Krull *et al.* 1991; Bach, Burkhardt & Limpens 2004; Kerth & Melber 2009; Boonman 2011; Abbott, Butler & Harrison 2012; Abbott, Harrison & Butler 2012; Berthinussen & Altringham 2012b; Abbott *et al.* 2015; Bhardwaj *et al.* 2017). Il est ainsi difficile, voire impossible, de pouvoir mettre des ouvrages de cette importance sous des routes existantes en termes de coût et d'ingénierie civile.

La mise en place de structures dédiées s'inscrit donc dans une politique territoriale durable et nouvelle répondant à une forte demande sociétale et politique de rendre les infrastructures linéaires de transports le plus transparent possible pour la biodiversité. Il est donc nécessaire

de poursuivre et encourager ce type d'expérimentation qui permettrait de renforcer les liens entre chercheur, bureaux d'études et gestionnaires. Par ailleurs, le rapprochement entre ces différentes structures est tout à fait possible et c'est ce qui en fait une plus grande force. L'article 1 et la synthèse 1 en sont la preuve. Nous avons tendance à séparer ces deux mondes alors que chacun a besoin l'un de l'autre. Ainsi, ces partenariats permettent d'améliorer la conservation de la biodiversité et démontrent que des ponts entre ces deux mondes sont possibles.

Une autre solution qui pourrait être envisagée pour rattraper ce retard serait d'imposer aux maîtres d'ouvrage de prendre en compte les impacts non évités, ni réduits et ni compensés des anciens projets dans les nouveaux projets. La portée de cette mesure reste toutefois dans le domaine de l'utopisme dans la mesure où l'État a déjà bien du mal à faire respecter la réglementation actuelle. Néanmoins, la question s'est déjà posée dans les groupes de travail en région Occitanie.

Enfin, une des solutions pour rattraper ce retard serait de renforcer les partenariats entre gestionnaires, recherche et État comme, actuellement, le programme ITTECOP. Financé par le MTES, l'ADEME, le Club des Infrastructures Linéaires et Biodiversité (CILB) (Eiffage, Enedis, GRT gaz...) et la FRB, ITTECOP est un programme qui est tout à fait approprié, par exemple, pour continuer les travaux de recherche de la synthèse 1 sur la génétique des populations.

4. LA NECESSITE DE PROTOCOLES STRICTS ADAPTES

Il est relativement bien documenté que pour évaluer correctement l'impact d'un aménagement, il est nécessaire d'adopter de bons plans d'échantillonnage tels que les BACI (Stewart-Oaten, Murdoch & Parker 1986; Osenberg *et al.* 2006; Coly *et al.* 2017; Thiault *et al.* 2017).

Toutefois, il est difficile d'instaurer ce type de design expérimental et nous avons actuellement à faire à plusieurs études non liées entre elles reposant chacune sur des méthodes différentes. En effet, les suivis environnementaux sont généralement réalisés sans s'appuyer sur les mêmes méthodes utilisées lors de l'évaluation environnementale. Ainsi, il est impossible d'évaluer correctement les mesures "ERC". L'une des solutions pourrait être que les mesures "ERC" soient proposées et évaluées par le même cabinet d'études aux différentes phases du projet ; mais cela implique aux maîtres d'ouvrage de bien choisir le cabinet car il sera lié à lui sur de plusieurs années.

Par ailleurs, l'instauration d'un BACI permet d'évaluer correctement les mesures "ERC". Par exemple, pour le cas des chiroptéroducts, jusqu'actuellement leur évaluation se faisait par les indices d'activités en bord de route et cela est inadapté. Une forte activité sous ou sur un ouvrage ne peut pas révéler son efficacité. En effet, cet indice d'activité ne constitue qu'un proxy et est gonflé artificiellement puisqu'il est influencé par des effets lisières, de transit le long de la route ou tout simplement de chasse intense (cas des passages à faune et des passages sous-routiers hydrauliques). La quantification du nombre de traversées est primordiale pour répondre à cette question.

RÉFÉRENCES (HORS ARTICLES)

- Abbott, I.M., Berthinussen, A., Stone, E., Boonman, M., Melber, M. & Altringham, J. (2015) Bats and Roads. *Handbook of Road Ecology* (eds R. van der Ree, D.J. Smith, & C. Grilo), pp. 290–299. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.
- Abbott, I.M., Butler, F. & Harrison, S. (2012) When flyways meet highways – The relative permeability of different motorway crossing sites to functionally diverse bat species. *Landscape and Urban Planning*, **106**, 293–302.
- 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: Clutter bats cross motorway via narrow underground tunnels ed N. Bennett. *Journal of Zoology*, **287**, 124–132.
- Abrahms, B., Sawyer, S.C., Jordan, N.R., McNutt, J.W., Wilson, A.M. & Brashares, J.S. (2017) Does wildlife resource selection accurately inform corridor conservation? ed M. Hayward. *Journal of Applied Ecology*, **54**, 412–422.
- Afonso, E., Tournant, P., Foltête, J.-C., Giraudoux, P., Baurand, P.-E., Roué, S., Canella, V., Vey, D. & Scheifler, R. (2016) Is the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) exposed to causes that may have contributed to its decline? A non-invasive approach. *Global Ecology and Conservation*, **8**, 123–137.
- Allag-Dhuisme, F., Amsallem, J., Barthod, F., Deshayes, M., Graffin, V., Lefeuvre, C. & Salles, E. (2010) *Choix Stratégiques de Nature à Contribuer à La Préservation et à La Remise En Bon État Des Continuités Écologiques, Premier Document En Appui à La Mise En Oeuvre de La Trame Verte et Bleue En France*. Comité opérationnel Trame verte et bleue (COMOP TVB).
- Altringham, J.D. (2011) *Bats: From Evolution to Conservation*. Oxford University Press.
- Altringham, J. & Kerth, G. (2016) Bats and Roads. *Bats in the Anthropocene: Conservation of Bats in a Changing World* (eds C.C. Voigt & T. Kingston), pp. 35–62. Springer International Publishing, Cham.
- Amsallem, J., Deshayes, M. & Bonnevalle, M. (2010) Analyse comparative de méthodes d'élaboration de trames vertes et bleues nationales et régionales. *Sciences Eaux & Territoires*, 40–45.
- Andrén, H. (1994) Effects of Habitat Fragmentation on Birds and Mammals in Landscapes with Different Proportions of Suitable Habitat: A Review. *Oikos*, **71**, 355.
- Arthur, L. & Lemaire, M. (2015) *Les chauves-souris de France, Belgique, Luxembourg et Suisse*. Biotope ; Museum national d'Histoire Naturelle, Mèze; Paris.
- Atanbori, J., Duan, W., Murray, J., Appiah, K. & Dickinson, P. (2016) Automatic classification of flying bird species using computer vision techniques. *Pattern Recognition Letters*, **81**, 53–62.
- Azam, C., Kerbiriou, C., Vernet, A., Julien, J.-F., Bas, Y., Plichard, L., Maratrat, J. & Le Viol, I. (2015) Is part-night lighting an effective measure to limit the impacts of artificial lighting on bats? *Global Change Biology*, **21**, 4333–4341.
- Azam, C., Le Viol, I., Bas, Y., Zissis, G., Vernet, A., Julien, J.-F. & Kerbiriou, C. (2018) Evidence for distance and illuminance thresholds in the effects of artificial lighting on bat activity. *Landscape and Urban Planning*, **175**, 123–135.
- Azam, C., Le Viol, I., Julien, J.-F., Bas, Y. & Kerbiriou, C. (2016) Disentangling the relative effect of light pollution, impervious surfaces and intensive agriculture on bat activity with a national-scale monitoring program. *Landscape Ecology*, **31**, 2471–2483.

