

**Etude non invasive de la dynamique et de la génétique
des populations chez une chauve-souris forestière :
impact de la qualité de l'habitat et de la connectivité**

Pierre-Loup Jan

► **To cite this version:**

Pierre-Loup Jan. Etude non invasive de la dynamique et de la génétique des populations chez une chauve-souris forestière : impact de la qualité de l'habitat et de la connectivité. Ecologie, Environnement. Agrocampus Ouest, 2017. Français. NNT : 2017NSARH103 . tel-01944103

HAL Id: tel-01944103

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01944103>

Submitted on 4 Dec 2018

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.

AGRO CAMPUS

OUEST

Pierre-Loup JAN • 11 décembre 2017

Thèse AGROCAMPUS OUEST
sous le label de l'Université Bretagne Loire
pour obtenir le grade de
DOCTEUR D'AGROCAMPUS OUEST
Spécialité Écologie & Évolution

ÉCOLE DOCTORALE • Écologie, Géosciences, Agronomie et
Alimentation (EGAAL)

LABORATOIRE D'ACCUEIL • UMR INRA / AGROCAMPUS OUEST
Écologie et Santé des Écosystèmes (ESE)

Étude non invasive de la dynamique et de la génétique des populations chez une chauve-souris forestière : impact de la qualité de l'habitat et de la connectivité

Manuel PLANTEGENEST

Professeur, AGROCAMPUS OUEST, UMR INRA-AO-UR1 IGEPP /
président

Roger PRADEL

Directeur de recherche, CEFE Montpellier / *rapporteur*

Philippe CHRISTE

Professeur associé, Université de Lausanne / *rapporteur*

Nathalie CHARBONNEL

Directrice de recherche, INRA Montferrier-sur-Lez / *examinatrice*

Éric PETIT

Directeur de recherche, UMR INRA-AO ESE / *directeur de thèse*

Sébastien PUECHMAILLE

Maître de conférences, Université Ernst-Moritz-Arndt Greifswald /
co-directeur de thèse

Pascaline LE GOUAR

Maître de conférences, Université Rennes1 / *co-encadrante*

Marguerite DELAVAL

Cheffe de projet, ONF Villers-Cotterêts / *invitée*



THESE/AGROCAMPUS OUEST

Sous le label de l'Université Européenne de Bretagne
Pour obtenir le diplôme de :

**DOCTEUR DE L'INSTITUT SUPÉRIEUR DES SCIENCES AGRONOMIQUES,
AGRO-ALIMENTAIRES, HORTICOLES ET DU PAYSAGE**

Spécialité : Écologie et évolution

Ecole Doctorale : Écologie, Géosciences, Agronomie, Alimentation

Présentée par :

Pierre-Loup JAN

**ÉTUDE NON INVASIVE DE LA DYNAMIQUE ET DE LA GÉNÉTIQUE DES
POPULATIONS CHEZ UNE CHAUVE-SOURIS FORESTIÈRE : IMPACT DE LA
QUALITÉ DE L'HABITAT ET DE LA CONNECTIVITÉ**

Directeurs de thèse :

Eric Petit

Directeur de recherche, INRA

Sébastien Puechmaille

Assistant Professor, Institut zoologique de Greifswald

Pascaline Le Gouar

Maître de Conférences, Université de Rennes 1



Sommaire

Remerciements	4
Introduction	8
Préserver les milieux des populations sauvages, un enjeu majeur de la conservation des espèces.	9
Première cause d'extinction : destruction et fragmentation de l'habitat.	9
Dégradation de l'habitat : une menace plus ou moins manifeste.	12
Les défis posés par l'écosystème forestier.	14
L'importance des écosystèmes forestiers pour la biodiversité.	14
Concilier protection des espèces forestières et production de bois.	15
Assurer la viabilité des populations dans un environnement détruit et fragmenté.	18
Probabilité d'extinction des petites populations.	18
Les petites populations isolées ont de plus faibles diversités génétiques.	19
Estimer l'impact des modifications paysagères sur les tailles des populations.	23
Destruction de l'habitat et modifications paysagères.	23
Mesurer la taille des populations.	23
La nécessité des jeux de données sur de large échelles spatio-temporelle.	25
Comprendre les processus sous-jacents pour mieux gérer les populations.	26
L'importance de la dynamique des populations.	26
La méthode de capture-marque-recapture.	27
Comment étudier la dynamique des populations pour les espèces les plus délicates ?	28
Le cas du Petit rhinolophe.	30
Un fort enjeu de conservation.	30
Une espèce fortement liée au milieu forestier.	31
Une variation démographique très documentée mais mal comprise.	33
Problématique et objectifs	34
Partie 1 - Impact du climat et de l'habitat : échelle populationnelle	37
Contexte et objectifs	38
Méthodologie	39
Which temporal resolution to consider when investigating the impact of climatic data on population dynamics? The case of the lesser horseshoe bat (<i>Rhinolophus hipposideros</i>).	41
Introduction	42
Material and Methods	45

Results	48
Discussion	53
Conclusion	58
Data Accessibility	59
Do studies on population-level sensitivity to landscape variables provide similar results to individual-based habitat selection surveys? A case study with a woodland bat species	60
Introduction	61
Materials and Methods	63
Results	67
Discussion	70
Conclusion	74
<i>Partie 2 - Impact de l'habitat : échelle individuelle.</i>	<u>77</u>
Contexte et objectifs	78
Méthodologie	79
Extraction et génotypage	79
Modèle intégré de population	80
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	81
Introduction	82
Material and Methods	84
Results	90
Discussion	96
Conclusion	101
Influence of density, landscape and forest management on vital rates of a woodland bat: benefit of non-invasive genetic monitoring in an integrated population model	102
Introduction	103
Materials and Methods	105
Results	113
Discussion	118
Conclusion	121
<i>Partie 3 – Diversité génétique, connectivité et goulots d'étranglement</i>	<u>124</u>
Contexte et objectifs	125
Méthodologie	125
Disentangling historical population size and connectivity effects on genetic diversity	127
Introduction	128

Material and Methods	131
Results	135
Discussion	140
Conclusion	144
<i>Discussion générale</i>	<i>146</i>
Impact de l'environnement sur les colonies de maternité du Petit rhinolophe	147
Une espèce sensible aux variations climatiques.	147
Des colonies de maternité sensibles à l'habitat proche	149
Des caractéristiques démographiques qui fragilisent les populations.	152
Effet Allee	152
Faible capacité de dispersion et isolement des populations	154
Gestion d'une espèce sensible : comment suivre des populations sans nuire aux individus ?	155
On touche avec les yeux	155
Distinguer différentes classes d'âges avec la génétique non-invasive	156
Ce que nous a apporté la génétique non-invasive : le Petit rhinolophe et au-delà	158
Perspectives	161
Perspectives pour la conservation du Petit rhinolophe	161
Perspectives pour la biologie de la conservation	164
<i>Bibliographie</i>	<i>167</i>
<i>Liste des Tableaux et figures</i>	<i>187</i>
Tableaux	187
Figures	188
<i>Annexes</i>	<i>190</i>
Supplementary Materials	190
Appendix	201
Appendix A: DNA isolation using the NucleoSpin® 96 Plant II Kit (Macherey-Nagel)	201
Appendix B: In silico validation of our sex-linked primer pair.	202
Appendix C: Example of genotype profiles	212
Appendix D: Model structure of the Models CMRo and CMRpa	213
Appendix E: JAGS script of the integrated population model	217
Appendix F: MSVAR analyses	223
Appendix G: VarVer database	225

Remerciements

Bien que mon nom soit le plus visible sur la couverture de ce manuscrit, celui-ci est le fruit de nombreuses collaborations, dans l'analyse comme dans l'écriture.

Les plus grands contributeurs de ce travail sont bien évidemment mes directeurs de thèses, qui m'ont apporté un suivi d'une excellente qualité tout au long de ces trois ans. En plus des conseils et corrections trop nombreux pour être détaillés ici, je remercie personnellement **Pascaline Le Gouar** pour avoir trouvé le temps de me montrer les ficelles de la modélisation, **Sébastien Puechmaille** pour m'avoir accueilli dans son université allemande et surtout **Eric Petit** pour sa disponibilité et sa patience à toute épreuve. Je me suis toujours considéré comme extrêmement chanceux de l'avoir comme encadrant principal.

J'ai également eu la chance de profiter de l'appui de **Diane Zarzoso-Lacoste**, qui a su me préparer un terrain royal en entamant le projet avant mon arrivée, en plus d'être présente du développement des protocoles de biologie moléculaire jusqu'à l'écriture des articles associés. J'espère que ce que j'ai pu lui montrer concernant l'analyse de données compense, au moins en partie, les sueurs froides données par ma maladresse occasionnelle au laboratoire.

Je profite de parler de laboratoire pour remercier grandement **Anne-Laure Besnard**, qui m'a apporté une aide très précieuse pour le génotypage de mes échantillons, et qui a su rester ouverte et patiente face à mes incessantes interruptions, mes montées de stress, ou encore face à la présence d'un fou rigolant tout seul face à des crottes de chauves-souris dans son laboratoire. Je remercie également **Damien Fourcy** pour son aide précieuse concernant tout le travail de géomatique effectué dans cette thèse, **Jérôme Guitton** pour m'avoir formé à la manipulation des bases de données, et enfin **Gervaise Février**, qui a toujours une solution face à n'importe quelle tracasserie administrative.

Si ce manuscrit vous laisse sur votre faim en matière de Petit rhinolophe, sachez que l'épisode deux sera bientôt écrit par **Lisa Lehnen**, une doctorante allemande qui m'a énormément aidé dans le cadre de l'expansion de cette étude à une plus grande échelle, et dont le travail offre des perspectives très intéressantes sur la colonisation de nouveaux milieux par le Petit rhinolophe. Je la remercie également pour m'avoir présenté Greifswald et Berlin, où j'ai pu passer d'excellents moments et goûter d'excellents cocktails.

Cette thèse fut aussi la première occasion pour moi d'encadrer quelqu'un, et j'ai eu la chance d'avoir un excellent stagiaire en la personne de **Thomas Girard**, dont l'enthousiasme et la volonté ont permis de me faire gagner un temps considérable sur les analyses d'assignation de parenté.

Cette thèse fut entièrement financée par l'Office National des Forêts, que je remercie grandement, avec une pensée particulière pour **Raphaël Allaguillaume**, **Catherine Deck**, **Marguerite Delaval**, **Jérôme Jaminon** et **Laurent Tillon**, qui ont suivi ce projet de très près tout au fil de la thèse. Je remercie également l'ensemble des agents qui ont rendu ce travail possible en récoltant les échantillons dans les colonies de ces chers petits rhinolophes.

J'ai également pu profiter de l'aide de nombreux organismes, avec en tête Bretagne Vivante et le Groupe Mammologique Breton, grâce à qui j'ai pu travailler sur les 15 ans de comptages qui constituent la base du premier axe de cette thèse. Je remercie également le Groupe Mammologique Normand, le parc régional naturel du Vexin, le conservatoire des espaces naturels de Champagne-Ardenne, la CPEPESC de Lorraine et le groupe de travail Plecotus de l'association Natagora, qui m'ont fourni des échantillons venant de tout le nord de la France et de Belgique et grâce auxquels nous avons obtenu les résultats détaillés dans le troisième axe de cette thèse.

Je remercie également les membres de mon comité de thèse pour l'avis scientifique très pertinent qu'ils ont su apporter au cours de ces trois ans : **Christian Kerbirou, Josselin Montarry, Marie Nevoux et Michael Schaub.**

Pendant ces trois ans, j'ai eu l'occasion de partager mon bureau avec des doctorants hauts en couleurs, avec par ordre de disparition **Jessica Cote** et sa haine du saumon, **Fanny Caupos** et ses huiles essentielles de qualité discutable, **Lucie Montorio** et ses boules, **Chrystelle Delord** et sa maîtrise des objets coupants, des centrifugeuses et de la recherche sur Youtube, et enfin **Julien Raitiff** et ses blagues de papa. Furent aussi présent **Marc Collinet** et ses râlements intempestifs, ainsi qu'une pile de cartons dont le contenu n'a rien à envier à celui de la personne susnommée. La présence de ces personnes dans le même bureau que moi m'a permis d'avoir des discussions scientifiques très pertinentes, de parler de sujets beaucoup moins pertinents mais tellement plus drôles, de partager mes craintes avec des gens aussi névrosés que moi, de m'entraîner au tir d'élastique et enfin de pratiquer mes vannes sur la couleur des cheveux et les ravages de la vieillesse. L'excellente ambiance de ce bureau fait que je garderais un souvenir très agréable de ces trois années. Dans le même esprit, je remercie **Clarisse Boulenger** pour sa patience, son soutien moral et le partage de ses connaissances bayésiennes, **Gilles Lassalle** pour le développement de serveur linux à la stabilité (ir)reprochable, mais aussi et surtout pour leur humour et leur participation à une ambiance de travail très agréable ponctuée de grands moments de rigolade et/ou de solitude. Je voudrais d'ailleurs ajouter les participations actives de **Aurélie Daroux, Thibaut Jousseume, Jessica Vincent, Anne Tréguier et Gilles Maubert** à cette ambiance, à l'intérieur mais aussi hors du travail.

Je remercie aussi mes amis du master, dont la grande majorité a également continué en thèse, pour avoir assuré un soutien psychologique constant. En effet, dans les moments les plus durs, je savais qu'il y en avait toujours au moins un qui était encore plus dans la merde que moi, et ça, ça compte beaucoup. Je remercie donc **Elsa Call, Amandine Juhel, Gaëtan Seimandi-Corda et Kévin Tougeron.** Je mets une mention spéciale à **Nathan Garcia** grâce à qui la PlayStation 4 a pu devenir un objet de motivation pour bosser ensemble. Je remercie aussi **Cindy Laurent** de m'avoir rappelé que, au moins, moi je n'avais plus à passer d'exams dans des salles surpeuplées et envahies par l'odeur de la peur.

Plein de remerciements également pour ma famille, qui m'a toujours soutenu dans ce que j'ai entrepris, et grâce à qui j'ai pu continuer mes études jusqu'à la thèse. Je les remercie également d'avoir été compréhensifs pour ma disparition quasi-totale pendant les derniers mois de la thèse. Promis, je reprends une vie sociale bientôt.

Je terminerai avec **Marine Lescallier**, qui trouve le temps de partager sa vie avec moi lorsqu'elle n'est pas avec sa jument. Je la félicite pour avoir brillamment passé ses examens malgré une concentration digne d'un nouveau-né pendant les révisions, et je la remercie pour la relecture de ce manuscrit mais surtout pour sa patience (parfois) et son soutien (toujours), surtout dans les moments les plus difficiles. Promis, on part en vacances bientôt.

Introduction

CONTEXTE GÉNÉRAL ET MODÈLE D'ÉTUDE

Préserver les milieux des populations sauvages, un enjeu majeur de la conservation des espèces.

Première cause d'extinction : destruction et fragmentation de l'habitat.

L'écologie nous apprend que toutes les espèces vivantes interagissent entre elles au sein d'un environnement, tissant un réseau complexe de relations interspécifiques qui prend sa source dans les conditions environnementales de l'écosystème. Même si chaque individu est unique dans sa manière d'interagir avec son environnement, les individus d'une même espèce vont avoir des besoins relativement proches. Nous pouvons donc définir un rassemblement local d'individu d'une même espèce pouvant interagir entre eux comme étant une population, et l'environnement physique et biologique utilisé par cette population, son habitat (Hanski and Gilpin 1996; Hall et al. 1997). Cet habitat est donc défini par un grand nombre de facteurs biotiques et abiotiques, qui sont eux-mêmes interdépendants. Parmi ces nombreux facteurs, certains vont être particulièrement cruciaux pour assurer la présence et le maintien des populations (Heinonen et al. 2008; Sfenthourakis and Triantis 2009; Celik et al. 2015). Certaines espèces sont même connues pour ne supporter que des variations très faibles de certains facteurs (on parle alors de "spécialistes", que l'on oppose aux espèces "généralistes"), les rendant beaucoup plus sensibles aux modifications de leur environnement (Devictor et al. 2008). L'altération de la moindre composante de l'écosystème peut donc avoir des effets drastiques sur la dynamique des populations et des communautés, et on comprend donc pourquoi la perte d'habitat est la plus grande menace pour la biodiversité, loin devant la surexploitation ou les espèces invasives (Primack 2006). Ceci place la préservation des milieux nécessaires à la présence des espèces menacées comme l'enjeu le plus essentiel afin de préserver la biodiversité. Préserver ces milieux implique bien sûr de limiter ou de compenser la réduction de leur surface, ce que l'on appelle la destruction d'habitat, mais la perte d'habitat peut également prendre d'autres formes. Si la destruction d'un habitat s'accompagne d'un éclatement de l'habitat d'origine en plusieurs petites parcelles, on parle alors d'une fragmentation de l'habitat (Fahrig 2003), dont les conséquences pour les populations concernées sont détaillées plus bas. La qualité de l'habitat d'une population peut aussi diminuer drastiquement, menaçant la pérennité des populations, sans pour autant impliquer une perte de surface : il s'agit alors de dégradation de l'habitat (Heinrichs et al. 2016).

La destruction actuelle des habitats est presque exclusivement une conséquence directe des activités anthropiques, des processus qui vont modifier les paysages naturels pour subvenir aux

besoins des populations humaines. Ainsi, seul 15% du territoire européen n'a pas été directement modifié par l'homme (Primack 2006). La principale motivation des changements reste encore aujourd'hui l'agriculture : 98% des surfaces arables de la terre ont déjà été modifiées pour être cultivées (Sanderson et al. 2002), cette activité étant celle qui affecte le plus d'espèces menacées, devant tout autres changements paysagers tels que le développement urbain ou de pâturages (Wilcove et al. 1998; Venter et al. 2006; Laurance and Useche 2009). Si le développement urbain et la construction d'infrastructures ne modifient pas les paysages à un rythme aussi effréné que l'agriculture, il s'agit également d'un facteur majeur de la perte de biodiversité, puisque les paysages de remplacement sont généralement très peu propices à la biodiversité (Hunter Jr and Gibbs 2006). La destruction d'habitat peut être totale dans une région donnée et causer la disparition des toutes les espèces dépendantes de ses ressources. Les changements paysagers se font cependant plus généralement de manière progressive, et des destructions partielles peuvent réduire l'étendue d'un habitat donné sans le faire disparaître du paysage. Cette perte partielle de l'habitat reste cependant problématique. On sait depuis longtemps que la taille des patchs d'écosystèmes influe sur le nombre d'espèces présentes (Järvinen and Ranta 1987). A l'échelle des populations, un habitat moins étendu va également signifier des ressources plus restreintes, et va logiquement diminuer la taille des populations concernées.

Il est très courant que la destruction d'un habitat ne s'effectue pas de manière continue le long des habitats naturels, mais de manière plus intrusive (Forman 1995; Collinge and Forman 1998 - Figure 1). Ainsi, les changements paysagers commencent généralement par une ou plusieurs routes traversant le milieu, on parle alors de dissection. La destruction d'habitat peut commencer à s'étendre à partir de différents points de ces routes, causant une perforation irrégulière de l'environnement naturel où des patchs modifiés pour l'agriculture ou d'autres activités humaines apparaissent. Au fur et à mesure que le paysage est modifié et que les milieux naturels régressent, la tendance s'inverse et l'habitat est réduit à différents patchs isolés au sein d'une matrice anthropisée : on parle alors d'un habitat fragmenté (Fischer and Lindenmayer 2007). La fragmentation d'un habitat se distingue de la destruction partielle car pour une perte de surface identique, la fragmentation va avoir un impact beaucoup plus fort sur le maintien des populations (Haddad et al. 2015). Tout d'abord, la surface se trouvant en périphérie de l'habitat sera plus grande pour des patchs fragmentés que dans le cas d'un seul patch continu. Les zones périphériques d'un habitat sont connues pour avoir des conditions microclimatiques légèrement différentes et généralement de moins bonne qualité pour le maintien de la biodiversité : on parle

d'ailleurs d'"effet périphérie" (Ries et al. 2004). La multiplication de surfaces d'échanges entre un habitat naturel et un milieu anthropisé va également favoriser l'exposition à des maladies venues d'espèces domestiques (Killilea et al. 2008) ou encore l'arrivée d'espèces invasives pouvant provoquer d'énormes dégâts dans l'écosystème (Flory and Clay 2009).

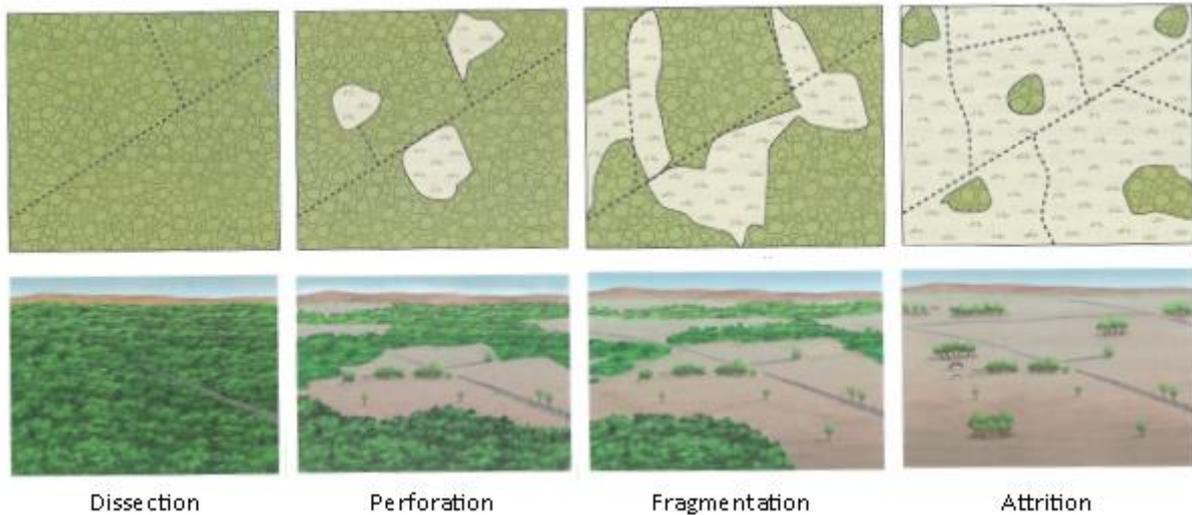


Figure 1: Etapes classiques de la destruction d'un habitat (ici, une forêt). La construction de routes et autre passages vont initier la dissection d'un habitat. La conversion de certains terrains naturels pour des besoins agricoles ou d'urbanisation vont causer la perforation de ce milieu, jusqu'à ce que les patches du milieu d'origine deviennent isolés les uns des autres : on parlera alors de fragmentation. Lorsque la proportion de patch naturels devient très réduite et isolé au milieu d'une matrice anthropique, on peut alors parler d'attrition. Illustration et terminologie de Hunter Jr and Gibbs (2006)

La fragmentation des habitats va également provoquer l'éclatement de la population initiale au sein des différents patches. Si les individus ne peuvent plus se rencontrer et se reproduire à cause de cette fragmentation, alors chaque patch va contenir sa propre population, plus petite que la population initiale. La taille de la population est un aspect particulièrement critique de la protection des populations sauvages. Comme nous le verrons plus bas, le fait de réduire la taille des populations pour une surface donnée peut augmenter drastiquement les probabilités d'extinction de la population. Si les ressources ou les partenaires sexuels des espèces concernées par la fragmentation sont particulièrement dispersés, la fragmentation va également énormément compliquer leurs recherches (Banks et al. 2007). La mobilité de l'espèce concernée, tout comme le degré d'imperméabilité de la matrice paysagère, va bien entendu énormément influencer sur l'impact de la fragmentation, qui restera minime dans le cas d'individus capables de se déplacer facilement d'un patch d'habitat à un autre. Elle peut cependant avoir des

effets catastrophiques sur les espèces moins mobiles, surtout lorsque les patchs sont séparés par des barrières très impénétrables ou de grandes distances (Fischer and Lindenmayer 2007).

Dégradation de l'habitat : une menace plus ou moins manifeste.

Si les exemples présentés jusqu'ici impliquent une perte de l'habitat visible, il est important de noter que ces phénomènes peuvent se développer de manière beaucoup plus subtile. Comme nous l'avons déjà évoqué, chaque écosystème présente une multitude d'habitats, qui supportent un nombre varié d'espèces avec des besoins différents. Une destruction et une fragmentation de l'habitat n'impliquent donc pas forcément une perte de l'écosystème complet, mais parfois des modifications plus discrètes qui peuvent impliquer des dégâts considérables pour les espèces concernées : on parle alors de dégradation de l'habitat (Fischer and Lindenmayer 2007). On peut penser à la suppression des arbres naturellement morts dans les forêts exploitées, essentiels pour de nombreuses espèces (Stokland et al. 2012). En modifiant le tracé d'une rivière, ou en ajoutant des barrages, l'écosystème aquatique reste présent mais les modifications physico-chimiques du milieu, ainsi que la modification de la vitesse d'écoulement, peuvent causer des changements drastiques dans la communauté peuplant la rivière (Nilsson and Berggren 2000; Bunn and Arthington 2002). Le drainage de zones humides peut diminuer le niveau d'eau sans pour autant assécher les terres, cependant cela implique la disparition d'espèces nécessitant une plus grande hauteur d'eau (Hunter Jr and Gibbs 2006). La présence/absence d'un écosystème donné n'est donc pas le seul facteur à considérer lorsque l'on s'intéresse à l'habitat d'une espèce, car la qualité des milieux concernés est également déterminante.

Un phénomène majeur de la dégradation des habitats concerne la pollution des milieux naturels (Hunter Jr and Gibbs 2006; Primack 2006). Ce type de dégradation est généralement subtile et difficilement détectable, et prend sa source dans des activités humaines comme l'agriculture et l'industrie. Les polluants les plus négatifs pour la biodiversité impliquent les produits utilisés dans l'agriculture que sont les pesticides, insecticides, fongicides et herbicides. Parce qu'ils sont utilisés pour éradiquer la faune ravageant les cultures ou la flore compétitrice des espèces cultivées, ces produits sont développés pour détruire des populations d'espèces vivantes avec la plus grande efficacité. Cependant, un nombre important de ces molécules sont volatiles et se dispersent rapidement dans les milieux alentours (Daly et al. 2007; Krief et al. 2017) et peuvent rester dans le milieu extrêmement longtemps avant d'être dégradés (Oehlmann et al. 2009). De plus, le potentiel nocif de ces produits est rarement limité à l'espèce cible (Pisa et al. 2015) et peuvent directement impacter l'ensemble des espèces utilisant ce milieu. Ils peuvent également

agir indirectement sur les espèces prédatrices en décimant les espèces leur servant de proies (Hallmann et al. 2017). La rémanence de ces produits cause également des soucis à l'échelle de l'écosystème, puisque certains de ces produits s'accumulent dans les tissus sans être rejetés, remontant ainsi la chaîne alimentaire. Les taux les plus élevés de ces molécules se retrouvent alors chez les plus grands prédateurs, même si ces espèces sont très éloignées des espèces ciblées par ces produits : on parle alors de bioaccumulation (Kelly et al. 2007).

D'autres molécules d'origine anthropique peuvent être nocives pour les espèces sauvages. Les métaux lourds et les hydrocarbures, qui sont généralement produits par l'industrie, vont notamment polluer les eaux, où ils vont empoisonner les populations aquatiques et se diffuser sur de longues distances (Mance 2012). L'air est aussi un milieu porteur de nombreuses molécules nocives, tels que l'ozone ou le plomb, capable de polluer les milieux terrestres. Les polluants de l'industrie peuvent également dégrader l'habitat sans empoisonner directement les populations : l'exemple le plus parlant concerne les émissions massives de nitrates et de sulfure d'oxyde par les centrales thermiques. Ces molécules, très acides, vont se concentrer dans les nuages et provoquer ce que l'on appelle des "pluies acides", qui vont également descendre le pH des sols d'où elles tombent, affaiblissant les espèces trop sensibles aux variations de pH (Singh et al. 2007). Enfin, il est intéressant de noter que même les molécules constituant les nutriments principaux des écosystèmes, tels que le nitrate et le phosphate, peuvent se révéler nocives et dégrader les habitats à trop haute concentration. Ceci est notamment observé dans des milieux aquatiques qui reçoivent le surplus de nutriments déposés sur les cultures environnantes, et dont l'excès de matières organique finit par étouffer le système complet : on parle alors d'eutrophisation (Smith and Schindler 2009).

Poussée à l'extrême, la dégradation de l'habitat d'une espèce en particulier donne un résultat identique à celle de la destruction ou la fragmentation : la réduction de la taille des populations, jusqu'à une possible extinction. Cependant, une baisse de la qualité de l'habitat n'implique pas forcément une absence directe des individus du milieu : une dégradation peut ne toucher qu'un stade de vie des espèces concernées (McCormick et al. 2017), modifier leur capacité à trouver des ressources (Hazelton and Grossman 2009) ou à échapper aux prédateurs (McCormick and Lonnstedt 2016), augmenter leur sensibilité à d'autres facteurs ou diminuer leur fécondité (Josserand et al. 2017), etc. Ceci implique que l'un des plus grands défis de la biologie de la conservation est de d'identifier et de déceler l'impact de ces dégradations, afin de mieux les comprendre et de pouvoir développer des contremesures efficaces.

Les défis posés par l'écosystème forestier.

L'importance des écosystèmes forestiers pour la biodiversité.

Bien que l'écosystème forestier représentent moins de 6% de la surface de la terre, ils occupent une place prépondérante en biologie de la conservation, puisque cet écosystème abrite plus de la moitié des espèces connues (Hunter Jr and Gibbs 2006). Les raisons derrière le fourmillement de vie des forêts sont multiples, et peuvent être résumées en quatre points (Hunter Jr 1990). Premièrement, les conditions climatiques permettant la présence de forêts correspondent à un gradient relativement large de température et d'humidité, et coïncident avec des conditions favorables à la présence de nombreuses espèces. Deuxièmement, la présence massive de bois qui caractérise les forêts produit énormément de matière organique, et vont produire nourriture et abri pour les espèces les plus basses dans la chaîne alimentaire, et assurer ainsi une base solide pour un réseau trophique diversifié. Troisièmement, l'élévation des arbres permet de développer un environnement en trois dimensions, qui procure ainsi un plus grand espace pour une même surface au sol et un nombre plus divers de microclimats en fonction de la distance au sol et de la luminosité. Ces microclimats constituent autant de conditions environnementales différentes qui seront plus ou moins propices selon les espèces. Enfin, malgré leur apparente immobilité, les forêts représentent des écosystèmes dynamiques, marqués par des changements et des successions d'espèces végétales, elles-mêmes associées à une faune diverse selon les stades. Ceci va favoriser les diversités d'espèces trouvées dans ce milieu. Pour ces raisons, la destruction massive des habitats forestiers, que l'on appelle déforestation, est considérée comme la plus grande menace pour la biodiversité par de nombreux biologistes de la conservation (Hunter Jr and Gibbs 2006).

Parler d'écosystème forestier peut sembler réducteur en lui-même, puisqu'il existe de nombreux types de forêts différents. La classification la plus grossière consiste à différencier les forêts selon le climat auquel elles sont associées : on parle alors de forêts boréales, tempérées, méditerranéennes, ou encore de forêts tropicales sèches ou humides. Les forêts tropicales occupent une place majeure dans la bibliographie actuelle en biologie de la conservation pour deux raisons : Elles contiennent plus de la moitié de la biodiversité mondiale, et ces forêts sont actuellement les plus affectées par la déforestation (Lewis et al. 2015). Ce phénomène découle principalement du développement des populations humaines dans ces régions, avec un abattage des grands espaces boisés pour développer l'agriculture sur les terres débroussaillées et nourrir les populations locales. Ainsi, l'installation de champs par les populations défavorisées habitant

en bordure des forêts tropicales ainsi que le développement de l'élevage va nécessiter des terres qui seront obtenues via la déforestation (Hunter Jr and Gibbs 2006; Lewis et al. 2015). Ces phénomènes provoquent une diminution rapide de la surface occupée par les forêts tropicales et subtropicales au cours des années. En 2005, on estimait que les forêts décidues sèches, décidues humides et de conifères de ces latitudes ont été déboisées sur respectivement 57%, 25% et 40% de leur surface originale. Le rythme de déforestation actuelle prédit une augmentation de ces chiffres jusqu'à respectivement 71%, 42% et 68%, et des dégâts irrémédiables pour la biodiversité mondiale (Millennium Ecosystem Assessment 2005).

On pourrait ainsi considérer que les peuplements des écosystèmes forestiers tempérés et méditerranéens s'en tirent à meilleur compte : ces écosystèmes sont majoritairement présents dans des pays dont l'économie est maintenant plus basée sur l'industrie que l'agriculture, et sont donc beaucoup moins touchés par la déforestation que leurs homologues tropicaux (Primack 2006). Ce serait oublier que s'il n'y a aucune déforestation actuelle, c'est qu'elle a déjà eu lieu massivement par le passé, car les forêts tempérées et méditerranéennes sont les écosystèmes terrestres ayant perdu le plus de surfaces, avec respectivement 73% et 69% de surface originelle modifiée par l'homme (Millennium Ecosystem Assessment 2005). La perte de biodiversité associée à une telle réduction de ce type d'écosystème est drastique, et on estime que les forêts méditerranéennes ont perdu 90% de leurs espèces d'oiseaux, de papillons, de grenouilles, de fleurs sauvages et de mousses (Primack 2006). Les espèces restantes et tributaires des forêts tempérées se trouvent donc dans des habitats déjà majoritairement détruits et fragmentés, et les possibilités de déplacement d'un endroit à un autre peuvent également être extrêmement compliquées. La majorité des fragments forestiers (tous types de forêts confondus) ont une surface inférieure à 10ha, et la moitié de la forêt mondiale se trouve à moins de 500m de la bordure forestière (Haddad et al. 2015). Dans ces patchs réduits et isolés les uns des autres, la question de la qualité de l'habitat et de l'impact de la matrice paysagère autour de ces forêts devient donc particulièrement cruciale car elle peut facilement mener à l'extinction de nombreuses populations fortement fragilisées.

Concilier protection des espèces forestières et production de bois.

La faible proportion de forêts restantes dans les pays tempérés pousse ces pays à exploiter une grande partie des écosystèmes forestiers afin d'assurer une production suffisante en bois. De nos jours, l'exploitation des forêts tempérées est pensée pour être la plus durable possible, assurer que l'écosystème forestier reste en place. Elle n'implique pas des destructions d'habitats

massives comme le fait le remplacement de zones forestières par des zones agricoles. Cependant, la gestion forestière peut également entrer en conflit avec les besoins de certaines espèces, dégrader leur habitat et à terme diminuer la biodiversité des forêts. Afin de préserver au maximum les populations de ce milieu, il est donc nécessaire d'adapter les pratiques de l'exploitation forestières (Hunter Jr 1990, 1999)

Le conflit principal entre la biodiversité et l'exploitation du bois concerne la structuration en âge des arbres. La taille et le diamètre des arbres sont directement influencés par leur âge, et les arbres vont fournir des micro-habitats différents, accueillant naturellement différentes espèces, selon leur stade de vie. Certains systèmes de sylviculture permettent une structuration en âge variée (futaie irrégulière) qui permet une production de bois continue, ce qui va favoriser la biodiversité. A l'inverse, les systèmes de futaie régulière, qui permettent la coupe intensive de site prédéfinis lorsque les arbres atteignent un âge particulier, vont contenir un nombre de micro-habitat plus limité (Hunter Jr 1999). De plus, les arbres les plus vieux, qui fournissent un habitat essentiel à certaines espèces, ne sont pas toujours présents en forêt exploitée, même dans le cas de futaie irrégulière, car la taille optimale de coupe peut être atteinte à un âge plus intermédiaire (Hunter Jr 1990, 1999). La présence de bois mort est aussi un enjeu majeur, car il fournit l'habitat de nombreuses espèces sauvages, alors que l'exploitation du bois implique bien entendu d'extraire les arbres du milieu après leur mort (McComb and Lindenmayer 1999).

L'emplacement des arbres abattus soulève également des questions nuancées concernant la protection des populations d'espèces forestières. Mettre en place des zones de coupe franches dans la forêt n'est pas forcément nocif pour les populations de la forêt, car elles peuvent aussi permettre une repousse rapide de la forêt en passant par des stades d'âges différents, intéressants pour la biodiversité. Cependant, la création de ces zones sans bois ne doit pas se faire de manière à fragmenter l'écosystème (Hunter Jr 1999). Effectuer des coupes franches sur des parcelles très réduites, voire extraire les arbres de manière ponctuelle peut sembler comme la meilleure solution pour préserver les populations en place. Cependant, certaines espèces de bois nécessitent des ouvertures assez franches afin de favoriser leur repousse. Ne fournir que des ouvertures très étroites, continuellement ombragées, peut causer la disparition de ces espèces (Fernandez-Vega et al. 2017). L'emplacement des arbres abattus soulève également la question de l'interaction avec d'autres écosystèmes proches, tels que les rivières. En effet, la présence d'arbres en bordure de rivière, que l'on appelle la ripisylve, est un élément déterminant pour les espèces aquatiques présentes dans la rivière. Elle fournit des habitats aux populations d'insectes, de la matière organique qui tombe directement dans la rivière, de l'ombrage, et stabilise les

berges. Supprimer la ripisylve va donc affecter très fortement le peuplement de la rivière (Broadmeadow and Nisbet 2004).

L'exploitation forestière peut aussi directement modifier la diversité spécifique d'une forêt. Le prix du bois varie selon les essences, et favoriser l'extraction des espèces les plus chères peut changer les rapports de compétition qui existent au sein de l'écosystème et jouer sur la taille des populations végétales et animales (Hunter Jr and Gibbs 2006). Certains exploitants seront aussi tentés d'utiliser de l'herbicide ciblant les compétiteurs directs de l'espèce la plus rentable. Enfin, l'apport d'essences exotiques dans la forêt, toujours pour des raisons de rentabilité, peut également avoir des effets catastrophiques sur les populations locales. Les espèces introduites peuvent se révéler invasives, être nocives pour les populations déjà présentes ou encore modifier les sols où elles sont plantées (Hunter Jr 1990; Richardson 1998).

L'exploitation commerciale des forêts peut donc dégrader l'habitat de nombreuses manières. Selon le contexte sociétal, la modification de l'exploitation forestière peut être une source de conflit entre les exploitants locaux et les protecteurs de la biodiversité, et la connaissance de l'impact des pratiques forestières est une clé primordiale afin de trouver des compromis (Halpern et al. 2006; Zarin et al. 2007). On sait aujourd'hui que la pérennité d'un écosystème dépend directement de sa biodiversité, et des solutions peuvent être mises en place pour concilier exploitation du bois et préservation des populations forestières. Il est ainsi possible de stimuler la croissance de certains arbres, et de laisser délibérément certains patches de bois morts dans la forêt pour assurer la présence de ces habitats aux espèces qui en ont besoin. La structuration spatiale de la coupe du bois nécessite de bien connaître les populations présentes et doit être réfléchi pour permettre une repousse optimale des zones exploitées. Les espèces d'arbres présentes dans la forêt doivent également être pensées pour favoriser le développement des populations locales. On comprend donc que de telles mesures nécessitent de connaître les espèces locales et leurs besoins (Hunter Jr and Gibbs 2006). Il est commun de baser de telles décisions en se concentrant sur l'impact de la dégradation de l'habitat sur une espèce ou un groupe d'espèces, que l'on va considérer comme représentatif de l'écosystème complet: on parle alors d'espèce indicatrice (Lindenmayer 1999).

Assurer la viabilité des populations dans un environnement détruit et fragmenté.

Nous l'avons vu, le premier effet de la destruction et de la fragmentation de l'habitat est la diminution de la taille des populations sauvages. Cependant, on pourrait imaginer que ces réductions n'auraient qu'un effet minime sur la diversité spécifique de l'environnement, et qu'assurer la présence d'un habitat, même sur une petite surface, assure la présence des espèces dépendantes de cet habitat dans le milieu. Ce n'est pas le cas car les petites populations sont soumises à des pressions d'extinction bien plus fortes que les grandes (Fagan and Holmes 2006). Ce qui s'explique par des raisons environnementales, démographiques mais aussi génétiques.

Probabilité d'extinction des petites populations.

Le taux de croissance d'une population définit l'évolution du nombre d'individus qui la constitue dans le temps : un taux de croissance positif implique une augmentation du nombre d'individus au fil du temps, et réciproquement. Ce taux de croissance ne suit pas une ligne déterministe, mais est soumise à de nombreux aléas plus ou moins prévisibles (Lande 1993). Dans le cas d'une population fermée, ce taux dépend directement de la survie et de la fécondité des individus qui la composent, des paramètres qui peuvent grandement varier d'un individu à l'autre : chaque individu peut produire plus ou moins de descendants, ne pas trouver de partenaire pour la reproduction, voire tout simplement mourir. Cette variation à un impact direct sur le taux de croissance, un phénomène que l'on appelle la stochasticité démographique (Lande 1993; Kendall and Fox 2002). Si les grandes populations sont relativement insensibles à ce phénomène, le nombre d'individus étant assez élevé pour que la répartition des individus particulièrement "chanceux" ou "malchanceux" soit équilibrée, la variation individuelle va pouvoir facilement influencer sur la démographie locale pour des populations de quelques dizaines d'individus, et augmenter leur probabilité d'extinction (Schleuning and Matthies 2009; Ovaskainen and Meerson 2010). Les individus ne sont pas les seuls à être soumis aux lois de l'aléatoire, et les conditions environnementales peuvent également varier sans pour autant que la cause soit d'origine anthropique. Les conditions climatiques, le nombre de proies et de prédateurs, l'apparition d'un pathogène virulent sont autant d'exemples de conditions environnementales qui vont varier au cours du temps de manière plus ou moins prévisible (Sæther 1997; Dostal 2007). Les catastrophes naturelles telles que les incendies ou les tempêtes sont probablement les cas de variation environnementales les plus extrêmes, pouvant causer la disparition de la majorité de la population, voire même de populations entières (Young 1994).