- Bach, L., Burkhardt, P. & Limpens, H.J.G.A. (2004) Tunnels as a possibility to connect bat habitats. *Mammalia*, **68**.
- Bagnoli, F., Vendramin, G.G., Buonamici, A., Doulis, A.G., González-Martínez, S.C., La Porta, N., Magri, D., Raddi, P., Sebastiani, F. & Fineschi, S. (2009) Is *Cupressus sempervirens* native in Italy? An answer from genetic and palaeobotanical data. *Molecular Ecology*, **18**, 2276–2286.
- Banner, K.M., Irvine, K.M., Rodhouse, T.J., Wright, W.J., Rodriguez, R.M. & Litt, A.R. (2018) Improving geographically extensive acoustic survey designs for modeling species occurrence with imperfect detection and misidentification. *Ecology and Evolution*, **8**, 6144–6156.
- Barataud, M. (2015) *Acoustic Ecology of European Bats; Species Identification, Study of Their Habitats and Foraging Behaviour* (tran A. Cockle-Betian). National Museum of Natural History, Paris ; Biotope, Mèze.
- Barnosky, A.D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G.O.U., Swartz, B., Quental, T.B., Marshall, C., McGuire, J.L., Lindsey, E.L., Maguire, K.C., Mersey, B. & Ferrer, E.A. (2011) Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature*, **471**, 51–57.
- Barre, A. (1997) *Quelques Données Statistiques et Spatiales Sur La Genèse Du Réseau Autoroutier Français*. Annales de Géographie.
- Barré, K., Le Viol, I., Bas, Y., Julliard, R. & Kerbiriou, C. (2018) Estimating habitat loss due to wind turbine avoidance by bats: Implications for European siting guidance. *Biological Conservation*, **226**, 205–214.
- Bas, Y., Bas, D. & Julien, J.-F. (2017) Tadarida: A Toolbox for Animal Detection on Acoustic Recordings. *Journal of Open Research Software*, **5**, 8.
- Bates, J.M. (2002) The genetic effects of forest fragmentation on five species of Amazonian birds. *Journal of Avian Biology*, **33**, 276–294.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N. & Bonhomme, F. (1996) *GENETIX 4.05, Logiciel Sous Windows TM Pour La Génétique Des Populations*. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Benítez-López, A., Alkemade, R. & Verweij, P.A. (2010) The impacts of roads and other infrastructure on mammal and bird populations: A meta-analysis. *Biological Conservation*, **143**, 1307–1316.
- Bennett, V.J. & Zurcher, A.A. (2013) When corridors collide: Road-related disturbance in commuting bats. *The Journal of Wildlife Management*, **77**, 93–101.
- Berthinussen, A. (2013) *The Effect of Roads on Bats in the UK: A Model for Evidence Based Conservation*. University of Leeds.
- Berthinussen, A. & Altringham, J. (2012a) The effect of a major road on bat activity and diversity: Effect of a major road on bat activity. *Journal of Applied Ecology*, **49**, 82–89.
- Berthinussen, A. & Altringham, J. (2012b) Do Bat Gantries and Underpasses Help Bats Cross Roads Safely? ed B. Fenton. *PLoS ONE*, **7**, e38775.
- Berthinussen, A. & Altringham, J. (2015) *Development of a Cost-Effective Method for Monitoring the Effectiveness of Mitigation for Bats Crossing Linear Transport Infrastructures*. School of Biology, University of Leeds, Leeds LS2 9JT.

- Beyan, C. & Fisher, R. (2013) Detection of Abnormal Fish Trajectories Using a Clustering Based Hierarchical Classifier., pp. 21.1-21.11. British Machine Vision Association.
- Bhardwaj, M., Soanes, K., Straka, T.M., Lahoz-Monfort, J.J., Lumsden, L.F. & van der Ree, R. (2017) Differential use of highway underpasses by bats. *Biological Conservation*, **212**, 22–28.
- Bigard, C., Pioch, S. & Thompson, J.D. (2017) The inclusion of biodiversity in environmental impact assessment: Policy-related progress limited by gaps and semantic confusion. *Journal of Environmental Management*, **200**, 35–45.
- Bigard, C., Regnery, B., Blasco, F. & Thompson, J.D. (2017) La prise en compte de la biodiversité dans les études d'impact : évolutions prometteuses mais lacunaires. *Sciences Eaux & Territoires*.
- Bontadina, F., Arlettaz, R., Fankhauser, T., Lutz, M., Mühlethaler, E., Theiler, A. & Zingg, P. (2000) The lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* in Switzerland: present status and research recommendations. *Le Rhinolophe*, **14**, 69–83.
- 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.
- Breitenstein, M.D., Reichlin, F., Leibe, B., Koller-Meier, E. & Van Gool, L. (2011) Online Multiperson Tracking-by-Detection from a Single, Uncalibrated Camera. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, **33**, 1820–1833.
- Broquet, T., Ménard, N. & Petit, E. (2006) 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.
- Brown, G.P., Phillips, B.L., Webb, J.K. & Shine, R. (2006) Toad on the road: Use of roads as dispersal corridors by cane toads (*Bufo marinus*) at an invasion front in tropical Australia. *Biological Conservation*, **133**, 88–94.
- Catto, C.M.C., Hutson, A.M., Racey, P.A. & Stephenson, P.J. (1996) Foraging behaviour and habitat use of the serotine bat (*Eptesicus serotinus*) in southern England. *Journal of Zoology*, **238**, 623–633.
- Ceballos, G., Ehrlich, P.R. & Dirzo, R. (2017) Biological annihilation via the ongoing sixth mass extinction signaled by vertebrate population losses and declines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201704949.
- CGDD & CEREMA. (2018) *Évaluation Environnementale Étude d'aide à La Définition Des Mesures ERC*. Commissariat général au développement durable (MTES), CEREMA.
- Chapman, L. (2007) Transport and climate change: a review. *Journal of Transport Geography*, **15**, 354–367.
- Chivian, E. & Bernstein, A. (2010) *How Our Health Depends on Biodiversity*. Center for health and the global environment, Harvard medical school, Boston, MA.
- Claireau, F. (2014) *Quelle stratégie d'inventaires faune, flore et habitats naturels à l'échelle du Massif armoricain pour les dossiers réglementaires environnementaux (études d'impact et*

- Claireau, F., Bas, Y., Puechmaille, S.J., Julien, J.F., Allegrini, B. & Kerbiriou, C. (in revision) Bat overpasses: an insufficient solution to restore habitat connectivity across roads. *Journal of Applied Ecology*.
- Clark, R.W., Brown, W.S., Stechert, R. & Zamudio, K.R. (2010) Roads, Interrupted Dispersal, and Genetic Diversity in Timber Rattlesnakes: Roads and Population Genetics. *Conservation Biology*, **24**, 1059–1069.
- Coly, R., Barré, K., Gourdain, P., Kerbiriou, C., Marmet, J. & Touroult, J. (2017) Études chiroptérologiques dans les dossiers réglementaires éoliens : disponibilité de l'information et conformité avec les recommandations nationales et européennes. *Naturae*, **3**, 10.
- Cunningham, R.B., Lindenmayer, D.B., Nix, H.A. & Lindenmayer, B.D. (1999) Quantifying observer heterogeneity in bird counts. *Austral Ecology*, **24**, 270–277.
- Cushman, S.A. (2006) Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biological Conservation*, **128**, 231–240.
- Cutler, D.R., Edwards, T.C., Beard, K.H., Cutler, A., Hess, K.T., Gibson, J. & Lawler, J.J. (2007) Random forests for classification in ecology. *Ecology*, **88**, 2783–2792.
- Da Silva, A., Valcu, M. & Kempenaers, B. (2015) Light pollution alters the phenology of dawn and dusk singing in common European songbirds. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **370**, 20140126–20140126.
- Davidson-Watts, I., Walls, S. & Jones, G. (2006) Differential habitat selection by *Pipistrellus pipistrellus* and *Pipistrellus pygmaeus* identifies distinct conservation needs for cryptic species of echolocating bats. *Biological Conservation*, **133**, 118–127.
- Davies, T.W., Duffy, J.P., Bennie, J. & Gaston, K.J. (2014) The nature, extent, and ecological implications of marine light pollution. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **12**, 347–355.
- DGITM. (2011) *Schéma National Des Infrastructures de Transport*. Ministère de l'Écologie, du Développement durable, des Transports et du Logement.
- Diefenbach, D.R., Brauning, D.W. & Mattice, J.A. (2003) VARIABILITY IN GRASSLAND BIRD COUNTS RELATED TO OBSERVER DIFFERENCES AND SPECIES DETECTION RATES. *The Auk*, **120**, 1168.
- Dietz, C., Dietz, I., Ivanova, T. & Siemers, B.M. (2006) Effects of forearm bands on horseshoe bats (Chiroptera: Rhinolophidae). *Acta Chiropterologica*, **8**, 523–535.
- Dietz, M., Pir, J.B. & Hillen, J. (2013) Does the survival of greater horseshoe bats and Geoffroy's bats in Western Europe depend on traditional cultural landscapes? *Biodiversity and Conservation*, **22**, 3007–3025.
- Dixo, M., Metzger, J.P., Morgante, J.S. & Zamudio, K.R. (2009) Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. *Biological Conservation*, **142**, 1560–1569.
- Dobson, S.F. (1982) Competition for mates and predominant juvenile male dispersal in mammals. *Animal Behaviour*, **30**, 1183–1192.