La probabilité que la stochasticité environnementale cause l'extinction de la population sera d'autant plus forte que la taille de la population est faible, car il est nécessaire d'avoir un nombre d'individus suffisants pour assurer la persistance de la population dans le milieu en cas de catastrophe naturelle ou de succession d'années avec des conditions environnementales particulièrement défavorables (Shaffer 1981; Ovaskainen and Meerson 2010).

Une faible taille de population peut également directement impacter les individus, en réduisant leurs chances de survie ou leur fécondité. Lorsque la densité de la population impacte positivement la fitness des individus, on parle d'effet Allee, un effet présent chez des espèces très variées (Courchamp et al. 1999). Ceci peut être la résultante d'interactions entre les individus qui sont bénéfiques aux membres de la population, comme une amélioration de la surveillance face aux prédateurs ou des méthodes de chasse qui impliquent la présence de plusieurs individus. Une réduction de la taille de la population suffisante pour limiter ces interactions va donc réduire son taux de croissance et précipiter son extinction. Avec ou sans effet Allee, la probabilité d'extinction augmente significativement lorsque la densité de population est si faible qu'il devient difficile pour les individus de trouver les partenaires sexuels nécessaires pour la reproduction : cela s'applique aussi bien pour les animaux que les plantes et implique souvent un déclin irrémédiable vers l'extinction pour les populations concernées (Primack 2006).

Les petites populations isolées ont de plus faibles diversités génétiques.

La diversité génétique d'une population peut être très variable : les gènes d'un individu se caractérisent par des allèles particuliers qui vont varier selon les individus et se traduire de manière différente dans leurs phénotypes. La proportion d'allèles dans la population, que l'on appelle fréquence allélique, va alors caractériser la variabilité génétique de la population (Hartl et al. 1997). Chaque adulte qui se reproduit transmet une partie de ses allèles à ses descendants, et les fréquences alléliques vont varier d'une génération à l'autre selon le hasard de la production des gamètes et de la sélection de partenaires pour la reproduction (Hartl et al. 1997). Ce phénomène, que l'on appelle dérive génétique, va impacter différemment la diversité génétique d'une population selon le sex-ratio et le degré d'apparement des individus reproducteurs, mais aussi et surtout selon le nombre d'individus participant à la reproduction. La relation entre taille de population et dérive génétique est tellement importante que l'impact de cette force évolutive est quantifié par ce que l'on appelle la "taille efficace", défini par le nombre d'individus d'une population idéale (sex-ratio équilibré, choix des partenaires aléatoires, tous

les individus participant à la reproduction) qui subirait la même intensité de dérive génétique que la population d'intérêt (Wright 1931). Ainsi, la dérive génétique ne va pas affecter les fréquences alléliques des grandes populations de manière significative, car un grand nombre d'individus réduit la probabilité qu'un allèle disparaisse par l'effet du hasard. Cela peut cependant arriver très rapidement pour des populations de taille réduite (Frankham et al. 2002). La disparition d'un allèle à un instant donné est définitive, à moins qu'un individu porteur de cet allèle venant d'une autre population immigré, et un fort impact de la dérive génétique va donc provoquer l'appauvrissement de la diversité génétique d'une population. A l'inverse, l'arrivée de nouveaux allèles peut se produire rapidement via l'arrivée de nouveaux individus issus d'autres populations, avec leurs fréquences alléliques propres. Ce processus, appelé migration en génétique des populations, permet d'assurer le maintien de la diversité génétique dès lors qu'il existe un nombre suffisant de populations adjacentes dans un même milieu, et ce même si chaque population est de petite taille (Frankham et al. 2002). Cela nécessite bien sûr que l'environnement permette l'échange d'individus entre les populations (on parle alors de populations connectées). Lorsque de tels échanges sont impossibles ou extrêmement réduits, comme cela arrive typiquement lors de fragmentations drastiques de l'habitat, on parle alors de populations isolées, pour lesquelles la diversité génétique peut donc être drastiquement réduite (Frankham et al. 2002). Les fréquences alléliques des différents allèles sont rarement égales au sein d'une population, et certains allèles sont souvent considérés comme rares. Lors de la diminution drastique des tailles de population ou lors de la division d'une grande population en plusieurs plus petites à cause d'une fragmentation de l'habitat, les individus disparus emportent avec eux les allèles rares dont ils étaient porteurs (Figure 2), diminuant la diversité génétique de la population : on parle alors de goulot d'étranglement (Luikart et al. 1998).

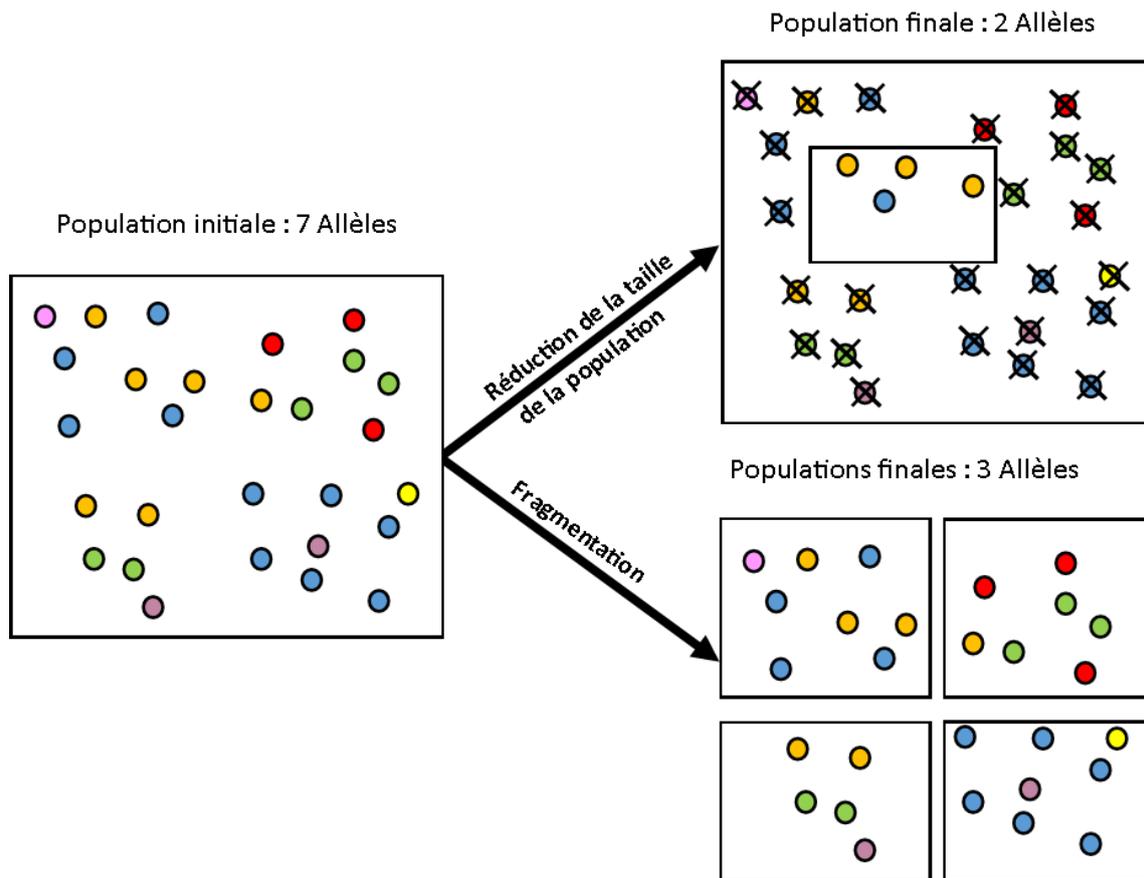


Figure 2: Représentation schématique de l'effet de la réduction des taille de population et de la fragmentation sur la diversité génétique des populations.

Une baisse de la diversité génétique implique une plus grande fragilité de la population, notamment à cause de deux phénomènes (Frankham et al. 2002). Premièrement, la perte de diversité génétique implique que les nouveau-nés de la population ont de plus grands risques de recevoir deux allèles identiques et défectueux. Cela provoque généralement une baisse de la fécondité ou une augmentation de la mortalité des juvéniles (Jaquiéry et al. 2009). Ce phénomène s'accroît avec la réduction de la taille de la population et atteint son paroxysme lorsque les individus ne peuvent plus se reproduire qu'avec des individus qui leur sont apparentés, augmentant encore les probabilités d'avoir des allèles identiques, qui, s'ils portent des mutations délétères, peuvent aboutir à de la dépression de consanguinité (Frankham 2005). Deuxièmement, la diversité d'allèles présents dans une population facilite la persistance des populations en cas de changements environnementaux : un allèle ne présentant pas d'intérêt adaptatif particulier à un instant donné peut se révéler crucial pour la survie des individus si le milieu change, même si cet allèle est originellement peu présent. Ainsi, une plus faible diversité génétique implique un potentiel d'adaptation amoindri des populations (Frankham et al. 2002). Ces deux phénomènes impliquent donc qu'une baisse de la diversité génétique encourage une

réduction du taux de croissance et augmente leur probabilité d'extinction. Le principal moteur de la variation de diversité génétique étant la production de nouvelles générations, prendre en compte ces effets n'est pas toujours pertinent pour des prédictions à court terme, surtout dans le cas d'espèces avec des cycles de vie relativement longs (Lande 1988). Cependant, le maintien d'une population à long terme dépend irrémédiablement du maintien de sa diversité génétique (Reed and Frankham 2003). La génétique des populations s'intéresse à la variabilité génétique des populations ainsi qu'aux processus qui la font évoluer au cours du temps. C'est donc une discipline particulièrement essentielle pour comprendre les enjeux de la conservation des populations à long terme, notamment dans un cadre de destruction et de fragmentation de l'habitat qui favorise l'apparition de goulot d'étranglements et l'isolement des populations (Frankham et al. 2002).

Nous venons de le voir, les petites populations ont des probabilités d'extinction plus élevées que les grandes pour des raisons très diverses. Ces phénomènes impliquent que plus la taille d'une population est réduite, plus son taux de croissance risque d'être bas, menant fatalement vers la disparition de la population. On parle alors de vortex d'extinction (Fagan and Holmes 2006). Les biologistes de la conservation s'échinent donc à assurer des tailles de populations suffisantes afin d'assurer la pérennité des populations, et de ne pas descendre en dessous de la "population viable minimum", c'est-à-dire une population suffisamment grande pour éviter que les processus développés plus tôt ne provoquent l'extinction de la population à long terme (Shaffer 1981). Il est intéressant de constater que ce concept est rattaché à "l'aire dynamique minimum", qui correspond à la surface d'habitat nécessaire pour assurer la population viable minimum (Thiollay 1989). Cependant, comme nous l'avons vu plus haut, la surface de l'habitat est un critère nécessaire mais insuffisant dans les milieux fortement anthropisés et sujets à de nombreuses dégradations. Les "populations viables minimum" varient énormément entre les espèces, mais aussi entre les populations, qui font chacune face à des circonstances particulières (Lindenmayer et al. 1993). Dans ce contexte, la priorité pour la conservation d'espèces présentes dans un milieu dégradé est donc de comprendre l'impact de l'environnement et de l'homme sur la taille des populations et sur les paramètres démographiques qui vont déterminer leurs taux de croissance, afin de mettre en place des mesures qui peuvent assurer la présence d'autant d'individus que possible.

Estimer l'impact des modifications paysagères sur les tailles des populations.

Destruction de l'habitat et modifications paysagères.

D'un point de vue extérieur, la destruction et la fragmentation des écosystèmes se traduit par des modifications paysagères, telles que le remplacement d'une portion de marais par des champs ou le passage d'une route dans une forêt (Fischer and Lindenmayer 2007). L'habitat est une notion totalement liée à l'espèce considérée, parce que chaque espèce est susceptible d'appréhender son environnement de manière différente, et il est nécessaire d'étudier en profondeur la relation qui existe entre les modifications paysagères et le maintien des populations sauvages, car les résultats obtenus peuvent être inattendus (Hakkarainen et al. 2003; Makelainen et al. 2015; van Strien and Gret-Regamey 2016). Comprendre l'impact du paysage sur les processus démographiques tels que ceux qui régissent la taille des populations sauvages relève du champ de l'écologie du paysage. Il s'agit de la branche de l'écologie qui s'intéresse aux relations entre le paysage et les écosystèmes, avec des implications extrêmement nombreuses dans le cadre de la gestion et la conservation des populations sauvages (Forman 1995). Comme nous l'avons vu, la probabilité d'extinction des populations sauvages est directement liée à leur taille, et mieux comprendre les relations qui existent entre cette taille et la matrice paysagère est un pas essentiel vers une gestion du milieu qui favorise la conservation des espèces (Cao et al. 2016; Cleary et al. 2016; Gunton et al. 2017). Cette compréhension nécessite cependant de pouvoir mesurer l'abondance d'une espèce et de pouvoir tester l'impact des différentes composantes du paysage sur celle-ci, une tâche pouvant se révéler très complexe.

Mesurer la taille des populations.

Comprendre les variations de l'abondance d'une espèce dans un milieu nécessite tout d'abord de pouvoir la mesurer. Si compter le nombre d'individus en les observant directement est une solution envisageable pour de nombreuses espèces, cela peut se révéler beaucoup plus difficile pour les espèces les plus discrètes ou dispersées (Thompson 2013). L'écoute peut parfois avantageusement remplacer l'observation, et l'un comme l'autre peuvent être automatisés via des appareils adaptés, afin de réduire au maximum la présence de l'homme qui pourrait déranger les populations sauvages (Silver et al. 2004; Celis-Murillo et al. 2009). Il est parfois impossible de détecter la totalité des individus d'une population, et il est nécessaire de

développer des méthodes permettant d'estimer la vraie taille de la population en admettant que la probabilité de détection est inférieure à un. Observer la présence ou l'absence des individus de manière répétée permet d'appréhender cette probabilité de détection, et d'en déduire la taille de la population (Royle and Nichols 2003). Lorsque la détection des individus est particulièrement compliquée, il est également possible d'utiliser d'autres indices de la présence des individus : traces, poils, ou mêmes fèces. La collecte d'indices de ce type sur plusieurs échantillonnages séparés dans le temps permet d'estimer de manière raisonnable la taille des populations avec les méthodes adaptées (Stanley et al. 2005). Une manière efficace, et largement utilisée dans ce domaine lorsque les individus ne sont pas trop sensibles, consiste à capturer un certain nombre d'individus afin de les marquer, avant de les relâcher au sein de la population. Il suffit ensuite d'organiser de nouvelles sessions de capture, et la proportion d'individus déjà marqué et recapturé permet d'estimer le nombre d'individus total dans la population (Pollock 1976; Nichols 1992). Les équations utilisées par cette méthode ont connu de très nombreuses améliorations et ajustement au fil des années, et ce sont notamment intéressés à la prise en compte des variations du taux de capture (Chao 1987; Chao et al. 1992; King and Brooks 2008; Pradel et al. 2010). Là encore, cette méthode s'est vu adapter pour les espèces où la capture serait trop difficile ou néfaste pour les individus. Elle se base sur la collecte d'un certain nombre d'échantillons contenant de l'ADN, tel que des poils ou des fèces. Chaque échantillon est génotypé afin de le relier à l'individu d'où il provient, et on peut alors considérer que lorsque plusieurs échantillons proviennent du même individu, il s'agit alors d'une "recapture". Ce procédé permet donc d'utiliser les équations développées pour la recapture des individus pour estimer la taille des populations sans avoir à les manipuler et avec seulement une seule session de collecte d'échantillons (Puechmaille and Petit 2007; Kays et al. 2008).

Quelle que soit la méthode de dénombrement utilisée, elle demandera des moyens humains pour la récolte de données d'autant plus grands que l'échelle spatio-temporelle considérée va être importante. L'existence de nombreux organismes, associatifs ou gouvernementaux, dédiés au suivi des populations sauvages peut permettre d'obtenir des jeux de données très impressionnants, spatialement comme temporellement (Rich 2006; Asher et al. 2011). Selon les besoins et les objectifs de recherche, la mise à contribution d'un grand nombre de citoyens, que l'on appelle science participative ou science citoyenne, peut également permettre d'obtenir des jeux de données très vastes, et assez fiables pour justifier de la mise en place de mesures de conservation (Mair et al. 2017; Flesch and Belt 2017). Il est cependant malaisé d'obtenir des informations suffisantes sur des territoires assez larges via la science participative lorsque

l'observation et le dénombrement d'une espèce s'avère particulièrement complexes (Le Rest et al. 2015).

La nécessité des jeux de données sur de large échelles spatio-temporelle.

A l'inverse des expérimentations en milieu contrôlé, les populations sauvages constituent des unités biologiques pour lesquelles il peut être extrêmement compliqué d'associer des causes pertinentes aux processus biologiques. Comme nous en avons déjà parlé, la taille de ces populations dépend de nombreux facteurs biotiques et abiotiques (Hinch et al. 1991; Barr and Babbitt 2002; Carvalho et al. 2003; Conte et al. 2007). A cela se rajoute des phénomènes intrinsèques aux populations et à la variation de leur démographie : on parle alors de densité dépendance. Nous avons parlé de l'effet Allee, qui correspond à une action positive de la densité sur la variation de la taille de la population. Il existe également d'autres processus impliquant que la taille de la population va restreindre sa propre augmentation, notamment via la compétition au sein de la population (Hassell 1975), avec d'autres espèces (Hansen et al. 2006) ou encore en augmentant les attaques de prédateurs (Korpimäki 1993). La densité peut également interagir avec certains facteurs environnementaux pour influencer sur la croissance ou décroissance démographique d'une population, en facilitant la transmission de maladie par exemple (Hochachka and Dhondt 2000). Dans ces conditions, comprendre l'impact d'une variable environnementale particulière sur la taille des populations nécessite de le démêler de ceux de la densité dépendance et de l'ensemble de la variabilité environnementale (que l'on appelle « bruit environnemental »). Il s'agit d'un objectif complexe, que certains chercheurs ont désigné comme étant « une tâche ardue, si ce n'est impossible » (Jonzén et al. 2002). La solution consiste à profiter de la variabilité inhérente à la plupart des processus écologiques, et de considérer des jeux de données assez variables dans le temps ou l'espace pour pouvoir appréhender l'impact d'un effet environnemental donné sans être pollué par l'ensemble du bruit environnemental (Frederiksen et al. 2014). Ainsi, observer l'évolution de l'abondance d'une population au cours du temps (on parle alors de séries temporelles) va faciliter l'estimation de l'impact de phénomènes qui peuvent varier fortement au fil des cycles de vie, comme les conditions climatiques ou la mise en place de mesures de conservation (Saether et al. 2004; Primack 2006; Harrington et al. 2007; Froidevaux et al. 2017). A l'inverse, des caractères environnementaux très stables dans le temps comme les caractéristiques paysagères ou physico-chimiques peuvent fortement varier selon les environnements, et la prise en compte de plusieurs populations spatialement éloignées va faciliter la compréhension de leur influence sur la taille des populations (Herrando et al. 2014; Muratet and Fontaine 2015; Kay et al. 2016). Une

manière efficace de réduire le bruit environnemental consiste également à estimer l'impact des co-variables connues pour leurs effets sur les populations et de les prendre en compte dans les modèles s'intéressant à l'impact des variables environnementales nous intéressant (Sæther et al. 2000; Dugger et al. 2016; MacNearney et al. 2016). Des jeux de données couvrant une large échelle spatio-temporelle sont donc nécessaires lorsque l'on s'intéresse à l'effet de l'environnement sur les populations animales, et l'intégration de méthodes adaptées pour les collecter comme les analyser permet d'améliorer grandement la prise de décision de mesures de gestion pour la conservation des populations (Sagarin and Pauchard 2010; Jones 2011; Frederiksen et al. 2014).

Comprendre les processus sous-jacents pour mieux gérer les populations.

L'importance de la dynamique des populations.