- Dool, S.E., Puechmaille, S.J., Kelleher, C., McAney, K. & Teeling, E.C. (2016) The Effects of Human-Mediated Habitat Fragmentation on a Sedentary Woodland-Associated Species (*Rhinolophus hipposideros*) at Its Range Margin. *Acta Chiropterologica*, **18**, 377–393.
- Duberstein, C.A., Matzner, S., Cullinan, V.I., Virden, D.J., Myers, J.R. & Maxwell, A.R. (2012) *Automated Thermal Image Processing for Detection and Classification of Birds and Bats*. Pacific Northwest National Laboratory, Richland, Washington 99352.
- Dulac, J. (2013) *Global Land Transport Infrastructure Requirements; Estimating Road and Railway Infrastructure Capacity and Costs to 2050*. International Energy Agency.
- Encarnacao, J.A., Kierdorf, U., Holweg, D., Jasnoch, U. & Wolters, V. (2005) Sex-related differences in roost-site selection by Daubenton's bats *Myotis daubentonii* during the nursery period. *Mammal Review*, **35**, 285–294.
- Entwistle, A.C., Harris, S., Hutson, A.M., Racey, P.A., Walsh, A., Gibson, S.D., Hepburn, I. & Johnston, J. (2001) *Habitat Management for Bats: A Guide for Land Managers, Land Owners and Their Advisors*. Joint Nature Conservation Committee, Peterborough.
- Erwin, R.M. (1982) Observer variability in estimating numbers: An experiment. *Journal of Field Ornithology*, **53**, 159–167.
- European Environment Agency & Schweiz (eds). (2011) *Landscape Fragmentation in Europe: Joint EEA-FOEN Report*. Europ. Environment Agency [u.a.], Copenhagen.
- Evans, K.L., Warren, P.H. & Gaston, K.J. (2005) Species–energy relationships at the macroecological scale: a review of the mechanisms. *Biological Reviews*, **80**, 1–25.
- Fagart, S., Quaintenne, G., Heurtebise, C. & Chavaren, P. (2016) *Retour d'expérience Des Aménagements et Des Suivis Faunistiques Sur Le Réseau VINCI Autoroutes*. LPO France, VINCI Auttoroutes, CEREMA.
- Fahrig, L. (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, **34**, 487–515.
- Fensome, A.G. & Mathews, F. (2016) Roads and bats: a meta-analysis and review of the evidence on vehicle collisions and barrier effects. *Mammal Review*, **46**, 311–323.
- Fernández-Mazuecos, M. & Vargas, P. (2015) Quaternary radiation of bifid toadflaxes (*Linaria* sect. *Versicolores*) in the Iberian Peninsula: low taxonomic signal but high geographic structure of plastid DNA lineages. *Plant Systematics and Evolution*, **301**, 1411–1423.
- Fischer, J. & Lindenmayer, D.B. (2007) Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Global ecology and biogeography*, **16**, 265–280.
- Fitzpatrick, M.C., Preisser, E.L., Ellison, A.M. & Elkinton, J.S. (2009) Observer bias and the detection of low-density populations. *Ecological Applications*, **19**, 1673–1679.
- Flanders, J. & Jones, G. (2009) Roost Use, Ranging Behavior, and Diet of Greater Horseshoe Bats (*Rhinolophus ferrumequinum*) Using a Transitional Roost. *Journal of Mammalogy*, **90**, 888–896.
- Flaquer, C., Torre, I. & Ruiz-Jarillo, R. (2006) The value of bat-boxes in the conservation of *Pipistrellus pygmaeus* in wetland rice paddies. *Biological Conservation*, **128**, 223–230.
- Foley, J.A. (2005) Global Consequences of Land Use. *Science*, **309**, 570–574.

- 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**, 207–231.
- Forman, R.T.T. & Deblinger, R.D. (2000) The Ecological Road-Effect Zone of a Massachusetts (U.S.A.) Suburban Highway. *Conservation Biology*, **14**, 36–46.
- Frederick, P.C., Hylton, B., Heath, J.A. & Ruane, M. (2003) Accuracy and variation in estimates of large numbers of birds by individual observers using an aerial survey simulator. *Journal of Field Ornithology*, **74**, 281–287.
- Frey-Ehrenbold, A., Bontadina, F., Arlettaz, R. & Obrist, M.K. (2013) Landscape connectivity, habitat structure and activity of bat guilds in farmland-dominated matrices ed M. Pocock. *Journal of Applied Ecology*, **50**, 252–261.
- Froidevaux, J.S.P., Boughey, K.L., Barlow, K.E. & Jones, G. (2017) Factors driving population recovery of the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) in the UK: implications for conservation. *Biodiversity and Conservation*, **26**, 1601–1621.
- Froidevaux, J.S.P., Zellweger, F., Bollmann, K. & Obrist, M.K. (2014) Optimizing passive acoustic sampling of bats in forests. *Ecology and Evolution*, **4**, 4690–4700.
- Furmankiewicz, J. & Altringham, J. (2007) Genetic structure in a swarming brown long-eared bat (*Plecotus auritus*) population: evidence for mating at swarming sites. *Conservation Genetics*, **8**, 913–923.
- Gaston, K.J. (2000) Global patterns in biodiversity. *Nature*, **405**, 220–227.
- Gaston, K.J., Duffy, J.P. & Bennie, J. (2015) Quantifying the erosion of natural darkness in the global protected area system: Decline of Darkness Within Protected Areas. *Conservation Biology*, **29**, 1132–1141.
- Geneletti, D. (2006) Some common shortcomings in the treatment of impacts of linear infrastructures on natural habitat. *Environmental Impact Assessment Review*, **26**, 257–267.
- Haddad, N.M., Brudvig, L.A., Clobert, J., Davies, K.F., Gonzalez, A., Holt, R.D., Lovejoy, T.E., Sexton, J.O., Austin, M.P., Collins, C.D., Cook, W.M., Damschen, E.I., Ewers, R.M., Foster, B.L., Jenkins, C.N., King, A.J., Laurance, W.F., Levey, D.J., Margules, C.R., Melbourne, B.A., Nicholls, A.O., Orrock, J.L., Song, D.-X. & Townshend, J.R. (2015) Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances*, **1**, e1500052–e1500052.
- Haquart, A. (2013) *Référentiel d'activité Des Chiroptères*. École Pratique des Hautes Études (EPHE).
- Hartl, G.B., Zachos, F.E., Nadlinger, K., Ratkiewicz, M., Klein, F. & Lang, G. (2005) Allozyme and mitochondrial DNA analysis of French red deer (*Cervus elaphus*) populations: genetic structure and its implications for management and conservation. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, **70**, 24–34.
- Haynes, G.D., Gilligan, D.M., Grewe, P. & Nicholas, F.W. (2009) Population genetics and management units of invasive common carp *Cyprinus carpio* in the Murray-Darling Basin, Australia. *Journal of Fish Biology*, **75**, 295–320.