Prédire efficacement l'effet de l'environnement sur la taille des populations nécessite cependant bien souvent des informations plus poussées sur ces dernières (Clutton-Brock and Sheldon 2010; Frederiksen et al. 2014). L'évolution de la taille d'une population au cours du temps est la résultante de différents processus. De manière simpliste, le nombre d'individus présents à un instant t correspond au nombre d'individus présents à l'instant $t-1$, auxquels il faut soustraire les individus morts ou qui ont émigré vers une autre population et rajouter les individus nés ou qui sont arrivés dans le milieu à partir d'une autre population (Ferris and Wilson 1987). On peut ainsi réduire la dynamique des populations à l'action de quatre paramètres différents : la survie, la fécondité, l'immigration et l'émigration (Frederiksen et al. 2014). Etudier la dynamique des populations consiste donc à mieux comprendre ces mécanismes et leurs dépendances à différents facteurs biotique et abiotiques (Miller and Spoolman 2011). Il s'agit d'une branche particulièrement fondamentale en biologie de la conservation, car c'est par l'intermédiaire de ces paramètres que l'environnement va agir sur le taux de croissance des populations et influencer leur pérennité (Benton et al. 2006). Chaque paramètre de dynamique des populations peut plus ou moins influencer ce taux de croissance selon les cycles de vie et les populations, et il est nécessaire de s'intéresser à l'importance relative de chaque paramètre pour mettre en place des mesures de conservation efficace. L'impact de la variation d'un paramètre démographique est appelée la sensibilité du taux de croissance à ce paramètre (Boyce 1992). Pour pouvoir comparer la sensibilité entre différents paramètres démographiques, l'impact de la variation doit être mesurés dans des unités équivalentes : on parlera alors plutôt d'élasticité

(Oli and Dobson 2003; Carslake et al. 2009). Comprendre l'impact processus démographique sur le déclin des populations est une question primordiale pour mettre en place des mesures de conservation efficaces. Ainsi, il a été démontré que les mesures de protection mises en place pour assurer un nombre suffisant d'œufs de Caouanne n'était pas efficace pour permettre une remontée de la population, et qu'améliorer la survie des juvéniles aurait un impact bien plus fort sur la probabilité d'extinction (Crouse et al. 1987). L'augmentation de la taille des populations du lion de mer *Phocarcos hookeri*, quant à elle, est principalement dépendante de la survie des femelles adultes, première victimes des captures accessoires des bateaux de pêches (Meyer et al. 2015). La mise en place de chasse sportive en Afrique fut considérée comme un moyen de préserver les populations d'ongulés à long terme, avant qu'une étude de dynamique des populations ne montre les effets désastreux de cette méthode sur la fécondité des ongulés (Ginsberg and Milner-Gulland 1994). Différencier les individus au sein de la population permet également de dégager des effets environnementaux qui sont spécifique au sexe (Aresco 2005; Christianson and Creel 2008) ou à l'âge (Marescot et al. 2015; Bleu et al. 2015) des individus, et qui n'auraient sans doute pas été détectés en considérant la population dans son ensemble. Etudier la dynamique des populations est donc une nécessité pour protéger efficacement les espèces sauvages, mais cela nécessite de différencier et suivre les individus au sein d'une population, voire de connaître certaines de leurs caractéristiques, comme l'âge et le sexe.

La méthode de capture-marque-recapture.

Différentes méthodes peuvent offrir des informations sur les paramètres de dynamique des populations. Compter la proportion de juvéniles ou d'œufs par rapport aux femelles permet de connaître leur fécondité (Berezina 2005), observer l'âge des individus retrouvés mort donne des informations sur la survie (Schaub et al. 2010), et le suivi d'individus par télémétrie permet d'estimer les taux de migration entre les populations (Taylor et al. 2013). Mais la méthode de capture-marquage-recapture (CMR) est celle permettant d'obtenir les informations les plus détaillées sur la variation des paramètres démographiques (Frederiksen et al. 2014). Le principe de ce type d'étude consiste à suivre plusieurs individus au cours du temps afin de savoir si ces individus ont survécu, migré ou encore s'ils font partie de la nouvelle génération (Pradel 1996; Lettink and Armstrong 2003). L'enjeu majeur de ce suivi est de réussir à distinguer les individus réellement absent (dû à leurs morts ou leurs émigration) des individus non-détectés par l'observateur. En effet, la probabilité d'observer chaque individu est rarement égale à 1, et il est nécessaire d'estimer cette probabilité, voire d'isoler totalement les processus d'observation afin de pouvoir efficacement reconstruire le parcours des individus suivis. Ceci peut être d'autant

plus compliqué si cette probabilité varie entre les individus ou les observations (Crespin et al. 2008; Conroy et al. 2008). Lorsque ces informations sont estimées pour un nombre suffisant d'individus, il est alors possible d'extrapoler les paramètres démographiques à l'échelle de la population pour mieux comprendre sa dynamique. Collecter ce type d'informations nécessite des moyens humains, voire financiers, beaucoup plus importants que le simple comptage de la taille des populations et se fait donc généralement à des échelles plus limitées (Frederiksen et al. 2014). La complexité de la collecte de données dépend directement des caractéristiques de la population et de l'espèce étudiée. De manière classique, comme le nom l'indique, les suivis individuels par CMR requièrent de capturer les individus afin de les marquer, de les libérer, puis de les recapter pour les identifier à l'aide de leur marque. Si la marque est assez visible, il sera cependant possible de suivre directement l'individu à distance, sans avoir besoin de réorganiser sa capture (Thorup et al. 2014). Pour les espèces dont le cycle de vie implique le passage dans des endroits bien précis, la mise en place de transpondeurs en guise de marque peut permettre d'automatiser le suivi des individus (Horswill et al. 2014; Matondo et al. 2017).

Il est parfois possible de profiter des différences déjà existantes entre les individus pour les identifier plutôt que de les marquer. Chez certaines espèces, il est possible de distinguer visuellement les individus, notamment à l'aide de la présence de schéma particuliers individuels, comme les taches des girafes ou des salamandres ou les appendices des scarabées (Romiti et al. 2017; Muneza et al. 2017) et qui permettent d'acquérir des informations individuelles à l'aide d'une observation assez poussée, le plus souvent à l'aide d'appareils photographiques. Un autre marquage "naturel" peut se substituer aux marques artificiels : l'ADN, qui est spécifique à chaque individu (Carroll et al. 2015; Woodruff et al. 2016). Le génotypage des échantillons prélevés se fait via des marqueurs très polymorphiques, le plus souvent des microsatellites (Allendorf and Luikart 2009), et permet d'assurer un suivi individuel sans imposer la pose de marque sur les animaux. Toutes ces méthodes de suivi présentent des avantages et des contraintes particulières, et le choix du protocole utilisé dépend bien sûr des moyens de l'étude et des questions posées, mais doit aussi être pensé selon les caractéristiques de l'espèce suivie.

[Comment étudier la dynamique des populations pour les espèces les plus délicates ?](#)

Obtenir des informations individuelles va être plus ou moins complexe selon les espèces étudiées. Tout d'abord, capturer un nombre d'individus suffisant peut-être une simple formalité ou un défi conséquent selon les populations (Willson et al. 2011). De manière paradoxale, les

populations les plus menacées, et pour lesquelles des données individuelles pourraient donner des informations cruciales pour leur conservation, ont le plus souvent des densités d'individus très faibles, et qui fournissent donc des informations démographiques assez limitées (Schaub et al. 2010). La méthodologie de capture doit être adaptée à chaque espèce, et implique le plus souvent la mise en place de pièges particuliers. Cette méthodologie doit prendre en compte de nombreux paramètres, par exemple que la probabilité de capture varie le moins possible au cours du temps et entre les individus (Abadi et al. 2013). Le point le plus sensible des méthodes de capture et de marquage concerne probablement l'impact de celle-ci sur le comportement et la survie des individus capturés et marqués (Powell and Proulx 2003). En effet, afin d'assurer un suivi représentatif de ce qui se passe réellement dans la population, mais aussi pour des raisons éthiques évidentes, la capture et le marquage doivent altérer le moins possible la recherche de nourriture ou les capacités reproductrices des individus et limiter au maximum le stress ou les dégâts infligés aux individus (Powell and Proulx 2003). Les protocoles qui impliquent des piégeages de longue durée peuvent diminuer drastiquement les chances de survie des individus en les empêchant de chercher leur nourriture (Cowan et al. 2013; Eccard and Klemme 2013). La mise en place de nourriture dans le piège en question limite cet impact, mais peuvent pousser les individus capturés au préalable à chercher activement l'emplacement des pièges, afin de s'assurer une source de nourriture facile, biaisant ainsi la probabilité de capture (Otis et al. 1978). Chez les espèces les plus sensibles, les méthodes classiques de capture ou de suivi peuvent nuire à l'animal et diminuer ses chances de survie (Powell and Proulx 2003; Dietz et al. 2006). Ces exemples montrent la nécessité de développer des méthodes adaptées pour étudier la dynamique des populations des espèces les plus sensibles ou les plus délicates à capturer et marquer.

Une solution consiste à contourner le problème en collectant des échantillons contenant l'ADN des individus de la population sans avoir à les manipuler directement. Il peut s'agir de poils, plumes ou même de fèces laissés par les individus derrière eux, et l'on parle alors d'un suivi de génétique non-invasive (Broquet et al. 2007; Marucco et al. 2011) par opposition à la génétique plus classique et invasive qui implique la collecte d'échantillons directement sur l'animal. Cette méthode est idéale pour l'étude d'espèces rares ou discrètes, mais n'est utilisée que rarement si on la compare à des méthodes de marquage plus classiques comme le baguage. Ceci s'explique tout d'abord par le travail de laboratoire nécessaire pour différencier les individus : l'extraction de l'ADN, le développement des marqueurs, ainsi que le génotypage impliquent un coût conséquent en temps comme en argent (Marucco et al. 2011). De plus, l'ADN issu d'échantillons

non-invasifs est le plus souvent partiellement dégradé, et sujet aux erreurs de génotypages. La proportion d'erreurs est cependant très variable selon le type d'échantillon et les caractéristiques des marqueurs utilisés (Broquet et al. 2007). Un protocole solide permet d'assurer une qualité de génotypage suffisante pour suivre un individu uniquement à l'aide des fèces ou des poils qu'il laisse derrière lui (Puechmaille et al. 2007). Cette méthode a de plus l'avantage de fournir des données génétiques en lieu et place d'une simple identification, et offre donc de très grandes possibilités en terme d'étude de génétique des populations (Di Pierro et al. 2010; Wen et al. 2014).

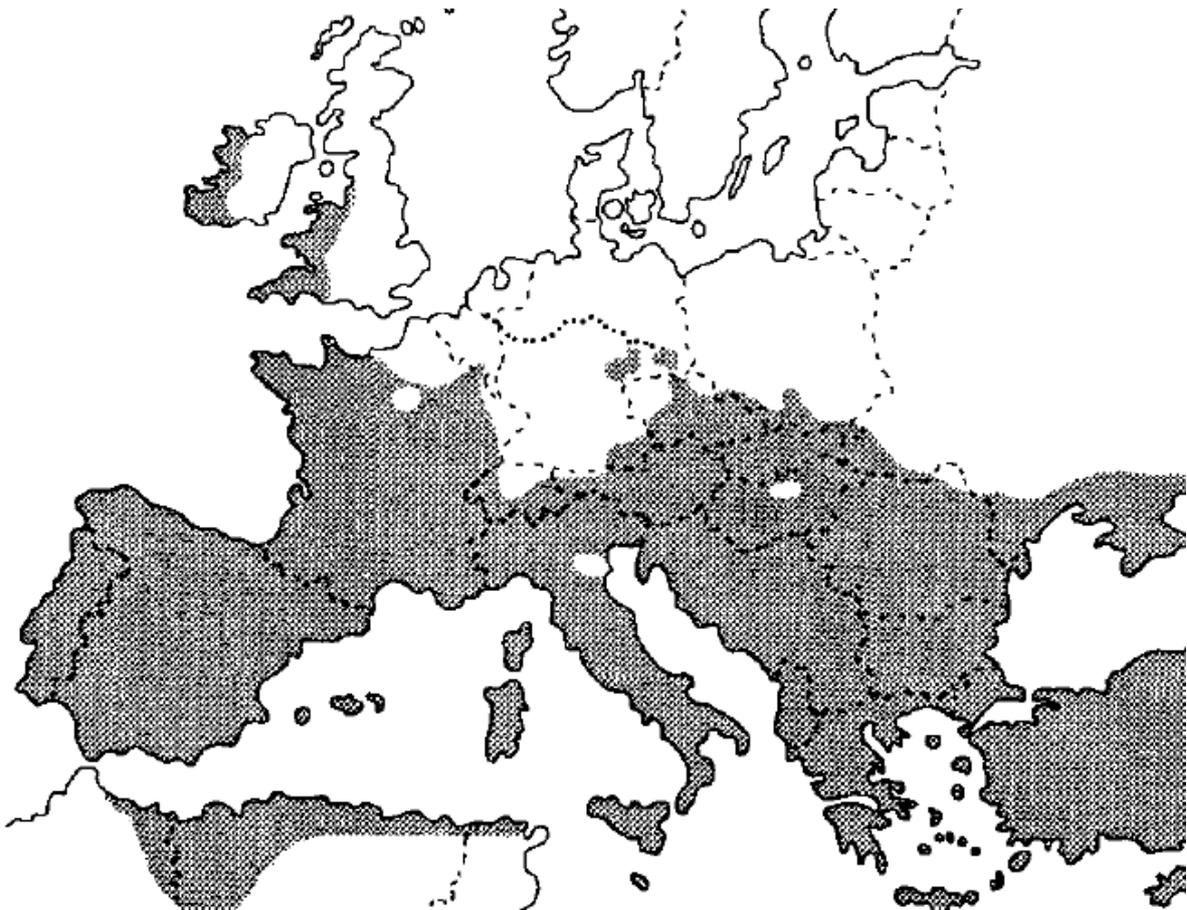
Le cas du Petit rhinolophe.

Un fort enjeu de conservation.

Les chiroptères représentent un ordre des mammifères extrêmement diversifié (Gunnell and Simmons 2012). Ils sont reconnus pour jouer des rôles clés dans de le maintien de nombreux écosystèmes terrestres et pour une variété de services écosystémiques (Moore 2002; Jones et al. 2009; Kunz et al. 2011). Pour ces deux raisons, la conservation des chiroptères représente une priorité, menant à la mise en place d'un suivi à très large échelle pour mieux connaître les tendances démographiques et les menaces à l'encontre de ces espèces, comme cela s'est fait récemment en Europe (Haysom et al. 2013). Ces suivis ne sont cependant pas toujours adaptés pour développer des mesures concrètes de conservation : *"Etant donné que la plupart des espèces de chauves-souris sont actives à l'échelle du paysage, et qu'elles sont potentiellement affectées par de nombreuses pressions, les défis futurs consisteront à déterminer les facteurs fondamentaux influençant les tendances démographiques"* (Haysom et al. 2013).

Parmi les espèces suivies en Europe, le Petit rhinolophe (*Rhinolophus hipposideros*) fait figure de cas particulièrement intéressant. Si le nombre d'individus total est en hausse depuis 1994 (Haysom et al. 2013), nous savons également que la population européenne de cette espèce s'est écroulée durant la seconde moitié du 20^{ème} siècle, causant un recul net de sa limite nord d'aire de distribution et sa disparition de plusieurs régions d'Europe (Figure 3 - Bontadina et al. 2000). L'augmentation actuelle du nombre de petits rhinolophes s'accompagne ponctuellement d'une recolonisation de la limite nord de l'aire de répartition (Biedermann et al. 2012), mais celle-ci ne s'effectue pas dans toute les régions où l'espèce était présente : par exemple, aucune recolonisation du nord de la France n'a été détectée. Comprendre quels sont les facteurs environnementaux qui favorisent ou défavorisent le taux de croissance des populations de petits

rhinolophe est une étape essentielle pour mettre en place des mesures de conservations permettant le maintien de populations viables pour permettre la recolonisation du nord de son aire actuelle de distribution. Cette recolonisation est une étape essentielle pour le maintien à long terme de cette espèce, car les modèles actuels de changements climatiques prédisent que les populations de *Rhinolophus hipposideros* devront monter vers le nord pour survivre dans les prochaines décennies (Rebelo et al. 2010).



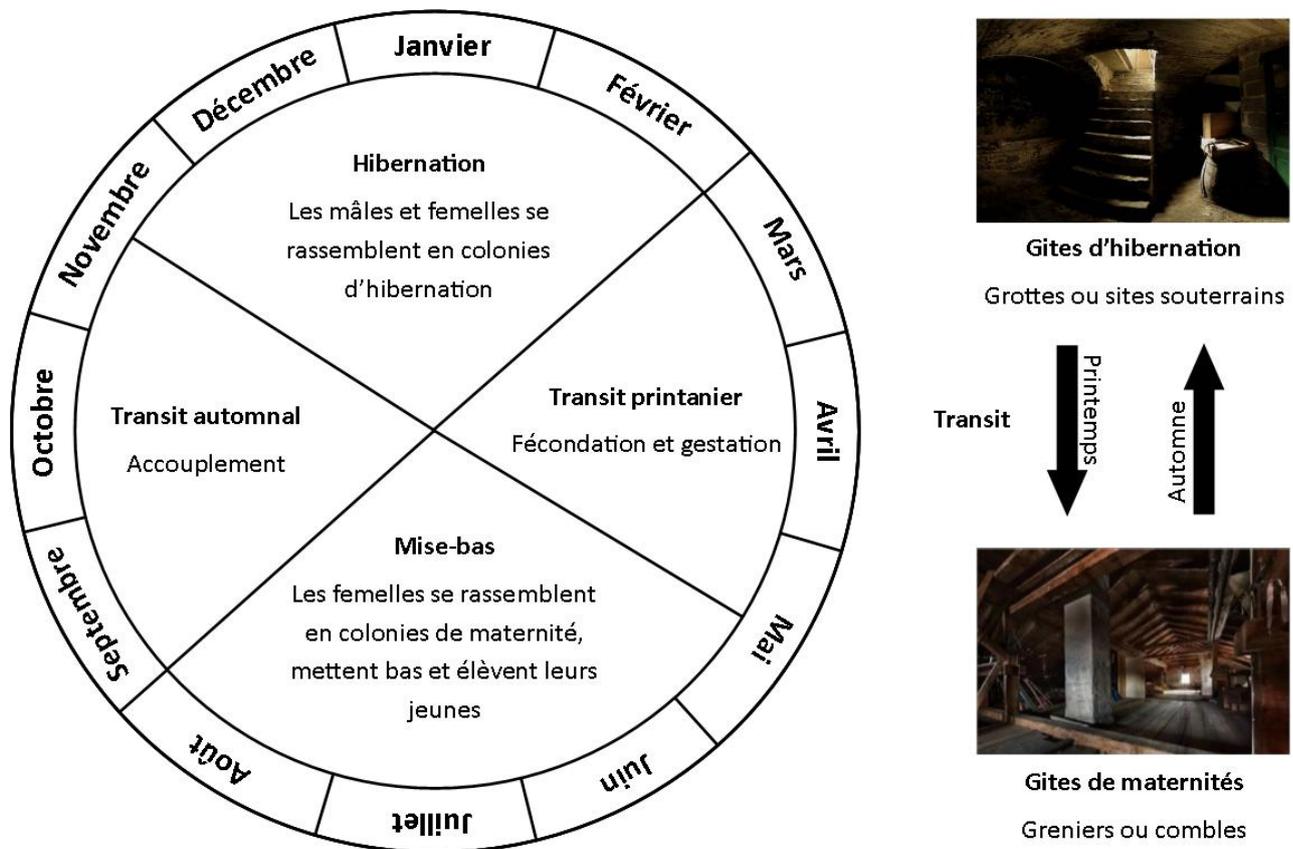
[Figure 3: Carte présentant l'aire de distribution du Petit rhinolophe en Europe en 2000 \(grisée\) et en 1939 \(ligne pointillé\). Figure issue de Bontadina et al. \(2000\).](#)

[Une espèce fortement liée au milieu forestier.](#)

Le Petit rhinolophe est une chauve-souris insectivore qui chasse les lepidoptères et diptères en vol pour se nourrir (Arlettaz et al. 2000). L'habitat de chasse du Petit rhinolophe est très bien défini, puisqu'il s'agit de bois denses et feuillus. Ces bois accueillent la quasi-totalité des individus en chasse (Bontadina et al. 2002; Reiter et al. 2013) et la taille des populations est favorisées par la surface forestière (Reiter 2007; Tournant 2013). Définir l'habitat complet, c'est-à-dire l'ensemble des ressources abiotique et biotique nécessaires au maintien des populations de petits rhinolophes, est plus compliqué, car son cycle de vie implique l'utilisation

de différents types d'écosystèmes (Gaisler 1966). Comme de nombreuses chauves-souris européennes, le Petit rhinolophe va se rassembler sous forme de colonies lors de deux périodes bien particulières. Légèrement avant l'arrivée de l'hiver, les individus dispersés vont se rassembler dans des sites souterrains afin d'hiberner, et l'on parle alors de gîtes d'hibernation. Ils partiront à l'arrivée des beaux jours, et resteront dispersés (on parle de transition printanière) jusqu'à la fin du printemps, où les femelles se rassembleront encore une fois pour former des colonies de mise-bas (ou maternités). Si les colonies des populations se trouvant proche de la mer méditerranée utilisent les grottes (qui représentent leurs gîtes naturels), les colonies plus nordiques occupent le plus souvent des bâtiments, où le microclimat va être plus favorable que leur gîtes naturels (Kayikcioglu and Zahn 2004). Elles y mettront bas puis les adultes comme les juvéniles partiront pour l'automne, qui correspond à la période des accouplements (Figure 4). Le Petit rhinolophe est une espèce qui est considéré comme sédentaire, qui va se déplacer de moins de 20 kilomètres entre l'été et l'hiver (Hutterer et al. 2005). Les femelles restent fidèles aux mêmes colonies de parturition d'une année sur l'autre et ne vont jamais s'en éloigner de plus de 5 kilomètres pendant la mise-bas : nous pouvons donc considérer que les colonies de petits rhinolophes constituent des populations délimitées (Afonso et al. 2016; Dool et al. 2016).