- Haysom, K., Dekker, J., Russ, J., Meij, T., van der, Strien, A., van & European Environment Agency. (2013) *European Bat Population Trends: A Prototype Biodiversity Indicator*. Publications Office, Luxembourg.
- Holderegger, R. & Di Giulio, M. (2010) The genetic effects of roads: A review of empirical evidence. *Basic and Applied Ecology*, **11**, 522–531.
- Hutterer, R., Ivanova, T., Meyer-Cords, C. & Rodrigues, L. (2005) *Bat Migration in Europe. A Review of Banding Data and Literature*. Federal Agency for Nature Conservation, Bonn.
- Jan, P.-L. (2017) *Étude Non Invasive de La Dynamique et de La Génétique Des Populations Chez Une Chauves-Souris Forestière: Impact de La Qualité de l'habitat et de La Connectivité*. Agrocampus Ouest, INRA.
- Jeliazkov, A., Bas, Y., Kerbiriou, C., Julien, J.-F., Penone, C. & Le Viol, I. (2016) Large-scale semi-automated acoustic monitoring allows to detect temporal decline of bush-crickets. *Global Ecology and Conservation*, **6**, 208–218.
- Jiguet, F. (2009) Method learning caused a first-time observer effect in a newly started breeding bird survey. *Bird Study*, **56**, 253–258.
- Jombart, T. (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, **24**, 1403–1405.
- Jombart, T. & Ahmed, I. (2011) adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, **27**, 3070–3071.
- Jombart, T., Devillard, S. & Balloux, F. (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, **11**, 94.
- Jones, G. & Van Parijs, S.M. (1993) Bimodal echolocation in pipistrelle bats: are cryptic species present? *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **251**, 119–125.
- Jones, O.R. & Wang, J. (2010) COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 551–555.
- Keller, I. & Largiader, C.R. (2003) Recent habitat fragmentation caused by major roads leads to reduction of gene flow and loss of genetic variability in ground beetles. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **270**, 417–423.
- Kelm, D.H., Lenski, J., Kelm, V., Toelch, U. & Dziock, F. (2014) Seasonal Bat Activity in Relation to Distance to Hedgerows in an Agricultural Landscape in Central Europe and Implications for Wind Energy Development. *Acta Chiropterologica*, **16**, 65–73.
- Kendall, W.L., Peterjohn, B.G. & Sauer, J.R. (1996) First-Time Observer Effects in the North American Breeding Bird Survey. *The Auk*, **113**, 823–829.
- 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.
- Kitzes, J. & Merenlender, A. (2014) Large Roads Reduce Bat Activity across Multiple Species ed R.M. Brigham. *PLoS ONE*, **9**, e96341.
- Krauss, J., Bommarco, R., Guardiola, M., Heikkinen, R.K., Helm, A., Kuussaari, M., Lindborg, R., Öckinger, E., Pärtel, M., Pino, J., Pöyry, J., Raatikainen, K.M., Sang, A., Stefanescu, C.,

- Teder, T., Zobel, M. & Steffan-Dewenter, I. (2010) Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels: Immediate and time-delayed biodiversity loss. *Ecology Letters*, **13**, 597–605.
- Krull, D., Schumm, A., Metzner, W. & Neuweiler, G. (1991) Foraging areas and foraging behavior in the notch-eared bat, *Myotis emarginatus* (Vespertilionidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **28**.
- Lacoeuilhe, A., Machon, N., Julien, J.-F. & Kerbiriou, C. (2016) Effects of hedgerows on bats and bush crickets at different spatial scales. *Acta Oecologica*, **71**, 61–72.
- Lacoeuilhe, A., Machon, N., Julien, J.-F. & Kerbiriou, C. (2018) The Relative Effects of Local and Landscape Characteristics of Hedgerows on Bats. *Diversity*, **10**, 72.
- Lacoeuilhe, A., Machon, N., Julien, J.-F., Le Bocq, A. & Kerbiriou, C. (2014) The Influence of Low Intensities of Light Pollution on Bat Communities in a Semi-Natural Context ed J.M. Ratcliffe. *PLoS ONE*, **9**, e103042.
- Lamb, C.T., Mowat, G., Reid, A., Smit, L., Proctor, M., McLellan, B.N., Nielsen, S.E. & Boutin, S. (2018) Effects of habitat quality and access management on the density of a recovering grizzly bear population ed K. Marnewick. *Journal of Applied Ecology*, **55**, 1406–1417.
- LaPoint, S., Gallery, P., Wikelski, M. & Kays, R. (2013) Animal behavior, cost-based corridor models, and real corridors. *Landscape Ecology*, **28**, 1615–1630.
- Lemaire, M., Arthur, L., Morin, A. & Prévost, C. (2006) Étude du transit des chauves-souris et propositions d'aménagements autour de la rocade Est de Bourges. *Symbioses*, **15**, 47–52.
- Leuchtmann, M. (2018) *Grand Rhinolophe et Trame Verte Bocagère : Étude Des Facteurs Environnementaux Influant Sur La Dynamique de La Population - Rapport d'activités - Projet Régional - Phase N°2/3*. Poitou-Charente Nature.
- Lewis, S.E. (1995) Roost Fidelity of Bats: A Review. *Journal of Mammalogy*, **76**, 481–496.
- Magnusson, K.E.G., Jalden, J., Gilbert, P.M. & Blau, H.M. (2015) Global Linking of Cell Tracks Using the Viterbi Algorithm. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, **34**, 911–929.
- 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.
- Manni, F., Guerard, E. & Heyer, E. (2004) Geographic Patterns of (Genetic, Morphologic, Linguistic) Variation: How Barriers Can Be Detected by Using Monmonier's Algorithm. *Human Biology*, **76**, 173–190.
- Marucco, F., Boitani, L., Pletscher, D.H. & Schwartz, M.K. (2011) Bridging the gaps between non-invasive genetic sampling and population parameter estimation. *European Journal of Wildlife Research*, **57**, 1–13.
- Matzner, S., Cullinan, V.I. & Duberstein, C.A. (2015) Two-dimensional thermal video analysis of offshore bird and bat flight. *Ecological Informatics*, **30**, 20–28.
- Maxwell, S.L., Fuller, R.A., Brooks, T.M. & Watson, J.E.M. (2016) Biodiversity The ravages of guns, nets and bulldozers. *Nature*, **536**, 143–145.
- Medinas, D., Marques, J.T. & Mira, A. (2013) Assessing road effects on bats: the role of landscape, road features, and bat activity on road-kills. *Ecological Research*, **28**, 227–237.

- MEEM. (2016) *Chiffres Clés de l'environnement - Édition 2016*. Ministère de l'environnement, de l'énergie et de la mer, en charge des relations internationales sur le climat.
- MEEM. (2017) *Chiffres Clés Du Transport - Édition 2017*. Ministère de l'environnement, de l'énergie et de la mer, en charge des relations internationales sur le climat.
- Millon, L., Colin, C., Brescia, F. & Kerbiriou, C. (2018) Wind turbines impact bat activity, leading to high losses of habitat use in a biodiversity hotspot. *Ecological Engineering*, **112**, 51–54.
- Millon, L., Julien, J.-F., Julliard, R. & Kerbiriou, C. (2015) Bat activity in intensively farmed landscapes with wind turbines and offset measures. *Ecological Engineering*, **75**, 250–257.
- Minderman, J., Gillis, M.H., Daly, H.F. & Park, K.J. (2017) Landscape-scale effects of single- and multiple small wind turbines on bat activity. *Animal Conservation*, **20**, 455–462.
- Mitchell-Jones, T. & English Nature (Agency). (2004) *Bat Mitigation Guidelines*.
- MNHN. (2015) Référentiel Vigie-Chiro.
- Møller, J.D., Dekker, J., Baagøe, H.J., Garin, I., Alberdi, A., Christensen, M. & Elmeros, M. (2016) *Effectiveness of Mitigating Measures for Bats – a Review*. CEDR Transnational Road Research Programme.
- Monmonier, M.S. (2010) Maximum-Difference Barriers: An Alternative Numerical Regionalization Method*. *Geographical Analysis*, **5**, 245–261.
- Monteith, J.L. & Unsworth, M.H. (2013) *Principles of Environmental Physics: Plants, Animals, and the Atmosphere*, 4th ed. Elsevier/Academic Press, Amsterdam ; Boston.
- Nardone, V., Cistrone, L., Di Salvo, I., Ariano, A., Migliozi, A., Allegrini, C., Ancillotto, L., Fulco, A. & Russo, D. (2015) How to Be a Male at Different Elevations: Ecology of Intra-Sexual Segregation in the Trawling Bat *Myotis daubentonii* ed R.M. Brigham. *PLOS ONE*, **10**, e0134573.
- Newson, S.E., Evans, H.E. & Gillings, S. (2015) A novel citizen science approach for large-scale standardised monitoring of bat activity and distribution, evaluated in eastern England. *Biological Conservation*, **191**, 38–49.
- Nicholls, B. & Racey, P.A. (2006) Contrasting home-range size and spatial partitioning in cryptic and sympatric pipistrelle bats. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **61**, 131–142.
- Nowicki, F., Arthur, L., Dorey, J., Rael, V. & Rousselle, K. (2016) *Chiroptères et Infrastructures de Transport*. CEREMA.
- Obrist, M.K., Boesch, R. & Flückiger, P.F. (2004) Variability in echolocation call design of 26 Swiss bat species: consequences, limits and options for automated field identification with a synergetic pattern recognition approach. *Mammalia*, **68**, 307–322.
- Opdam, P., van Apeldoorn, R., Schotman, A. & Kalkhoven, J. (1993) Population responses to landscape fragmentation. *Landscape Ecology of a Stressed Environment* (eds C.C. Vos & P. Opdam), pp. 147–171. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Osenberg, C.W., Bolker, B.M., White, J.-S.S., Mary, C.M.S. & Shima, J.S. (2006) Statistical Issues and Study Design in Ecological Restorations: Lessons Learned from Marine Reserves. *Foundations of restoration ecology*, A.D. Falk, M.A. Palmer & J.B. Zedler, pp. 280–302. Island Press, Washington,DC,USA.

- Pauwels, J., Le Viol, I., Azam, C., Valet, N., Julien, J.-F., Bas, Y., Lemarchand, C., Sàncnez De Miguel, A. & Kerbiriou, C. (in press) Accounting for artificial light impact on bat activity for a biodiversity-friendly urban planning. *Landscape and Urban Planning*.
- Perkin, E.K., Hölker, F., Richardson, J.S., Sadler, J.P., Wolter, C. & Tockner, K. (2011) The influence of artificial light on stream and riparian ecosystems: questions, challenges, and perspectives. *Ecosphere*, **2**, art122.
- Pinaud, D., Claireau, F., Leuchtman, M. & Kerbiriou, C. (2018) Modelling landscape connectivity for greater horseshoe bat using an empirical quantification of resistance. *Journal of Applied Ecology*.
- Pourshoushtari, R.D., Pauli, B.P., Zollner, P.A. & Haulton, G.S. (2018) Road and Habitat Interact to Influence Selection and Avoidance Behavior of Bats in Indiana. *Northeastern Naturalist*, **25**, 236–247.
- 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.
- Puig-Montserrat, X., Torre, I., López-Baucells, A., Guerrieri, E., Monti, M.M., Ràfols-García, R., Ferrer, X., Gisbert, D. & Flaquer, C. (2015) Pest control service provided by bats in Mediterranean rice paddies: linking agroecosystems structure to ecological functions. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, **80**, 237–245.
- Quinn, J.F. & Harrison, S.P. (1988) Effects of habitat fragmentation and isolation on species richness: evidence from biogeographic patterns. *Oecologia*, **75**, 132–140.
- Raap, T., Pinxten, R. & Eens, M. (2015) Light pollution disrupts sleep in free-living animals. *Scientific Reports*, **5**.
- Ramirez, M.G. & Haakonsen, K.E. (1999) Gene flow among habitat patches on a fragmented landscape in the spider *Argiope trifasciata* (Araneae: Araneidae). *Heredity*, **83**, 580.
- Raup, D.M. (1986) Biological Extinction in Earth History. *Science*, **231**, 1528–1533.
- van der Ree, R., Smith, D.J. & Grilo, C. (eds). (2015) *Handbook of Road Ecology: Van Der Ree/Handbook of Road Ecology*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.
- Regnery, B., Quétier, F., Cozannet, N., Gaucherand, S., Laroche, A., Burylo, M., Couvet, D. & Kerbiriou, C. (2013) Mesures compensatoires pour la biodiversité: comment améliorer les dossiers environnementaux et la gouvernance ? *Sciences Eaux & Territoires*, **8**.
- Régnier, C., Achaz, G., Lambert, A., Cowie, R.H., Bouchet, P. & Fontaine, B. (2015) Mass extinction in poorly known taxa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **112**, 7761–7766.
- 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.
- Rheindt, F.E. (2003) The impact of roads on birds: Does song frequency play a role in determining susceptibility to noise pollution? *Journal of Ornithology*, **144**, 295–306.
- Roeleke, M., Blohm, T., Kramer-Schadt, S., Yovel, Y. & Voigt, C.C. (2016) Habitat use of bats in relation to wind turbines revealed by GPS tracking. *Scientific Reports*, **6**.