La formation de colonies chez les chauves-souris favorise la survie des individus, notamment en permettant des interactions sociales et en fournissant un abri contre les conditions météorologiques et les prédateurs (Kunz 1982). La période de parturition impose donc une sélection d'habitat particulièrement cruciale pour le Petit rhinolophe, puisqu'il implique la présence d'un site capable d'accueillir un nombre suffisant individus mais aussi une zone boisée assez conséquente dans les alentours proches puisque le cœur du territoire de chasse du Petit rhinolophe à cette période se limite principalement aux 500 mètres autour de la colonie (Bontadina et al. 2002; Reiter et al. 2013). Ainsi, la localisation d'une colonie de maternité présente des contraintes paysagères fortes et ne doit rien au hasard (Tournant 2013). La période de mise-bas représente donc la période idéale pour s'intéresser à l'impact de la qualité de l'habitat sur les populations de petits rhinolophes. Cette qualité se traduit par la matrice paysagère mais également par les méthodes de gestion forestière, qui peuvent largement impacter les espèces dépendantes de cet écosystème (Hunter Jr 1990, 1999).



[Figure 4: Cycle de vie du Petit rhinolophe.](#)

La période de mise-bas offre également la possibilité d'estimer facilement la taille des populations et de la fécondité, grâce au rassemblement des femelles et de leur juvénile dans des zones parfois très faciles d'accès (notamment dans les greniers des bâtiments). Les rhinolopes sont des espèces particulièrement sensibles aux marquages classiques tel que le baguage (Dietz et al. 2006). L'acquisition de données individuelles pourrait donc s'avérer problématique. Cependant, la récupération de fèces, appelées guano, dans les colonies de maternité, puis leur génotypage, permet d'acquérir des informations individuelles pouvant efficacement remplacer les méthodes plus classiques comme la capture-marque-recapture (Afonso et al. 2016).

[Une variation démographique très documentée mais mal comprise.](#)

Le fort déclin du Petit rhinolophe observé pendant le siècle dernier a donné lieu à un nombre conséquent d'articles tentant d'expliquer ce phénomène, cependant les raisons pouvant expliquer ce déclin semblent multiples et sont encore mal comprises (Bontadina et al. 2000).

De nombreux facteurs potentiels ont été évoqués pouvant expliquer ce déclin, tel qu'un effet néfaste des pesticides sur la reproduction, la destruction et la fragmentation de leur habitat, la diminution du nombre d'insectes, le réchauffement du climat ou encore l'augmentation de l'abondance d'espèces insectivores compétitrices (Bontadina et al. 2000). Il a depuis été démontré qu'il n'y avait pas de lien direct entre l'abondance des insectes l'extinction locale du Petit rhinolophe (Bontadina et al. 2008). Si la compétition avec d'autres espèces insectivores est effectivement présente, l'exclusion compétitive n'a pas été définitivement prouvée (Arlettaz et al. 2000). Les composants organiques peuvent activement impacter la survie et la physiologie des chauves-souris (Bayat et al. 2014), et des traces de pesticides organochlorés ont été trouvées dans le guano du Petit rhinolophe prouvant la présence de ces produits dans ses tissus (Afonso et al. 2016). La destruction de l'habitat *per se* ne semble pas être en cause, car le siècle dernier ne s'est pas accompagné de déforestation massive dans les parties de l'Europe concernées par le déclin. Cependant la détérioration de cet habitat, notamment au travers du type de gestion forestière, peut être en cause (Bontadina et al. 2008). L'écosystème forestier européen étant particulièrement détruit et fragmenté, les espèces fortement liées à cet écosystème peuvent être particulièrement sensibles à la dégradation de leur habitat.

Problématique et objectifs

Les sites de maternité du Petit rhinolophe présentent un intérêt particulièrement crucial pour sa conservation. La qualité de l'environnement durant cette période va impacter la survie des femelles adultes comme des juvéniles. La mise en place et la gestion de sites de qualité accueillant des colonies de maternité faciliterait probablement la persistance des populations, et favoriserait la recolonisation des environnements perdu par le Petit rhinolophe au cours du siècle dernier. L'aménagement de sites proches de sa limite d'aire de distribution ne poserait pas de difficulté majeure, car le Petit rhinolophe s'accommode parfaitement à des sites d'origine anthropiques. Il est cependant nécessaire d'être capable de définir en quoi consiste un site de qualité.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'impact du paysage proche des colonies sur l'abondance et la fécondité des colonies du Petit rhinolophe sur un jeu de données à une large échelle spatio-temporelle. Ce jeu de données a été récolté en Bretagne, une région où le Petit rhinolophe est présent de longue date. Les organismes régionaux ont donc accès à une large base de données concernant cette espèce, et ont pu nous fournir un jeu de donnée suffisamment vaste pour limiter le bruit environnemental, avec 94 colonies suivies pendant 15

ans. Toutes les colonies n'ont cependant pas été comptés la même année, et il nous est apparu nécessaire de prendre en compte une caractéristique environnementale connue pour influencer sur l'abondance et la fécondité des populations de chauves-souris, et qui peut varier très fortement au cours du temps : le climat.

Dans un second temps, nous avons étudié plus en profondeur la dynamique des populations du Petit rhinolophe à l'aide de récoltes de fèces effectuées pendant quatre ans dans des colonies de Picardie, qui correspondent aux populations les plus nordiques de France. Génomoter ces fèces nous a permis de suivre la présence des individus d'une année sur l'autre mais nous a aussi fourni d'autres informations cruciales concernant la probabilité de détection des individus et la taille des colonies. Nous avons donc utilisé l'ensemble des informations obtenues dans des modèles adaptés afin d'estimer la survie adulte et juvénile ainsi que la fécondité de ces populations. Les coûts humains comme financiers de ces méthodes non-invasives impliquent de travailler sur un nombre de colonies beaucoup plus réduit que dans le jeu de données précédent, cependant la majorité des colonies Picardes sont situées au milieu de parcelles de forêts exploitées pour lesquelles nous avons eu accès à des informations de gestion forestière. Ces données sont donc idéales pour connaître l'impact du paysage mais aussi de la gestion forestière sur la dynamique des populations du Petit rhinolophe.

Nous avons également mis à profit les méthodes de génotypage développées dans la seconde partie afin d'étudier la diversité génétique des populations se trouvant en limite Nord de l'aire de distribution, à l'aide d'échantillons récoltés en France, Belgique, et Allemagne. Les colonies situées en limite d'aire de distribution correspondent aux populations qui sont la source possible d'une recolonisation future, seulement de nombreuses colonies de cette zone se retrouvent plus ou moins isolées des autres. Le rhinolophe étant une espèce de chauve-souris plutôt sédentaire, ayant subi une chute démographique relativement récente, nous avons cherché à quantifier la diversité génétique des populations en limite de l'aire de distribution. Nous avons également voulu savoir si cette diversité dépendait de l'isolement des populations ou d'un goulot d'étranglement que ces populations auraient pu subir lors de la diminution du nombre de petits rhinolophes au siècle dernier.

Partie 1 - Impact du climat et de l'habitat :
échelle populationnelle

WHICH TEMPORAL RESOLUTION TO CONSIDER WHEN INVESTIGATING THE IMPACT OF CLIMATIC DATA ON POPULATION DYNAMICS? THE CASE OF THE LESSER HORSESHOE BAT (*RHINOLOPHUS HIPPOSIDEROS*).

DO STUDIES ON POPULATION-LEVEL SENSITIVITY TO LANDSCAPE VARIABLES PROVIDE SIMILAR RESULTS TO INDIVIDUAL-BASED HABITAT SELECTION SURVEYS? A CASE STUDY WITH A WOODLAND BAT SPECIES

Contexte et objectifs

Notre premier objectif est de comprendre l'impact du paysage proche des colonies sur l'abondance, la fécondité et les tendances démographiques des colonies de maternités du Petit rhinolophe. Pour ce faire, les associations "Bretagne Vivante" et le "Groupe Mammologique Breton" ont accepté de nous fournir des comptages effectués pendant 15 ans (de 2000 à 2014) dans 94 colonies. Les comptages distinguent les adultes des juvéniles, nous donnant donc des informations sur la taille des populations mais aussi sur la fécondité au sein de chaque colonie.

Afin d'accomplir cet objectif, nous avons tout d'abord décidé de mieux comprendre l'impact de variable environnementales connues pour influencer la dynamique des populations des chauves-souris. En effet, les variables climatiques sont connues pour influencer l'activité, la survie et la mise-bas des chauves-souris, notamment la température et les précipitations (Adams and Hayes 2008; Burles et al. 2009; Schorcht et al. 2009; Frick et al. 2010; Adams 2010; Amorim et al. 2012; Lučan et al. 2013; Amorim et al. 2015). Avant de s'intéresser à l'effet du paysage, nous avons donc décidé de dissocier l'impact de ces variables climatiques, et ce pour deux raisons. Tout d'abord, toutes les colonies n'ont pas été suivi pendant la période complète de comptage : certaines n'ont pas été détectées dès l'année 2000, d'autres ont pu disparaître, et la disponibilité des bénévoles comme l'accessibilité aux colonies peuvent varier d'une année sur l'autre. Ainsi, toutes les colonies n'ont pas été comptées les mêmes années, et ont donc subi des conditions climatiques différentes. De plus, la Bretagne est une région spatialement hétérogène en termes de conditions climatiques, notamment selon la proximité à l'océan. Les conditions climatiques peuvent induire une variation de nos données de comptages même au sein d'une même année (Lamy and Dubreuil 2010). Comprendre l'impact des variations climatiques sur la dynamique des populations du Petit rhinolophe nous était donc nécessaire pour extraire leur influence sur la variabilité de notre jeu de données. Si les études s'intéressant à l'impact du climat sur les populations de chauves-souris sont nombreuses, il n'existe aucun consensus concernant l'échelle temporelle considérée pour ces variables (López-Roig and Serra-Cobo 2014; Amorim et al. 2015; Kerbiriou et al. 2015) : nous avons donc construit différents modèles expliquant la taille de la population et la fécondité avec les variables climatiques en testant différentes échelles temporelles, afin de déterminer quelles variables expliquaient le mieux la variation de notre jeu de données.

Nous avons ensuite pu étudier l'impact du paysage en construisant des modèles expliquant la taille de la colonie ou la fécondité (moyennée au cours du temps) par la composition et la

structure du paysage autour de chaque colonie, tout en prenant en compte l'impact des variables climatiques précédemment étudié. La répétition des comptages sur une longue période nous a également permis de considérer la tendance démographique. C'est-à-dire le sens de la variation de la taille de la population, comme une variable réponse de nos modèles. La sélection de l'habitat du Petit rhinolophe a déjà été largement étudiée à une échelle individuelle (Schofield 1996; Bontadina et al. 1999; Holzhaider et al. 2002; Motte and Libois 2002; Bontadina et al. 2002; Biedermann et al. 2004; Bontadina et al. 2006; Reiter et al. 2013; Downs et al. 2016a) et nous avons caractérisé le paysage autour de la colonie en se basant sur ces études pour étudier son impact sur la dynamique des populations. Six classes d'occupation du sol ont donc été différenciées : les bois de feuillus, les bois de conifères, les surfaces artificielles, les cultures, les milieux ouverts, et l'eau douce. L'activité du Petit rhinolophe est concentrée dans les 500 mètres autour de la colonie (Bontadina et al. 2002; Reiter et al. 2013), mais des études récentes considèrent l'impact du paysage sur de plus larges étendues (Afonso et al. 2016). Nous avons donc testé l'impact du paysage dans des cercles de rayons différents autour de la colonie, afin de voir quelle échelle spatiale est la plus pertinente. L'identification des classes d'occupation du sol importantes pour la dynamique des populations, de même que l'échelle spatiale à laquelle elles agissent, sont des informations essentielles pour la mise en place de mesures de conservation telle que l'aménagement de sites permettant d'accueillir les colonies de petits rhinolophes.

Les informations concernant l'impact du paysage nous ont ensuite servi de base sur un jeu de donnée beaucoup plus restreint - 11 colonies – situées en Picardie, mais pour lesquelles nous avons des informations fournies par l'Office National des Forêts concernant la gestion forestière autour de la colonie. Nous avons ainsi pu tester l'impact de la proportion de futaies régulières, du diamètre des arbres et de leur diversité spécifique sur la taille de ces populations. L'acquisition de la taille de ces populations est détaillée dans la deuxième partie de ce mémoire.

Méthodologie

L'analyse de l'impact de chaque variable environnementale s'est faite via la construction de modèles linéaires (généralisés pour s'adapter à la distribution de l'abondance et de la tendance démographique) considérant une variable de dynamique des populations avec une distribution appropriée comme variable réponse, et les variables environnementales (paysage ou climat) comme variables explicatives. Nous avons ensuite utilisé la méthode du "model averaging" en construisant les modèles considérant toutes les combinaisons possibles de variables

environnementales avant de les classer selon leurs critères d'information (Burnham and Anderson 2002). Les modèles s'intéressant aux variables climatiques ont considéré chacun des comptages indépendamment (avec la colonie en effet aléatoire), et nous avons utilisé l'AIC comme critère d'information. Nous avons par contre utilisé l'AIC corrigé pour les petites tailles d'échantillons pour les modèles s'intéressant aux variables paysagères, qui ont considéré des données moyennées sur le temps du comptage. Une fois ordonné, l'impact de toutes les variables présentes dans les meilleurs modèles (c'est-à-dire les modèles dont le critère d'information ne dépasse pas deux au-dessus du plus petit critère d'information) est estimé avec un intervalle de confiance qui dépend du nombre et du rang des modèles dans lesquels elles sont présentes. Si cet intervalle de confiance n'inclut pas zéro, on peut alors en conclure qu'une variable a un impact significativement négatif ou positif (Lankinen et al. 2016).

L'impact de la gestion forestière a été testé en construisant un modèle basé sur l'impact du paysage, puis en évaluant si l'ajout de variables de gestion forestière descendait significativement le critère d'information (BIC, plus adapté pour tester ce genre d'hypothèse - Aho et al. 2014).

Which temporal resolution to consider when investigating the impact of climatic data on population dynamics? The case of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*).

Authors: Pierre-Loup Jan¹, Olivier Farcy², Josselin Boireau³, Erwan Le Texier⁴, Alice Baudouin⁴, Pascaline Le Gouar⁴, Sébastien J. Puechmaille⁵, Eric J. Petit⁶

Published in *Oecologia*, 184(4)

¹ *UMR 985 ESE, INRA, Agrocampus Ouest, 35042 Rennes cedex, France*

² *Bretagne Vivante, 29221 Brest cedex 2, France*

³ *Groupe Mammologique Breton, 29450 Sizun, France*

⁴ *UMR 6553 ECOBIO, Université Rennes 1, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France*

⁵ *Zoological Institute and Museum, Greifswald University, 17489 Greifswald, Germany*

Introduction

Weather and climatic conditions have a great influence on the population dynamics of most species (Kingsolver 1989; Saether et al. 2004; Forrester and Wittmer 2013). Climatic factors directly impact organisms, especially in cases of extreme climatic events (Şekercioğlu et al. 2012; Leigh et al. 2015). They also affect species' dynamics by altering their environment (Peterman and Semlitsch 2014; Akesson 2016; Hasan and Ansari 2016; Ceglar et al. 2016). Because of their great impact on species at the bottom of the food chain, weather conditions are also known to have a drastic impact on food availability (White 2008). For these reasons, the abundance and distributions of species are expected to be altered in the current context of global climate change (Thomas et al. 2004).

In this context, understanding the impact of climatic factors on population dynamics and demography appears to be fundamental to interpret or predict long term population trends (McLean et al. 2016; Urban et al. 2016). This topic has been studied for many species, generally using long-term observed abundance or other population dynamics metrics based on count or capture data at one particular moment in the life cycle of the species. These data are then modelled as a function of weather, considering mainly temperature and rainfall, but sometimes including other variables (Bruggeman et al. 2015; Kerbiriou et al. 2015; Bleho et al. 2015; Kanno et al. 2016; Dugger et al. 2016). Obviously, variables included in the model directly depend on the considered species biology, but more surprisingly, the temporal resolution considered is also highly variable. The latter citations correspond to recent studies that deal with various taxa, and all of them have used climatic databases offering a monthly (if not daily) resolution. Monthly resolution involves a great number of climatic variables. In a few cases, the number of variables were reduced by pre-selecting months based on preliminary analysis (Parent et al. 2016) or on expert knowledge (Kerbiriou et al. 2015). Most studies have aggregated climatic data to correspond to climatic seasons (varying from two to six month periods) that are consistent with the life cycle of the species of interest (Bruggeman et al. 2015; Bleho et al. 2015; Ciuti et al. 2015; Kanno et al. 2016; Dugger et al. 2016; Masciocchi et al. 2016; Townsend et al. 2016). Occasionally, studies even considered these data by averaging them over a year (Nouvellet et al. 2013). Another option is to mix different time resolutions in the same models, such as in BIOCLIM derived models, which include 19 variables that are aggregated on a yearly, seasonal or monthly (extreme month) basis and are now commonly used to predict species distributions (Barbet-Massin and Jetz 2014; Del Toro et al. 2015; Beltramino et al. 2015; Ray et al. 2016). The absence of clearly defined criteria to select the

temporal resolution is problematic (van de Pol et al. 2016), particularly for population dynamic processes, because the temporal resolution considered when studying these processes can greatly affect the outcome of statistical or predictive models (Radchuk et al. 2014).

Bat populations are particularly sensitive to climatic variations, and are recognized as valuable indicators of climate change (Jones et al. 2009). For example, in temperate regions, cold temperature will greatly reduce their food availability, e.g. the abundance and activity level of insect prey (Hoying and Kunz 1998; Ciechanowski et al. 2007). Inclement weather, including heavy rain, will also increase the energetic cost for flying and maintaining euthermia, and will reduce the efficiency of echolocation (Reiter 2004a; Burles et al. 2009). Furthermore, numerous studies have demonstrated the impact of climatic conditions on the activity, survival, and reproductive success of bats (Adams and Hayes 2008; Burles et al. 2009; Schorcht et al. 2009; Frick et al. 2010; Adams 2010; Amorim et al. 2012; Lučan et al. 2013; Amorim et al. 2015). Climate change during the last decades has already caused a shift in the distributional range of some bats (Uhrin et al. 2016; Wu 2016), a process that will probably be exacerbated during the next decades (Rebelo et al. 2010; Hughes et al. 2012).

Studies of bat population dynamics usually take into account weather as one of the fundamental explanatory variables. Those studies are mainly based on counts or captures made at one particular moment in the life cycle, such as during parturition or the hibernation period (Grindal et al. 1992; Zahn 1999; Hoyle et al. 2001; López-Roig and Serra-Cobo 2014; Kerbiriou et al. 2015). Climatic factors usually include rainfall and temperature, which can be the daily mean (Zahn 1999; Schorcht et al. 2009; Kerbiriou et al. 2015) or minimum temperature (Grindal et al. 1992; Hoyle et al. 2001; López-Roig and Serra-Cobo 2014). Some other variables, such as drought severity, winter severity or winter duration, can also be included, using different proxies (Schorcht et al. 2009; López-Roig and Serra-Cobo 2014; Amorim et al. 2015; Kerbiriou et al. 2015). Once again, the time resolution of these variables differs between studies, and climatic factors can be considered for specific months (Grindal et al. 1992; Zahn 1999; Kerbiriou et al. 2015), averaged over seasons consistent with the species biology (Schorcht et al. 2009; Frick et al. 2010; Adams 2010; López-Roig and Serra-Cobo 2014), or averaged over even longer periods (Hoyle et al. 2001; Amorim et al. 2015).

The lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) is a small insectivorous bat of recognized conservation concern (Bontadina et al. 2000). This bat forages exclusively in woodlands, preferentially in dense areas (Bontadina et al. 2002; Reiter 2004b), and is already considered as

a good indicator of biodiversity loss (Haysom et al. 2013). After the last glaciation, this species expanded its range from southern Europe to northern parts of Europe (Dool et al. 2013), into environments with colder and less stable climate (Bontadina et al. 2000). In spring, females leave the underground sites used as hibernacula and gather in maternity roosts, which are generally in warmer places, like attics, and the parturition and rearing of offspring takes place during June and July. Mating then occurs principally between the end of September and the beginning of the hibernation period (Gaisler 1966; Tournant 2013). The life cycle and activity of *R. hipposideros* are particularly affected by weather conditions. This bat prefers higher temperature for its maternity roost than other attic dwelling species (Kayikcioglu and Zahn 2004). However, if available, they will switch to colder satellite roosts if temperatures become too high during summer. These observations suggest direct effects of weather on the thermoregulation and energy budget (Kayikcioglu and Zahn 2004; Seckerdieck et al. 2005). Inclement weather (i.e. cool and wet) before parturition generally delays birth and decreases the average size at birth and growth rate of the juveniles. These effects are explained by energetic costs, implying more torpor and a slowed metabolism for pregnant females, as well as by decreased food availability (Reiter 2004a). However, the global effect of weather conditions on the overall population dynamics of *R. hipposideros*, crucial information for understanding population trends, is not documented (Bontadina et al. 2000).