- Roemer, C., Disca, T., Coulon, A. & Bas, Y. (2017) Bat flight height monitored from wind masts predicts mortality risk at wind farms. *Biological Conservation*, **215**, 116–122.
- Rousset, F. (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, **145**, 1219–1228.
- Russell, A., Butchkoski, C., Saidak, L. & McCracken, G. (2009) Road-killed bats, highway design, and the commuting ecology of bats. *Endangered Species Research*, **8**, 49–60.
- Rydell, J., Nyman, S., Eklöf, J., Jones, G. & Russo, D. (2017) Testing the performances of automated identification of bat echolocation calls: A request for prudence. *Ecological Indicators*, **78**, 416–420.
- Safi, K. (2008) Social Bats: The Males' Perspective. *Journal of Mammalogy*, **89**, 1342–1350.
- Saunders, D.A., Hobbs, R.J. & Margules, C.R. (1991) Biological Consequences of Ecosystem Fragmentation: A Review. *Conservation biology*, **5**, 18–32.
- Schaub, A., Ostwald, J. & Siemers, B.M. (2008) Foraging bats avoid noise. *Journal of Experimental Biology*, **211**, 3174–3180.
- Sefc, K.M., Payne, R.B. & Sorenson, M.D. (2003) MICROSATELLITE AMPLIFICATION FROM MUSEUM FEATHER SAMPLES: EFFECTS OF FRAGMENT SIZE AND TEMPLATE CONCENTRATION ON GENOTYPING ERRORS. *The Auk*, **120**, 982.
- Seiler, A. (2003) Chapter 3: Habitat Fragmentation due to Transportation Infrastructure. *Habitat fragmentation due to transportation infrastructure: COST action 341 ; the European review* EUR Transport., p. 34. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- Selva, N., Kreft, S., Kati, V., Schluck, M., Jonsson, B.-G., Mihok, B., Okarma, H. & Ibisch, P.L. (2011) Roadless and Low-Traffic Areas as Conservation Targets in Europe. *Environmental Management*, **48**, 865–877.
- Senior, P., Butlin, R.K. & Altringham, J.D. (2005) Sex and segregation in temperate bats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **272**, 2467–2473.
- Siemers, B.M. & Schaub, A. (2011) Hunting at the highway: traffic noise reduces foraging efficiency in acoustic predators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **278**, 1646–1652.
- Slootweg, R. & Kolhoff, A. (2003) A generic approach to integrate biodiversity considerations in screening and scoping for EIA. *Environmental Impact Assessment Review*, **23**, 657–681.
- Smith, D., Borkin, K., Jones, C., Lindberg, A., Davies, F. & Eccles, G. (2017) *Effects of Land Transport Activities on New Zealand's Endemic Bat Populations: Reviews of Ecological and Regulatory Literature*. New Zealand Transport Agency, Private Bag 6995, Wellington 6141, New Zealand Wellington.
- Smith, D.J., van der Ree, R. & Rosell, C. (2015) Wildlife Crossing Structures; An Effective Strategy to Restore or Maintain Wildlife Connectivity Across Roads. *Handbook of Road Ecology*, pp. 172–183. John Wiley & Sons, Ltd.
- Sordello, R., Conruyt-Rogéon, G., Merlet, F., Houard, X. & Touroult, J. (2013) *Synthèses Bibliographiques Sur Les Traits de Vie de 39 Espèces Proposées Pour La Cohérence Nationale de La Trame Verte et Bleue Relatifs à Leurs Déplacements et Besoins de Continuité*

- Srivastava, D.S. & Lawton, J.H. (1998) Why More Productive Sites Have More Species: An Experimental Test of Theory Using Tree-Hole Communities. *The American Naturalist*, **152**, 510–529.
- Stahlschmidt, P. & Brühl, C.A. (2012) Bats as bioindicators - the need of a standardized method for acoustic bat activity surveys: *Standardized bat surveys. Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 503–508.
- Stewart-Oaten, A., Murdoch, W.W. & Parker, K.R. (1986) Environmental Impact Assessment: 'Pseudoreplication' in Time? *Ecology*, **67**, 929–940.
- Stone, E.L., Harris, S. & Jones, G. (2014) Impacts of artificial lighting on bats: A review of challenges and solutions. *Mammalian Biology*.
- Stone, E.L., Jones, G. & Harris, S. (2009) Street Lighting Disturbs Commuting Bats. *Current Biology*, **19**, 1123–1127.
- Sunderland, T., Sunderland-Groves, J., Shanley, P. & Campbell, B. (2009) Bridging the Gap: How Can Information Access and Exchange Between Conservation Biologists and Field Practitioners be Improved for Better Conservation Outcomes?: Bridging the Gap. *Biotropica*, **41**, 549–554.
- Sutherland, W.J., Pullin, A.S., Dolman, P.M. & Knight, T.M. (2004) The need for evidence-based conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, **19**, 305–308.
- Szentkuti, S., Bontadina, F., Spada, M., Moretti, M., Zambelli, N., Martinoli, A. & Arlettaz, R. (2013) Factors underlying migratory bat aggregations in chestnut groves. *Endangered Species Research*, **21**, 105–114.
- Temple, H.J. & Terry, A. (2007) *The Status and Distribution of European Mammals*. World Conservation Union (IUCN), Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
- Thiault, L., Kernaléguen, L., Osenberg, C.W. & Claudet, J. (2017) Progressive-Change BACIPS: a flexible approach for environmental impact assessment ed R. McCrea. *Methods in Ecology and Evolution*, **8**, 288–296.
- Tilman, D., May, R.M., Lehman, C.L. & Nowak, M.A. (1994) Habitat destruction and the extinction debt. *Nature*, **371**, 65–66.
- Trombulak, S.C. & Frissell, C.A. (2000) Review of Ecological Effects of Roads on Terrestrial and Aquatic Communities. *Conservation Biology*, **14**, 18–30.
- Tucker, M.A., Böhning-Gaese, K., Fagan, W.F., Fryxell, J.M., Van Moorter, B., Alberts, S.C., Ali, A.H., Allen, A.M., Attias, N., Avgar, T., Bartlam-Brooks, H., Bayarbaatar, B., Belant, J.L., Bertassoni, A., Beyer, D., Bidner, L., van Beest, F.M., Blake, S., Blaum, N., Bracis, C., Brown, D., de Bruyn, P.J.N., Cagnacci, F., Calabrese, J.M., Camilo-Alves, C., Chamaillé-Jammes, S., Chiaradia, A., Davidson, S.C., Dennis, T., DeStefano, S., Diefenbach, D., Douglas-Hamilton, I., Fennessy, J., Fichtel, C., Fiedler, W., Fischer, C., Fischhoff, I., Fleming, C.H., Ford, A.T., Fritz, S.A., Gehr, B., Goheen, J.R., Gurarie, E., Hebblewhite, M., Heurich, M., Hewison, A.J.M., Hof, C., Hurme, E., Isbell, L.A., Janssen, R., Jeltsch, F., Kaczensky, P., Kane, A., Kappeler, P.M., Kauffman, M., Kays, R., Kimuyu, D., Koch, F.,

- Kranstauber, B., LaPoint, S., Leimgruber, P., Linnell, J.D.C., López-López, P., Markham, A.C., Mattisson, J., Medici, E.P., Mellone, U., Merrill, E., de Miranda Mourão, G., Morato, R.G., Morellet, N., Morrison, T.A., Díaz-Muñoz, S.L., Mysterud, A., Nandintsetseg, D., Nathan, R., Niamir, A., Odden, J., O'Hara, R.B., Oliveira-Santos, L.G.R., Olson, K.A., Patterson, B.D., Cunha de Paula, R., Pedrotti, L., Reineking, B., Rimmler, M., Rogers, T.L., Rolandsen, C.M., Rosenberry, C.S., Rubenstein, D.I., Safi, K., Saïd, S., Sapir, N., Sawyer, H., Schmidt, N.M., Selva, N., Sergiel, A., Shiilegdamba, E., Silva, J.P., Singh, N., Solberg, E.J., Spiegel, O., Strand, O., Sundaresan, S., Ullmann, W., Voigt, U., Wall, J., Wattles, D., Wikelski, M., Wilmers, C.C., Wilson, J.W., Wittemyer, G., Zięba, F., Zwijacz-Kozica, T. & Mueller, T. (2018) Moving in the Anthropocene: Global reductions in terrestrial mammalian movements. *Science*, **359**, 466–469.
- Tuytens, F.A.M., de Graaf, S., Heerkens, J.L.T., Jacobs, L., Nalon, E., Ott, S., Stadig, L., Van Laer, E. & Ampe, B. (2014) Observer bias in animal behaviour research: can we believe what we score, if we score what we believe? *Animal Behaviour*, **90**, 273–280.
- United Nations. (2014) *World Urbanization Prospects: The 2014 Revision, Highlights (ST/ESA/SER.A/352)*. United Nations.
- 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.
- VINCI Autoroutes. (2018) *Rapport d'activité 2017*. VINCI Autoroutes.
- Wellig, S.D., Nusslé, S., Miltner, D., Kohle, O., Glaizot, O., Braunisch, V., Obrist, M.K. & Arlettaz, R. (2018) Mitigating the negative impacts of tall wind turbines on bats: Vertical activity profiles and relationships to wind speed ed V. Magar. *PLOS ONE*, **13**, e0192493.
- Wilcove, D.S., McLellan, C.H. & Dobson, A.P. (1986) Habitat fragmentation in the temperate zone. *Conservation biology*, 237–256.
- Wimmer, J., Towsey, M., Roe, P. & Williamson, I. (2013) Sampling environmental acoustic recordings to determine bird species richness. *Ecological Applications*, **23**, 1419–1428.
- Young, A., Boyle, T. & Brown, T. (1996) The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology & Evolution*, **11**, 413–418.
- Young, H.S., McCauley, D.J., Galetti, M. & Dirzo, R. (2016) Patterns, Causes, and Consequences of Anthropocene Defaunation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **47**, 333–358.
- Zarzoso-Lacoste, D., Jan, P.-L., Lehnen, L., Girard, T., Besnard, A.-L., Puechmaille, S.J. & Petit, E.J. (2018) Combining noninvasive genetics and a new mammalian sex-linked marker provides new tools to investigate population size, structure and individual behaviour: An application to bats. *Molecular Ecology Resources*, **18**, 217–228.
- Zurcher, A.A., Sparks, D.W. & Bennett, V.J. (2010) Why the Bat Did Not Cross the Road? *Acta Chiropterologica*, **12**, 337–340.

RESUME

Les infrastructures linéaires de transports (ILT), dont les routes, sont une des principales causes du déclin de la biodiversité. Bien que les évaluations environnementales permettent de limiter ce déclin, la séquence "Eviter, Réduire et Compenser" les impacts peine à s'appliquer pleinement. En effet, la séquence ERC fait bien souvent appel à des données qualitatives en oubliant les processus biologiques et/ou écologiques et leur échelle spatio-temporelle. L'impact des routes est globalement bien documenté pour plusieurs groupes biologiques, hormis pour les chauves-souris, pourtant susceptibles d'être très fortement affectées. Par ailleurs, leur protection stricte nécessite leur prise en compte dans la séquence ERC. Pour étudier l'impact des routes, et notamment des autoroutes, je me suis concentré sur l'étude des chauves-souris afin de mesurer et quantifier leur magnitude. Pour cela, différentes méthodes développées et réutilisables par les différents acteurs de terrain seront présentées. Ainsi, dans un premier temps, je me suis intéressé à une méthode de traitement des données issues d'écoutes acoustiques et à une méthode de valorisation. Dans un second temps, nous avons appliqué ces méthodes afin (i) de connaître quels étaient les impacts des routes sur les populations de chauves-souris et (ii) afin d'évaluer l'efficacité des mesures de réductions engagées pour réduire ces impacts. Nos principaux résultats montrent que les autoroutes ont un impact négatif significatif sur l'activité de chasse et de transit pour plusieurs espèces de chauves-souris jusqu'à au moins cinq kilomètres de distance à une autoroute. De plus, l'effet des autoroutes semblerait également avoir des conséquences sur la génétique des populations. Enfin, nous avons étudié les chiroptéroducts, ouvrages dédiés aux chauves-souris visant à réduire ces impacts par l'amélioration des connectivités écologiques. Ce type d'ouvrage dédié semble être approprié lorsqu'il est situé dans des corridors écologiques fins tels que les haies.