As climatic impact can greatly differ depending on the level of response considered (McLean et al. 2016), we investigated two proxies of the dynamics of *R. hipposideros* colonies: colony size, which is the result of the dynamics of colonies, and fecundity, one parameter that drives these dynamics. In order to understand the impact of climatic conditions on these parameters, we used count data from 94 colonies (Brittany, France) collected by local associations during fifteen years. These count data offer reliable estimates of colony size as confirmed by independent non-invasive Capture-Mark Recapture methods (Puechmaille and Petit 2007). Brittany populations are at the species range margin, and thus not at their optimal climatic conditions, a situation where population dynamics are likely to be strongly influenced by the weather (Thomas et al. 1994; Geber 2008; Bateman et al. 2011). Furthermore, this region is under a temperate climate greatly influenced by oceanic conditions, and the weather can be very variable during and between years (Lamy and Dubreuil 2010; Perrimond 2015). Our study had two objectives: 1) investigating the temporal resolution at which climatic variables should be considered when assessing the population dynamics of a bat species at a regional scale and 2) improving our understanding of the climate impact on a species of great conservation

concern. Because most climatic databases facilitate access to data with at least a monthly resolution, we considered a monthly resolution, a several months resolution (corresponding to life cycle periods that are suitable for *R. hipposideros*), a yearly resolution, and also mixed temporal resolutions that correspond to commonly used BIOCLIM variables to explain variability in colony size and fecundity in *R. hipposideros*. We hypothesized that finer temporal resolution would better grasp weather effects.

Material and Methods

Monitoring of colonies

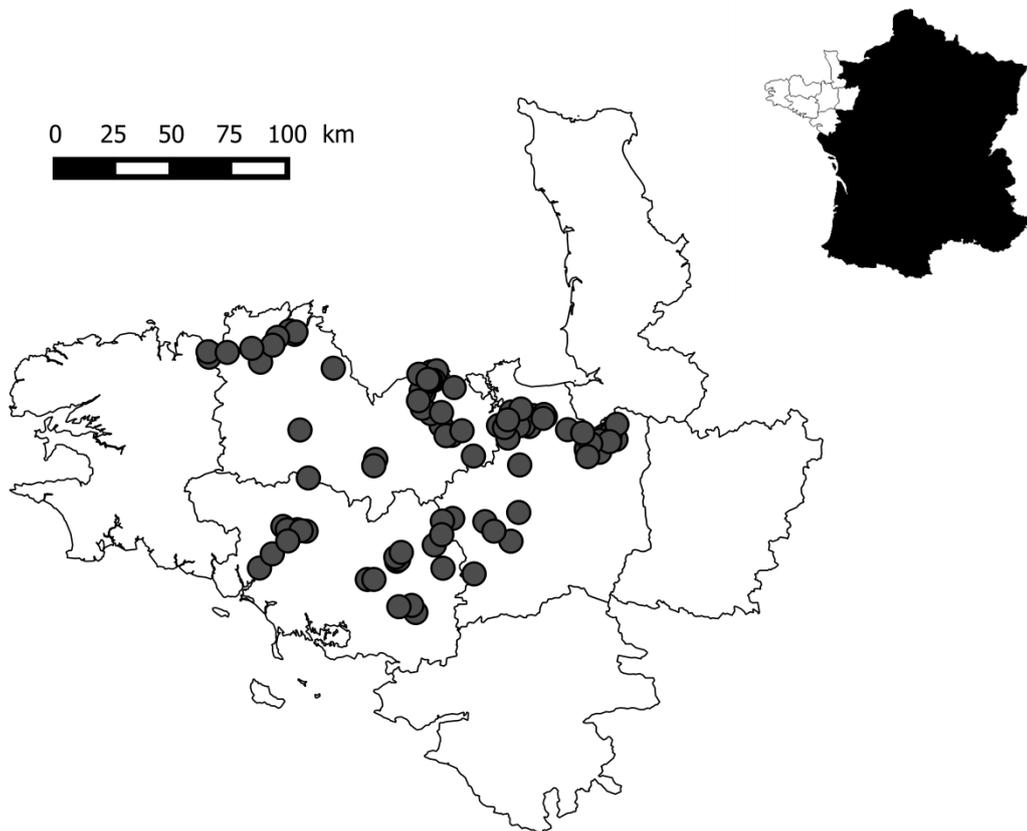


Figure 5: Map of the 94 colonies monitored in Brittany, France.

From 2000 to 2014, a total of 94 *R. hipposideros* maternity colonies were monitored in Brittany (Figure 5). Not every colony was known in 2000, and, in some cases, monitoring was not possible due to unforeseen circumstances (blocked access to the bats or the person in charge of counting the bats). Thus, the number of monitored years per colony ranged from 3 to 14 (7.73 on average). This monitoring consisted of one or two counts during late June or early July, that

is, during the period when newborns are easily distinguished from adults in Brittany. When multiple counts were carried out in a given year, only the largest one was considered. Adults and juveniles were counted separately: for each year, the census size of the colony was estimated by the number of adults, and the fecundity by the number of juveniles divided by the number of adults.

Colony size distribution is expected to correspond to a Poisson or a negative binomial distribution (O'Hara and Kotze 2010). Some colonies disappeared over the years, probably for reasons unrelated to the climatic variables considered: thus, we also considered zero-inflated Poisson and zero-inflated negative binomial distributions (Zuur et al. 2009). We tested which of these four distributions corresponded to our demographic data by using the maximum likelihood method implemented in the R package *fitdistrplus* (Delignette-Muller and Dutang 2014). Fecundity was considered to follow a normal distribution. Generalized linear (count data) and linear (fecundity) mixed models together with Wald chi-square tests were used to test whether bat counts and fecundity varied between years. Colonies were considered as a random factor in the models, so as to not consider the impact of roost quality and environment. We then removed the random effects to plot the deviance residuals against the theoretical quantiles (QQ-plots) to check the assumptions of our models and detect possible outliers in the colonies. These tests, as well as the analyses described below, were carried out in R version 3.2.2 (R Development Core Team 2015).

Climatic data

Minimum temperature, mean temperature, and precipitation were recorded monthly at 16 meteorological stations in Brittany (Météo-France data, <https://publitheque.meteo.fr>) since the beginning of the monitoring. Temperature directly influences the bats energy budget and their cost for homeothermy, but the most significant impact of temperature may also come from a decrease under particular thresholds: temperature low enough can induce torpor in bats or inhibit the flight of insects, needed for most bats foraging. Thus, both mean and minimum temperature have been considered in studies interested in the effect of climatic variables on bats (Reiter 2004a; Burles et al. 2009; López-Roig and Serra-Cobo 2014; Kerbiriou et al. 2015), and we decided to consider both of them here. Temperature and especially precipitation exhibited a great variability during the counting period (Figure S1). We performed an ordinary kriging to obtain these climatic data for each colony by using the package "gstats", function "krige" (Pebesma 2004). Brittany's weather is spatially and temporally variable. We therefore

performed a local kriging by taking into account only the three closest stations. Climatic information for each counting was then treated in three different ways. Firstly, each month of the previous life cycle (from August to July) was considered. These data are thereafter named "monthly data". Secondly, we averaged the climatic information over longer periods corresponding to the mating period (September-November), hibernation (December-February), the spring transition (March-May) and parturition (June-July) periods. From now on, this temporal resolution is called "life cycle data". Thirdly, we averaged climatic data over the previous year, and refer to this temporal resolution as the "yearly data". Finally, we considered 17 of the 19 bioclimatic variables (Table 3) by computing our dataset the same way as ANUCLIM (Xu and Hutchinson 2013) with the help of the R package climates (Van der Wal et al. 2014) and refer to these as BIOCLIM data. The variable bio7 correspond to bio5 minus bio6, and caused linear combinations in our dataset: we thus excluded bio7, which is less informative than the two other variables, to avoid rank-deficiency in our models. The variables bio 2 and bio3 caused multiple correlations when in the same model ($bio3 = \frac{bio2}{bio5 - bio6}$), and we discarded the less informative one, bio3. Explanatory variables were centred and scaled prior to model fitting.

Model averaging

Model averaging was performed to estimate the effect of climatic variables on colony size and fecundity. We created models explaining the variation in colony size (GLMM) and fecundity (LMM) depending on the climatic variables, by considering the different temporal resolutions. For monthly and life cycle data, models were computed separately for average temperatures, minimum temperatures, and precipitation. Two bioclimatic models were built considering separately temperature (BIOCLIM 1-11) and precipitation variables (BIOCLIM 12-19) to ease comparison with other models. Colonies were considered as a random factor in the models, and there were no temporal autocorrelations in those models (as explored using models residuals via the "acf" R function). Correlations between fixed effects were checked. Only bio4 and bio11 as well as bio13 and bio15 were highly correlated ($r > 0.8$).

Full models were then used as bases in the glmulti R package to obtain every possible combination of explanatory variables (without interaction) and order them by AIC (Calcagno et al. 2010). Models including highly correlated variables ($r > 0.8$) were discarded, and the package glmulti was then used to perform model averaging by calculating the Akaike weight of each model within $2\Delta AIC$ of the best model (Burnham and Anderson 2002). The model-

averaged regression coefficients of the predictors and their 95% confidence intervals (CI) were then calculated based on the cumulative weights of the models including the variable (Calcagno et al. 2010). Explanatory variables were then considered as having a meaningful positive or negative impact on the response variable if their 95% confidence interval did not include zero (Lankinen et al. 2016). The significance of yearly models, containing only one fixed effect (mean temperature, minimum temperature, or precipitation) and one random effect (colonies) were tested with Wald chi-square tests.

Model averaging with all temperature and precipitation monthly variables considered together would require very high computing power and memory (more than 16 million models to be evaluated and compared), especially for the colony size data and its more elaborate distributions. Thus, we created the mixed models that incorporated only significant predictors from previous model averaging (with either the minimum or average temperature, depending of the AIC) and computed their AIC and R^2 (marginal and conditional - Nakagawa and Schielzeth 2013) to determine which kind of predictor and which temporal resolution best explained variations in colony size and fecundity of *R. hipposideros* colonies in Brittany. AIC is more appropriate for an exploratory analysis investigating which predictors could give the best description of a very complex system, whereas BIC is more performant in confirmatory analysis or hypothesis testing (Aho et al. 2014). Thus, AIC was chosen over other criteria such as BIC for model averaging and ranks.

Results

Variation of colony size and fecundity over the years

Colony size data had a better fit with the zero-inflated negative binomial distribution (AIC : 6323.29), followed by the negative binomial, the zero-inflated Poisson and the Poisson distribution (with AIC of 6326.31, 21167.65 and 22596.92, respectively). Thus, we performed GLMMs with the zero-inflated negative binomial distribution. Both colony size and fecundity varied over the years (Wald chi-square test; $p = 0.002$ and $p < 0.001$ respectively).

Table 1: Colony size as a function of average temperature, minimum temperature and precipitation at different temporal resolutions. Monthly models consider each month from August to July preceding bat counts. Life cycle models consider mating, hibernation, spring transition and parturition period (August month was excluded). Yearly models only consider the climatic variable averaged over the year. NS : non-significant predictor after model averaging (monthly and life cycle models) or non-significant Wald chi-square test (yearly models); + : positive significant predictor; - : negative significant predictor. Model averaging was based on AIC (see text). Last rows display the AIC of the models only containing the significant predictors as fixed effects, with the lowest AIC written in bold, and finally their corresponding rank.

		Monthly models			Life cycle models			Yearly models		
		Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.	Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.	Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.
Mating	August	NS	NS	NS						
	September	NS	NS	NS						
	October	NS	NS	-	NS	NS	NS			
	November	+	+	NS						
Hibernation	December	NS	NS	NS						
	January	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	February	NS	NS	NS						
Spring Transition	March	NS	NS	NS						
	April	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	May	+	+	NS						
Parturition	June	NS	NS	+	NS	NS	+			
	July	NS	NS	NS						
AIC - Significant predictor (Rank)		5748.96 (2)	5749.26 (3)	5743.98 (1)	NA	NA	5751.2 (3)	5757.36 (5)	5757.42 (6)	5757.36 (5)

[Table 2: Fecundity as a function of average temperature, minimum temperature and precipitation at different temporal resolutions. Legend and format are identical to those of Table 1.](#)

		Monthly models			Life cycle models			Yearly models		
		Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.	Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.	Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.
Mating	August	NS	NS	NS						
	September	NS	NS	NS	NS	NS	+			
	October	NS	NS	+						
	November	NS	NS	NS						
Hibernation	December	NS	NS	NS				NS	NS	NS
	January	NS	NS	NS						
	February	NS	NS	NS						
Spring Transition	March	NS	NS	NS	NS	+	NS			
	April	+	+	-						
	May	NS	NS	NS						
Parturition	June	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	July	+	+	NS						
AIC - Significant predictor (Rank)		-55.24 (3)	-61.35 (1)	-57.55 (2)	NA	-42.24 (5)	-47.25 (4)	-35.60 (8)	-38.34 (6)	-35.79 (7)

Impact of climate

Significant predictors were found for most monthly and life cycle models for both colony size (Table 1) and fecundity (Table 2). Annual climatic factors were never significant (Wald chi-square test; $p > 0.15$ in all cases).

Comparisons of predictor categories and time resolutions showed that the models with the lowest AIC were those including monthly significant predictors for both colony size and fecundity. Precipitation model was the best for colony size, whereas the minimum temperature model had a lower AIC for fecundity

Colony size was positively influenced by precipitation in June and negatively impacted by October precipitation. Fecundity was positively impacted by the rain of October and negatively by precipitation during April. Monthly minimum temperature models had higher AIC than the corresponding monthly averaged temperature models for colony size, but lower in the case of fecundity. Nonetheless, they showed similar results regarding significant explanatory variables. Colony size was positively impacted by the temperature in May and November. Fecundity was positively influenced by the temperature during the months of April and July.

The AIC of the life cycle models were always larger than the corresponding monthly models ($> 7 \Delta AIC$). Model averaging on life cycle data was not able to give any significant predictor when considering the impact of average or minimum temperature on colony size. Only precipitation during parturition time was found to be significant for colony size at the life cycle temporal scale. When looking at fecundity, the minimum temperature during spring transition and precipitation during mating period were significant. Yearly models were the models with the highest AIC (Table 1 and Table 2), and did not outperform the null model in most cases (AIC : 5755.42 and -37.15 for the null model of respectively the colony size and the fecundity dataset.)

There was no significant BIOCLIM predictor for colony size, but four variables were significant for fecundity (Table 3). Two factors positively affected fecundity: minimum temperature of the coldest month and precipitation of the wettest quarter. Annual precipitation and precipitation seasonality negatively impacted fecundity. The AIC of models built with these significant predictors were higher than those of monthly and life-cycle models.

Models with significant temperature (minimum for fecundity and average for colony size) and precipitation predictors were computed for each temporal resolution, as well as a model

containing every bioclimatic predictor which was significant for both colony size and fecundity. Once again, the models with the lowest AIC were the monthly models, and the models with the highest AIC were yearly models, whilst those with life cycle and bioclimatic models were intermediate. Marginal R² (Nakagawa and Schielzeth 2013) showed that the fixed effect of monthly models explained 0.9% and 5.3% of variability for colony size and fecundity, respectively, and ranking of marginal R² was congruent with the AIC ranking (Table 4).

Table 3: Impact of temperature and precipitation BIOCLIM variables on *Rhinolophus hipposideros* fecundity. Model averaging was performed on two models separating temperature and precipitation variables. BIOCLIM variables 3 and 7 were excluded from our analysis (see text). NS: non-significant predictor after model averaging; +: positive significant predictor; -: negative significant predictor. Last columns display the AIC of the models only containing the significant predictors as fixed effects.

	Variable Description	Number (BIOCLIM)	Significance	Significant predictors
Temperature	Annual mean temperature	1	NS	-37.78
	Mean diurnal range	2	NS	
	Isothermality (2/7)	3		
	Temperature seasonality	4	NS	
	Maximum temperature of warmest month	5	NS	
	Minimum temperature of coldest month	6	+	
	Temperature annual range (5-6)	7		
	Mean temperature of wettest quarter	8	NS	
	Mean temperature of driest quarter	9	NS	
	Mean temperature of the warmest quarter	10	NS	
	Mean temperature of coldest quarter	11	NS	
Precipitation	Annual precipitation	12	-	-43.30
	Precipitation of wettest month	13	NS	
	Precipitation of driest month	14	NS	
	Precipitation seasonality	15	-	
	Precipitation of wettest quarter	16	+	
	Precipitation of driest quarter	17	NS	
	Precipitation of the warmest quarter	18	NS	
Precipitation of the coldest quarter	19	NS		

Table 4: AIC and ranks of models that included both minimum temperature and precipitation significant predictors for the different temporal resolutions of explanatory variables.

	Fixed effects	AIC (Rank)	Marginal R ²	Conditional R ²
Census size	Month Minimum temperature : November & May Precipitation : October & June	5746.74 (1)	0.009	0.669
	Life cycle Precipitation : Parturition	5751.2 (2)	0.003	0.658
	Year Minimum temperature : Year Precipitation : Year	5759.3 (3)	<0.001	0.654
	BIOCLIM NA	NA	NA	NA
Fecundity	Month Minimum temperature : April & July Precipitation : October & April	--65.14 (1)	0.053	0.177
	Life cycle Minimum temperature : Spring Transition Precipitation : Mating	-51.79 (2)	0.027	0.154
	Year Minimum temperature : Year Precipitation : Year	-36.48 (4)	0.006	0.123
	BIOCLIM Temperature : 6 Precipitation : 12,15 & 16	-43.72 (3)	0.021	0.148

Discussion

Colony size and fecundity varied between years and between colonies. Exploring whether these variations could be explained by climatic factors, we showed that fine temporal resolution climatic models have superior explanatory power compared to temporally coarse ones. These models reveal that climatic variables impact *R. hipposideros* population dynamics at critical periods, with more precipitation having significant and opposite impacts depending on the time of year, and increased temperatures having a positive impact.

Temporal resolution of weather impact

Life cycle data correspond to meteorological data averaged over specific periods built upon the biology and life cycle of species. These averages are commonly used in studies interested in exploring climatic impacts on species demographic dynamics. For *R. hipposideros*, the periods were chosen according to bibliography and expert knowledge. Using AIC selection, we showed that abiotic factors calculated with monthly resolution better predicted the *R. hipposideros* colony size and fecundity in Brittany compared to the factors calculated with coarser resolution. These results can be explained by the great climate variability observed between months, especially for precipitation (Figure S. 1). Our results also suggest that the same variable can have either positive or negative effects depending on the period of the year. This implies that in regions like Brittany, population dynamic processes are mainly dependent on critical periods which are shorter than life cycle periods. Those critical periods are supposedly highly dependent on the interaction between the species biology and the local climate.

One could argue that comparisons of models using AIC tend to favour complex models (Link and Barker 2006). We however did not observe this when computing AIC for full models that included all variables (both non-significant and significant predictors, data not shown). The use of model averaging instead of other approaches such as stepwise AIC also allowed us to only consider significant predictors and limits bias towards over-complex models (Lukacs et al. 2010). Besides providing estimates and confidence intervals, model averaging also measures the importance of each variable, based on the AIC of the models where they were included, the so called "sum of weight". The sum of weight of each significant predictor in our study was superior to 0.95 (data not shown), further supporting the importance of these variables in explaining variations in colony size and fecundity in the lesser horseshoe bat (Giam and Olden 2016).

Considering all the models which are at 2 Δ AIC from the best model is a common practice in model averaging, but it has been argued that even models below this threshold should be included in the analysis, and that being too stringent could exclude significant variables (Burnham et al. 2011). In the case of our results, monthly data gave still better predictors than life cycle data when we extended the threshold until 7 Δ AIC. However, it caused the disappearance of some significant variables instead of the appearance of new ones (see supplementary materials, Table S. 1 and Table S. 2). Multicollinearity in the averaged models was suspected, but excluding all the models with Variance Inflation Factors higher than 2 did

not change the results (data not shown). The disappearance of significant variables can be due to the fact that we considered every month or period of the year without any a priori, and thus probably included some non-relevant variables. Increasing the threshold to 7 Δ AIC led to the inclusion of poor models, which are known to impact the results and increase confidence intervals around effect sizes (Burnham and Anderson 2002). Indeed, models including significant predictors obtained with 2 Δ AIC had lower AIC than models including significant predictors obtained with 7 Δ AIC (compare Table 1 to Table S. 1 and Table 2 to Table S. 2). Thus, we only considered the 2 Δ AIC results in the following discussion.

Depending on climate variability, averaging weather variables over long periods could result in the concealment or misidentification of essential impacts on population dynamics. Comparisons between climate variables averaged yearly or over shorter periods already showed that short-term climatic conditions are better at characterising population dynamics (Gedir et al. 2015). This was also shown in mechanistic models, which in contrast with our correlative approach directly model the relationship between individual traits and the environment. Those models generally use finer temporal scale resolution than correlative models, and it has been shown that reducing the environmental data to a daily resolution permitted a better understanding of environmental impact (Kearney et al. 2012). Our results suggest that even periods of several-months which are consistent with the life cycle of the species, and which are commonly used in explanatory correlative studies, could be too long to really grasp the effect of climate on species. Likewise, the now widely used BIOCLIM variables (Barbet-Massin and Jetz 2014; Del Toro et al. 2015; Beltramino et al. 2015; Ray et al. 2016) were far less predictive than monthly variables, and did not result in better models than our life cycle variables. Interestingly though, BIOCLIM variables included variables that were not present in the other models, such as precipitation seasonality that appeared to significantly explain fecundity.

Studies interested in the impact of climate on demographic parameters would therefore greatly benefit from considering explanatory variables with fine temporal resolution (e.g. monthly). One could argue that considering a short temporal resolution implies multiplying the number of variables used in those models. One solution could be to only consider a few months based on the species biology (Kerbirou et al. 2015), but the best way might be to select the most relevant predictors by statistical means before performing other analyses (Parent et al. 2016; van de Pol et al. 2016). To this end, model averaging is an ideal tool for selecting significant predictors. A recently released R package, *climwin*, is also a well-designed tool to address the question of temporal resolution. Though it allows a great flexibility to easily detect the best

time window based on AIC comparisons, it is not well-optimized for detecting multiple effect of the same variable (van de Pol et al. 2016). Our example demonstrates that situations may include multiple effects of the same variable, and we advocate the use of alternative and complementary tools to understand how species respond to environmental variation, which is one of the main challenges when the aim is to predict the future of biodiversity (Urban et al. 2016).

Indeed, temporal resolution is also an important feature when predicting the impact of future climate change on species distribution, a topic which has received increasing interest in the scientific community. If global or regional climate change are generally considered on a yearly (or coarser temporal) basis when it comes to prediction (Turner et al. 1989), coarse temporal resolution will fail to grasp the heterogeneity of responses and could substantially alter the outcome of population viability predictions under temperature change scenarios (Radchuk et al. 2014). Reducing the temporal resolution for species distribution models is particularly important when dealing with microclimate (Kearney and Porter 2009). The future species distribution of European bats, including *R. hipposideros*, has been predicted in a recent study based on climate variables averaged over 30 years (Rebelo et al. 2010). This pooling is understandable given the number of species, and the prediction time span (2050 and 2090), but the impact of temporal resolution on these models has not been, to our knowledge, deeply investigated. Despite the fact that the processes considered in this study are not directly related to range distribution, it would be interesting to test different temporal resolutions when conducting distribution modelling for species that experience highly variable climatic conditions like *R. hipposideros*.

Impact of weather on *R. hipposideros*

R. hipposideros colony size and fecundity significantly varied between years. Variances explained by the fixed effect of our models were low, especially for the colony size models, but the variance explained by the fecundity model was within the range of variance usually explained by most ecology models (Møller and Jennions 2002). In a study on a pipistrelle bat population, Kerbiriou et al. (2015) have shown that the variance of meaningful environmental variables (including climatic variables) could be drastically reduced (to 1%) because of intrinsic demographic trends. Additionally, although *R. hipposideros* is a rather sedentary species (Dool et al. 2016), we do not consider emigration or immigration which could influence the colony size besides the effect of climate. Thermal isolation of the roosts/hibernacula could also modify

the impact of the ambient temperature during summer or winter. Even though we cannot predict which part of the environmental variance those variables explain (Sæther et al. 2000), our results nevertheless pinpoint mechanisms by which climatic factors play a role in the inter-annual variation of colony size and fecundity of *R. hipposideros*.

Precipitation was the climatic factor that best explained the variation in colony size. Rainfall directly impacts bats by increasing the energetic cost of flight and homeothermy and by making echolocation less efficient, but also indirectly by acting on insect abundance and hence on food availability (Grindal et al. 1992; Frick et al. 2010; Voigt et al. 2011). If a greater effect of the precipitation on bats compared to temperature has been observed in warmer climates (Hoyle et al. 2001; Frick et al. 2012), this was unexpected for European insectivorous bats (Rebelo et al. 2010). This could be explained by the greater variability of precipitation in Brittany (Figure S. 1) that would have increased the support for this variable in our models (Frick et al. 2010).

An interesting result is that depending on the month and the demographic variable considered, precipitation had a positive or a negative impact. If the ambiguous impact of rain on bats, depending on region and time, has already been reported (Frick et al. 2010; Lučan et al. 2013), this study is to our knowledge, the first where precipitation is shown to have significant and opposite impacts on the same bat population depending on the time of the year. The impact of precipitation on the colony size was negative in October but positive in June. Precipitation impact on bat population dynamics differs depending on the timing of precipitation (Frick et al. 2010), either negatively by increasing the energy cost for foraging (Voigt et al. 2011) and decreasing the efficiency of echolocation (Griffin 1971), or positively by increasing insect abundance in dryer periods (Williams 1951). Opposite effects of the same factor, caused by spatial or temporal variability, has already been observed in a wide range of species (Spiller and Schoener 2008; Satterthwaite et al. 2012; Metz and Tielboerger 2016), but these results highlight the necessity to have the finest temporal resolution possible to enhance our understanding of the impact of climatic factors. Thus, it seems that precipitation impact can be highly variable in Brittany, with an overall negative effect except during summer, which is the driest period. The positive impact of rain during October on fecundity is more surprising given that it has the opposite effect on colony size. Opposite climate or environmental effects on survival and fecundity have already been observed in other species such as emperor penguins (Barbraud and Weimerskirch 2001), Eurasian oystercatchers (Van de Pol et al. 2010) or goshawks (Herfindal et al. 2015). Those results signal a complex pattern of co-variation that would need further investigation and a better understanding of the underlying mechanisms.

Low temperatures can influence bat survival by directly increasing energetic cost for homeothermy, but also by reducing insect activity and so food availability (Reiter 2004a; Burles et al. 2009). The colony size in *R. hipposideros* was positively impacted by higher temperatures during the period when individuals return to their maternity roosts and hibernacula (May and November, respectively). We can thus hypothesize that the temperature of these months would strongly impact the bats' energy budget for parturition and hibernation.

Because the flight of most insects is inhibited under some threshold temperature (Taylor 1963), it is more impacted by minimum than average temperatures. A stronger influence of the minimum temperature than of average temperature on fecundity of *R. hipposideros* suggests that this process depends on food availability at some critical periods. April seems to be the key month regarding fecundity. Inclement weather, e.g. cold and rainy, during the early foetal stage, is known to cause abortion or resorption of embryos in bats (Grindal et al. 1992; Lučan et al. 2013) which could explain the observed negative impact of precipitation and the positive impact of minimum temperature in April on fecundity. The impact of temperature during July, the lactating period in Brittany, is also not surprising, because a cold month is expected to reduce the survival rate of juveniles, diminishing reproductive success (Reiter 2004a; Burles et al. 2009).

Results based on BIOCLIM variables gave a consistent pattern, with notably a positive impact of the higher minimum temperature and a negative impact of precipitation except for the wettest quarter (which would correspond approximately to autumn in Brittany). Even if the AIC of BIOCLIM models were higher than monthly models, there are two significant variables that could not be detected by our other models, which are temperature and precipitation seasonality, with a positive and negative impact respectively. Adding those variables to monthly models did not change the significant predictors (data not shown), but the impact of climate seasonality on bat fecundity deserves further investigation.

Conclusion

Considering the temporal resolution of weather variables allowed the detection of climate impact on a bat population of high conservation priority at a very fine resolution. Relaxing the assumption that the impact of weather variables is invariant during life cycle periods was here important to uncover the effects of climate on colony sizes and fecundity in the lesser horseshoe bat. Because most climate databases offer at least a monthly resolution, we suggest that analogous studies should consider fine temporal resolution for testing the impact of continuous

abiotic variables such as those linked to weather. Although our approach was correlative, it enabled the identification of potential mechanisms by which climatic factors affect population dynamics. Obtaining this knowledge is a necessary step towards better forecasts of biodiversity responses under climate change.

Data Accessibility

Data used in this study are available on <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.5183488.v1>

Do studies on population-level sensitivity to landscape variables provide similar results to individual-based habitat selection surveys? A case study with a woodland bat species

Authors: Pierre-Loup Jan^{*.1}, Diane Zarzoso-Lacoste^{*.2.3}, Damien Fourcy¹, Anne-Laure Besnard¹, Alice Baudouin², Olivier Farcy⁴, Josselin Boireau⁵, Catherine Deck⁶, Jerome Jaminon⁶, Pascaline Le Gouar², Sébastien J. Puechmaille⁷, Eric J. Petit¹

* Co-first-author

¹ UMR 985 ESE, INRA, Agrocampus Ouest, 35042 Rennes cedex, France

² UMR 6553 ECOBIO, Université Rennes 1, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France

³ UMR 8079 ESE, Université Paris-Sud/CNRS/AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay Cedex, France

⁴ Bretagne Vivante, 29221 Brest cedex 2, France

⁵ Groupe Mammologique Breton, 29450 Sizun, France

⁶ Office National des Forêts, 6200 Compiègne, France

⁷ Zoological Institute and Museum, Greifswald University, 17489 Greifswald, Germany

Introduction

The ecological niche of a population is defined in a multi-dimensional framework that includes climate, landscape, trophic relationships, etc. (Hutchinson 1957). The modification of only one of the variables embedded in these dimensions can alter the dynamics and persistence of a population. Thus, a better understanding of the effect of changes in environmental variables on wild populations is crucial to set up appropriate management measures and mitigate the decline of biodiversity (Leite et al. 2013; Trathan et al. 2015; Frost et al. 2016). Habitat destruction, fragmentation, and degradation are considered as the primary threats to biodiversity (Primack 2006). In such a context, identifying the type of environment that constitutes the habitat of a population, as well as the variables that alter or enhance its quality, is particularly valuable to protect wild populations (Holland and van der Merwe 2016; Lyons et al. 2016; Salz and Fartmann 2017).

Population dynamics studies can enhance our understanding of the effect of climate (Eggers et al. 2015), landscape (Bobretsov et al. 2017), trophic interactions (Wittwer et al. 2015), or other environmental factors (Ocana et al. 2016) on populations persistence. Research involving abundance data and demographic parameters are particularly helpful for biodiversity conservation because they allow to identify the environmental factors that may influence demographic trends (Martinez et al. 2003; Roberts et al. 2016; Hunt et al. 2017). Presence/absence data permit to know the minimum requirement allowing the presence of populations, and species abundance data is even more relevant to identify the environment types and characteristics needed for long-term persistence (Grouios and Manne 2009; Russo et al. 2010). It is thus acknowledged that the evaluation of the impacts of the environment on species of conservation interest requires to be performed at the population scale, if not higher (Metcalf et al. 2012).

However, such population scale studies present pitfalls that are sometimes difficult to overcome. First, population level studies require large datasets. Indeed, they necessitate to be conducted over large sample sizes and spatio-temporal scales to provide sufficient variation of the environmental conditions (Frederiksen et al. 2014). Second, individual foraging and reproduction strategies may be highly variable within a population. Thus, their sensitivity to environmental pressure also vary, and the "averaged" ecological niche of a population may hide a wide variety of niches at the individual scale (Bolnick et al. 2003). When inter-individual variations are particularly pronounced, population scale data can misrepresent the true effect of

environment on individuals. Finally, environmental and/or demographic stochasticity can strongly affect population dynamics making it difficult to disentangle the real impact of the studied environmental variables (Jonzén et al. 2002).

Habitat suitability can also be investigated by considering habitat selection at the individual level, which can be done by tracking individuals using telemetry (Martin et al. 2009), by direct observation (Pe'er et al. 2004), or by acquiring spatial data on individuals distribution (Olivier and Wotherspoon 2006). It is probably because the animal-environment relationship is more straightforward to study at the individual scale, with fewer constraints in sampling and analysis, that the habitat suitability of the lesser horseshoe bat, *Rhinolophus hipposideros*, has been mostly investigated with individual-based habitat selection studies. This bat has undergone a massive decline in the northern part of its distribution range during the last century for reasons that are still not fully understood, although pesticides use, decline in insect prey, and habitat destruction were suspected causes (Bontadina et al. 2000). This stressed the need for a better understanding of its habitat requirement, and led to the set-up of numerous telemetry studies during the last thirty years (Schofield 1996; Bontadina et al. 1999; Holzhaider et al. 2002; Motte and Libois 2002; Bontadina et al. 2002; Biedermann et al. 2004; Bontadina et al. 2006; Reiter et al. 2013; Downs et al. 2016a) and some recent presence/absence studies (Tournant et al. 2013; Le Roux et al. 2017). These studies principally focused on habitat selection of females during the crucial period of parturition, during which females gather in maternity colonies usually located in attics or in old buildings for the northern populations (Kayikcioglu and Zahn 2004). During this period, *R. hipposideros* have more stringent habitat requirements because they need an appropriate roost surrounded by high quality foraging area (Tournant et al. 2013). Since these small bats are elusive during most part of the year, studying them when they gather in winter (hibernation) or summer (maternity) colonies greatly facilitate their detection. These individual-level studies revealed that the lesser horseshoe bat forages in woodland, especially broadleaved ones, and are mostly active in close vicinity to their roost (within a radius of 500-600 meters - Bontadina et al. 2002; Reiter et al. 2013). The importance of woodland proportion on the abundance and presence of *R. hipposideros* was then tested and confirmed (Reiter 2004b; Tournant et al. 2013) and presence/absence data revealed a negative effect of artificial land cover on the establishment of maternity colonies (Tournant et al. 2013). However, the possible impact of other land cover types on abundance and population dynamics has not been tested yet, and studies interested in the habitat suitability of *R. hipposideros* never considered the impact of woodland quality. Indeed, most of European temperate forests are managed for wood

production, and forestry management is known to influence the population dynamic of woodland specialists (Hunter Jr 1990, 1999; Hunter Jr and Gibbs 2006). Thus, studies investigating the variation of habitat quality should also consider the variation of woodland management and species composition when they have the opportunity to do so.

In this study, we used two datasets to assess the effect of landscape and forest management variables on the population dynamics of lesser horseshoe bat maternity colonies. First, we use visual monitoring data collected for 94 colonies dispersed at a regional scale and followed during 15 years to evaluate the effect of landscape composition and configuration variables on colony sizes, fecundity, and demographic trend. Then, we use the results of the noninvasive genetic monitoring of eleven colonies embedded in a large managed forest to test specific hypotheses related to the possible influence of habitat quality on colony size. More specifically, we tested the effect of the proportion of even-aged forest, tree diameter and the tree diversity. These analyses will allow us to test the validity of the conclusions of individual level (e.g. telemetry and presence/absence data) studies, at the population level, and investigate if population level data will allow us to detect environmental impact not detected by individual level studies.

Materials and Methods

Demographic data for *R. hipposideros* colonies

Brittany colonies: From 2000 to 2014, 94 *R. hipposideros* maternity colonies were monitored in Brittany, France (Figure 6, see details in Jan et al. 2017). The following demographic variables were compiled for each colony: mean colony size (the number of adults averaged over the years), fecundity (the juveniles/adults ratio averaged over the years), and the demographic trend. The last variable was used to test if environmental variables were significantly associated with an increase or a decline in population, and was obtained by performing a linear regression of colony size as a function of year, and by recording the sign of its slope (i.e. positive or negative).

Picardy colonies: Non-invasive genetic samples were collected in 11 maternity colonies from 2013 to 2016 in Picardy, France (Figure 6). Sampling, DNA extraction, genotyping, and bioinformatic methodologies are described in Zarzoso-Lacoste et al. (2017). We then estimated the number of females for each year based on the re-capture rate of each individuals (Puechmaille and Petit 2007), and averaged them over the four years for each colony to obtain

mean colony sizes. Even if some adult males can be observed in maternity colony, their presence is only occasional, and counts are actually closer to the number of female than to the number of all adults (Zarzoso-Lacoste et al. 2017).

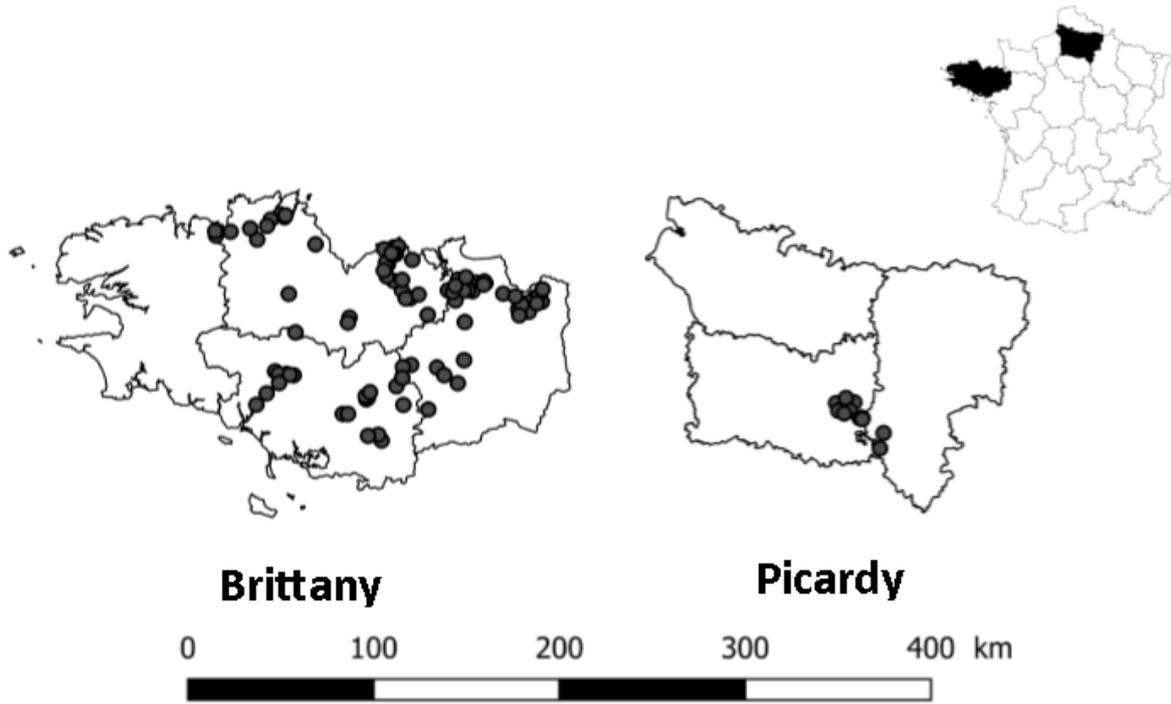


Figure 6: Map of the 94 colonies monitored in Brittany and the 11 colonies monitored in Picardy, France.

Landscape and forest management attributes

We built a geographic information system (GIS) for each study site (Brittany and Picardy) by integrating data of the studied colonies, land cover and forest management associated with processes for extracting descriptors of the landscape surrounding the colonies. The land cover datasets are represented by a vector map constructed by combining different existing databases, to obtain information that is sufficiently precise and relevant for *R. hipposideros*. The initial databases we have used are CORINE Land Cover - European Commission 2006, BD Topo 2.1 - IGN 2013, BD Forest v1 - IGN 2012 and Graphic Parcel Register 1.0 (RPG) - IGN 2012. The land cover map construction methodology included procedures for correcting topological errors, homogenizing information resolution and harmonizing attribute data. Finally, for the two study regions, we obtained a map featuring 38 classes of land use (Table S. 3) and with a minimum mapping unit (MMU) of 100 m². This MMU was maintained in the data extracted around the colonies for analysis.

Forest management attributes for the site of Picardy were provided by the Office National des Forêts (ONF). They were spatially joined to the attributes of the land cover map features. These data are the proportion of even-aged forest and the tree diameter, known to impact the abundance of bats or other mammals (Ecke et al. 2002; Russo et al. 2010), and the tree diversity (Shannon index), that can impact insect abundance (Sobek et al. 2009).

Assessment of the effect of landscape variables on bat population dynamics

The effect of landscape on bat population dynamics was investigated on the Brittany colonies with the landcover dataset described above. Brittany colonies data provide population dynamic parameters on a large spatio-temporal scale, and a sample size large enough to investigate numerous environmental variables (Forstmeier and Schielzeth 2011). We took into account the landscape within a circular buffer surrounding each colony. Two buffer radius were tested : 2500 m, reflecting the radius commonly used in recent studies on the lesser horseshoe bat (Afonso et al. 2016), and 500 m, reflecting the core area of the foraging zone (Bontadina et al. 2002; Reiter et al. 2013). Before clipping the land cover layer with each buffer, the 38 cover types were aggregated in six classes (Table S. 3) according to previous knowledge on lesser horseshoe bat's ecology (Motte and Libois 2002; Bontadina et al. 2002; Tournant et al. 2013). These classes were named: broadleaved woodland, coniferous woodland, artificial area, water bodies, cropland, and open land (other than crops and artificial). For each buffer we calculated six FRAGSTATS metrics (McGarigal and Marks, 1995) describing the composition and the configuration of the landscape pattern: The proportion of the landscape occupied by each class (%LAND), the mean SHAPE index (MSI) of each class, the Simpson's diversity index (SIDI), The Shannon's diversity index (SHDI), The Shannon's evenness index (SHEI) and the mean patch size (MPS). Since a SHAPE value of 1 correspond to a circular patch and an increases as patch shape becomes more irregular, a high MSI value reflect an increase in the edge density of a particular landscape, for an equivalent area.

Statistical model averaging was then performed to estimate the effect of land cover variables on population dynamic parameters. Full models considered either the colony size (negative-binomial distribution - Jan et al. 2017), fecundity (normal distribution) or the demographic trend (binomial distribution) as the response variable, and the proportion and shape of the six land cover as explanatory variables (without interaction). These models were then used as bases in the glmulti R package to obtain every possible combination of explanatory variables (without interaction) and order them by AICc criterion (Calcagno et al. 2010). We then performed model

averaging by calculating the Akaike weight of each model within $2\Delta AICc$ of the best model (Burnham and Anderson 2002). The model-averaged regression coefficients of the predictors and their 85% confidence intervals (CI) were calculated based on the cumulative weights of the models including the variable (Calcagno et al. 2010). 85% confidence intervals are more relevant than 95% interval confidence for AIC-based model averaging (Arnold 2010), and explanatory variables were then considered as having a meaningful positive or negative impact on the response variable if their 85% confidence interval did not include zero.

Land cover areas were considered through their proportions, inevitably leading to correlation between variables. We prevented the appearance of such correlation by discarding models including more than four proportion variables for model averaging. None of the remaining models included highly correlated variables ($r < 0.8$). The three diversity indexes (SIDI, SHDI and SHEI) were also highly correlated, and we selected the index which explained most variability for each demographic variable by building simple linear model with every response variables prior to the model averaging.

Some climatic variables were proven to impact colony size and fecundity in a previous study (Jan et al. 2017). Those variables (June and October precipitation and May and November mean temperature for Colony size ; April and October precipitation and April and July minimum temperature for fecundity) were thus averaged along the sampling period for each colony and included in all the models using colony size or fecundity as a response variable to take into account the variability explained by the weather.

To determine which radius (500 or 2500 m) best explained variations in our response variables, we compared the $AICc$ and R^2 of the models explaining the population dynamics parameters with the significant predictors detected in the previous model averaging.

Effect of forest management on *R. hipposideros* colony sizes

The effect of forest management was investigated on the Picardy colonies. We created a model with colony size as response variable (negative-binomial distribution) and the landscape variable that had the highest effect size with the Brittany dataset as explanatory variable. We did not include all landscape variables since the number of colonies in Picardie is too low to consider many variables at the same time (Forstmeier and Schielzeth 2011). We then included forestry management variables in this model (independently and in interaction with the landscape variable), computed the BIC and R^2 of the models, and tested if adding one of the

forestry management variable significantly decreased the BIC of the model ($\Delta\text{BIC} > 2$). In the case of such a decrease, the significance of every variable of the model was tested with a type-III ANOVA. Forestry management variables and broadleaved woodland proportion were included by considering the radius explaining most variation in the Brittany dataset (500m – see results).

AICc (corrected for small samples) was chosen over other criteria such as BIC for model averaging because it is more appropriate for an exploratory analysis investigating which predictors could give the best description of a very complex system. On the contrary, BIC performs better in hypothesis testing and was used for testing the effect of the three forestry variables (Aho et al. 2014).

Results

Impact of landscape

Shannon's evenness index (SHEI) was the diversity index explaining most variability for the three demographic variables, and was thus the one included in every model averaging. Significant landscape pattern predictors were detected for each response variable when considering a 500 m radius buffer around the colony (Table 5). Demographic variables were positively influenced by the proportion (%LAND) of broadleaved woodland and water bodies Mean Shape Index (MSI), and negatively influenced by artificial area and crop land proportion and open land MSI. Only three significant predictors were detected within the 2500 m radius buffer, two of them being concordant with the results of the 500 m radius buffer, and the last one suggesting an effect of water bodies MSI on the demographic trend (Table 5). When comparing the AICc and R^2 of the model given by the two buffer size, fixed effect detected with the 500m buffer always performed better (Table 6). Models constructed with significant land cover predictors explained 27% of the variance for colony size, and 8% for fecundity and demographic trend. These values reached 34% and 13% when climatic significant predictor previously detected for the colony size and fecundity were added to the corresponding models (Jan et al. 2017).

Table 5: Results of a model averaging of population dynamics parameters as a function of the proportion of land (%LAND) and Mean Shape Index (MSI) of different cover type, the mean patch size and SHEI (Shannon's evenness index). NS: non-significant predictor; + : positive significant predictor; - : negative significant predictor. When results differ between the two buffer sizes, results given by the 2500m buffer are indicated between brackets.

	Broadleaved woodland		Coniferous woodland		Artificial		Crop land		Open land		Water bodies		SHEI	Mean patch size
	%LAND	MSI	%LAND	MSI	%LAND	MSI	%LAND	MSI	%LAND	MSI	%LAND	MSI		
Colony size	+	NS	NS	NS	- (NS)	NS	NS	NS	NS	- (NS)	NS	+ (NS)	NS	NS
Fecundity	NS	NS	NS	NS	- (NS)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Demographic trend	NS	NS	NS	NS	NS	NS	- (NS)	NS	NS	-	NS (+)	NS	NS	NS

Table 6: Degree of freedom (df), AICc and R² of models that included land cover significant predictors for the two buffer scales. For colony size and fecundity, R² of models that include significant climatic predictor detected in a previous study (Jan et al. 2017) are also presented.

Response variable	Radius	Fixed effects	df	AICc	R ²	R ² with climatic variables
Colony size	500 m.	Broadleaved woodland and artificial proportion	89	775.9	0.27	0.34
		Open land and water land MSI				
	2500 m.	Broadleaved woodland proportion	92	796.5	0.04	0.14
Fecundity	500 m.	Artificial proportion	92	-116.7	0.08	0.13
	2500 m.	-	-	-	-	-
Demographic trend	500 m.	Crop land proportion	91	126.6	0.08	-
		Open land MSI				
	2500 m.	Water bodies proportion	91	130.0	0.05	-
		Open land MSI				

Impact of forest management

Broadleaved woodland proportion was the landscape variable with the highest effect size on colony size in the Brittany dataset. The model explaining the size of the 11 colonies from Picardy as a function of broadleaved woodland proportion did not perform better than the corresponding null model, which has a BIC of 102.5 (Table 7). From the three forestry measurement tested, only the model including the tree diameter exhibited a BIC significantly lower than the null model ($\Delta\text{BIC} > 3$) and explained 63% of colony size variation. In this model, the broadleaved woodland proportion was marginally significant (type III ANOVA; $p=0.066$) and the tree diameter and the interaction between those two variables were significant ($p<0.001$ and $p=0.017$, respectively). All fixed effects exhibited a positive effect on colony size.

Table 7: BIC and R² of models testing the impact of forest management variables. Bold characters indicate lowest BIC.

Model	BIC	R ²
Colony size ~ 1	102.5	0
Colony size ~ Broadleaved woodland proportion	104.2	0.05
Colony size ~ Broadleaved woodland proportion * tree diameter	98.7	0.63
Colony size ~ Broadleaved woodland proportion * tree diversity	108.1	0.13
Colony size ~ Broadleaved woodland proportion * even aged forest	108.1	0.13

Discussion

Natural habitats degradation and fragmentation associated with the expansion and intensification of human land uses (e.g. urbanization, agriculture) is a key threatening process for wild species (Burgess et al. 1981). Particularly, behavioural differences (e.g. dispersal, activity, habitat selection) in individual response to human activities can affect species population dynamics and persistence by modifying vital rates (e.g. survival and recruitment; Pelletier & Garant 2012). Though many studies have documented strong habitat selection in the lesser horseshoe bat (see the Introduction), the population dynamic consequences of such habitat requirements have yet to be assessed. In particular, identifying the elements of

landscapes that favour the dynamics of maternity colonies is key to set-up management actions for conservation of this non-migratory temperate bat species.

Our first aim was thus to test the validity of the conclusions of individual level (e.g. telemetry and presence/absence data) studies, at the population level. We tested the effect of land cover composition and configuration (%LAND, MSI, MPS and SHEI) on the population dynamics of 94 lesser horseshoe maternity colonies surveyed over 15 years in Brittany. This was done independently at two different scales, within 500 m and 2500 m radius buffers around colonies, based on foraging distances previously reported in telemetry studies (Holzhaider et al. 2002; Schofield et al. 2002; Motte and Libois 2002; Bontadina et al. 2002; Zahn et al. 2008; Farcy et al. 2009). Our results yielded two important findings.

First, our results revealed that investigating the effect of landscape composition and configuration on the dynamics of *R. hipposideros* maternity colonies is more relevant at the finest scale. Indeed, the AICc and R² values of models including landscape significant predictors for the two scales of investigation always supported the importance of the landscape surrounding colonies within a 500 m radius (lower AICc and larger part of explained variance R² - Table 6). This result is consistent with those of individual level telemetry studies demonstrating that individuals forage half of their time within a 500-600 m radius around maternity roosts, although few individuals can eventually forage at distances up to 5 km around colonies (Motte and Libois 2002; Bontadina et al. 2002; Farcy et al. 2009; Reiter et al. 2013). The destruction and fragmentation of *R. hipposideros* foraging habitats has been proposed as one of the main cause of its decline (Bontadina et al. 2000). Our results confirm this and underline the fact that the environmental condition directly surrounding maternity colonies (500 m radius), affecting the size and dynamics of bat populations, correspond to the areas that have to be protected from disturbances and managed for an optimal and cost effective conservation of this species.

Second, our results confirm previous conclusions obtained about *R. hipposideros* habitat suitability, but also provide additional insight concerning the effects of landscape composition and configuration on the dynamics of these populations (Table 5). Here, population size was significantly and positively influenced by broadleaved woodland proportion, at both spatial scales of investigation, and was negatively impacted by artificial area proportions at the 500 m scale. This validates and refines the pattern observed in a previous study conducted in Eastern France (Franche-Comté), in which (i) artificial and woodland areas were the best landscape

predictors of maternity roost presence, and (ii) the proportion of woodland areas was positively correlated with colony sizes (Tournant et al 2013), as was also documented in other regions (Schofield 1996; Holzhaider et al. 2002; Bontadina et al. 2002; Reiter 2004b). Indeed, broadleaf woodlands, often offering a higher richness and abundance of insects than coniferous plantations (Benton et al. 2002; Goiti et al. 2004), are more used as foraging areas than any other habitat (Schofield 1996; Bontadina et al. 2002), with individuals bats being observed to spend up to 90% of their time foraging within this key land cover type (Holzhaider et al. 2002). This high quality cover type, in terms of resources and protection, is thus suspected to positively influence bat population dynamics by enhancing individual survival, productivity, or both. Because we used census data of colony size and structure over multiple years and sites, we were able to more deeply investigate the effects of both land cover area and shape on bat demography (i.e. colony size, fecundity and demographic trend), and to refine previous conclusions of individual level studies.

Although human-made buildings are required for the presence of maternity roost at the latitudes we studied the lesser horseshoe bat, our results highlight the negative effect of urbanization on both colony sizes and fecundity. This result is consistent with Tournant et al (2013) result based on occupancy data alone. The negative impact of artificial areas proportion in the landscape (%LAND) on *R. hipposideros* fecundity may be due to the low quality of this cover type (scarcity of favourable foraging areas, low quality or quantity of food resource, higher exposition to light pollution, accidental mortality, predation, disturbance, stress or pollution - Stone et al. 2009; Gaston et al. 2013; Ziembicki et al. 2014; Fensome and Mathews 2016; O'Shea et al. 2016).

Interestingly, we found a significant positive effect of water bodies shape complexity, quantified by the Mean SHAPE Index (MSI), on colony size. This result reveals that long lakeshores or riverbanks near maternity colonies favour colony size and the long-term establishment of *R. hipposideros*. Shores with sufficient vegetation to provide food and shelter to a great density of insect is known to drive the distribution of insectivorous bats (Warren et al. 2000). The positive impact of riparian vegetation on lesser horseshoe bats presence and foraging behaviour have been commonly observed (Bontadina, 2002, 2008; Holzhaider et al., 2002; Schofield et al., 2002; Reiter, 2004). Lakeshores and riverbanks must represents high quality foraging areas for *R. hipposideros* since a non-negligible part of the insect species the most frequently eaten by this species (e.g. Trichoptera, Nematocera, Lepidoptera) (Arlettaz et al. 2000; Lino et al. 2014) have an aquatic larval development.

Open areas have been previously identified as an unfavourable landscape element for the presence and size of lesser horseshoe bat maternity colonies and to be generally avoided during their foraging activity (Holzhaider et al. 2002; Schofield et al. 2002; Motte and Libois 2002; Bontadina et al. 2002; Reiter 2004b; Zahn et al. 2008; Tournant et al. 2013). Indeed, insectivorous bats are known to use scattered trees or hedgerows as movement and foraging corridors because these natural vertical structures offer shelter from predators and generally present higher insect densities than open areas (Lumsden and Bennett 2005; Downs and Racey 2006; Fischer et al. 2010). Although our results showed no significant effect of open area proportions on *R. hipposideros* demography, they revealed a significant and negative effect of open land MSI on population size and demographic trend. This means that the complexity of the spatial configuration of open land patches (e.g. patch number, shape) surrounding maternity colonies, as a measurement of habitat fragmentation (Wang et al. 2014), affects the dynamics and persistence of this bat species. This may reveal a barrier effect of this unfavourable cover type, possibly by hindering individual bat foraging movements, especially if wooded corridors are scarce. This hypothesis seems to be supported by the results of previous studies showing that lesser horseshoe bats appear unable to adapt their spatial foraging behaviour in degraded landscapes, and that this bat's travelling distance is probably constrained by the high energetic cost of flight, especially for pregnant or lactating females that mostly compose maternity colonies (Rainho and Palmeirim 2011; Reiter et al. 2013).

Interestingly, our results showed a negative effect of crop land proportion on demographic trend of lesser horseshoe bat maternity colonies. Arable and pasture areas usually represent the least foraged habitats by *R. hipposideros* (Bontadina et al. 2002), which were recorded to forage more frequently in farmlands that were organic, which support higher insect richness and abundance (especially three key families for many insectivorous bats: lepidopteran, dipteran, coleopteran), than in conventional farmlands (Wickramasinghe et al. 2003, 2004). Direct and indirect effects of agriculture intensification have been proposed as one of the main cause implicated in the decline of numerous bat species including *R. hipposideros* (Bontadina et al. 2000; Wickramasinghe et al. 2003, 2004). For instance, agrochemicals can have various additive or synergistic deleterious effects on survival and health of long-lived insectivorous bats by reducing insect abundance and diversity, by direct poisoning through dermal contact, inhalation or ingestion in their diet, and because of the accumulation and biomagnification of these pollutants in bat organism, and their remobilization from fat tissues during hibernation or dispersal (Shore and Rattner 2001; Hsiao et al. 2016). During lactation, bat juveniles strongly

accumulate organochlorine pesticides (Streit et al. 1995; Luftl et al. 2005) through the feeding from their mother, and their survival is more affected by pesticide contamination than adult survival (Frick et al. 2007). Moreover, when foraging, inexperienced juveniles fly at much greater distances and are less selective on habitat quality than reproductive females (Bontadina et al. 2002), and are potentially more exposed to factors affecting their survival (e.g. low prey availability, agrochemicals, predation) in such unfavourable habitats. We can thus hypothesize that crop lands near the maternity colony particularly affect juveniles in lesser horseshoe bat populations, and through them negatively affects the demographic trend of populations.

Our second aim was to refine the previous conclusions by including in our model three forestry management variables to investigate their effects on *R. hipposideros* population sizes at the 500 m scale around 11 maternity colonies surveyed during 4 years in Picardy. Our results provided additional arguments about the importance of woodland quality in *R. hipposideros* core foraging area by revealing a significant and positive effect of tree diameter, but no effect of the proportion of even-aged forest and tree diversity on colony size. Moreover, the interaction between broadleaved woodland proportion and tree diameter show also a significant positive effect. This implies that the area of broadleaved woodland has an ever more positive impact on colony size when the woodland is made of large trees. This result means that forest patches including trees with large diameters are more prone to host large colonies, probably because they offer a higher diversity of vegetative structures and microhabitats that can host in return a higher diversity of prey. This seems to be supported by previous studies highlighting that mature forests in the surroundings of maternity colonies are important foraging habitats (Holzhaidner et al. 2002; Smith and Racey 2008) and underline the importance of maintaining large trees in managed forest patches. Because the frequency and type of forest managements can drive the persistence of numerous forest bat species in man-made landscapes, more work is required to study their impacts on bat micro-habitat suitability, our results stressing the value of considering fine measurement of habitat quality.

Conclusion

Using a statistical modelling approach and precise census data of *R. hipposideros* populations over multiple years in Northern France, we tested the effects of landscape pattern descriptors on the demography of surveyed maternity colonies (i.e. colony size, fecundity and demographic trend). Our results validated and refined the conclusions of previous individual level studies, confirming that individual behaviours (e.g. activity or habitat selection) partly drive bat population dynamics, especially in response to human-induced environmental changes, by

affecting vital rates (e.g. survival and recruitment). We highlighted the relevance of investigating the effects of these landscape variables on the presence and dynamics of *R. hipposideros* populations within a radius of 500 m around maternity colonies (core foraging area). We showed that bat population size was significantly and positively influenced by broadleaved woodland proportion and by the presence of large trees, underlying the importance of this habitat for the conservation of this non-migratory forest species. We revealed that the density of lakeshores and riverbanks in the direct vicinity of maternity colonies might be favourable for the establishment of large populations. On the contrary, the proportion of artificial areas negatively affected both colony size and fecundity, confirming the threat posed by increasing urbanization for this species. Finally, open land patches shape (MSI) and crop land proportion had a negative effect on the demographic trend of maternity colonies, validating the unfavourable nature of these habitats (low availability of preferred prey, high exposure to predation and agrochemicals) and associated human practices (agriculture intensification inducing landscape fragmentation) on the long term persistence of large populations. This study confirm but also enhance previous knowledge provided by individual level studies, and illustrate the value of population level studies for conservation biology. Some of these results, and particularly the negative impact of cropland on demographic trend, could have deep implications for the conservation of *R. hipposideros* and deserve further investigation.

**Partie 2 - Impact de l'habitat : échelle
individuelle.**

**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**

**INFLUENCE OF DENSITY, LANDSCAPE AND FOREST MANAGEMENT ON VITAL
RATES OF A WOODLAND BAT: BENEFIT OF NON-INVASIVE GENETIC
MONITORING IN AN INTEGRATED POPULATION MODEL**

Contexte et objectifs

Nous avons obtenu de nombreuses informations concernant l'impact du paysage sur les petits rhinolophes. L'impact de la gestion forestière est quant à lui plus difficile à détecter, notamment car nous avons un nombre de colonies fournissant des informations sur la gestion forestière beaucoup plus restreint. Notre objectif est ici d'améliorer les inférences faites sur l'influence de la qualité de l'habitat du Petit rhinolophe, en étudiant directement l'impact de l'environnement sur les paramètres de dynamique des populations (tel que la survie et la fécondité), plutôt que de se baser sur les variations de la taille des populations, qui n'est que la résultante de ces phénomènes. Cette approche nécessite de suivre les individus au fil du temps, ce qui peut être problématique pour des espèces aussi sensibles que les *Rhinolophidae* (Dietz et al. 2006). Afin de ne pas affecter la survie ou le comportement de ces individus, nous avons développé une méthode de suivi non-invasive qui se base sur l'ADN contenu dans les fèces récoltés dans des colonies de maternités.

Ces échantillons ont été récoltés dans des colonies situées en Picardie, à l'aide de l'agence locale de l'Office National des Forêts (ONF), qui a coordonné l'échantillonnage ainsi que le comptage des individus présents dans les colonies. Onze de ces colonies ont déjà été introduites dans la partie 1, puisqu'il s'agit des colonies pour lesquelles nous connaissons la gestion forestière de leurs alentours grâce aux données fournies par l'ONF. Au total, 19 colonies ont été échantillonnées: deux fois pendant l'été de 2013, une première fois avant la naissance des juvéniles pour n'échantillonner que des individus adultes, et une seconde fois après la naissance pour échantillonner les adultes et les juvéniles. Ces données de génétique non-invasives nous permettent de distinguer les mâles des femelles, d'estimer la taille des colonies mais aussi d'assigner des liens de parenté entre les individus. Ces échantillons nous ont donc permis de mieux comprendre l'impact du sexe et du statut reproducteur sur la présence des individus dans la colonie, ainsi que sur leur probabilité de détection.

Ce dernier point est particulièrement important pour la suite, qui consiste à réitérer l'échantillonnage pendant trois ans, afin de pouvoir utiliser l'ADN des individus comme marquage et d'obtenir des données de CMR. Ceci fut possible dans 18 des colonies échantillonnées en 2013, qui incluent les 11 colonies pour lesquelles nous avons des données de gestion forestière. Nous avons également caractérisé le paysage environnant ces colonies afin d'estimer l'impact du paysage et de la gestion forestière sur les paramètres de dynamique

des populations du Petit rhinolophe, avec pour objectif de voir si ces résultats confirment ou non les observations faites à l'aide des comptages effectués en Bretagne.

Nos données de CMR ont confirmé que le déplacement des Petits rhinolophe entre les colonies de maternité est très exceptionnel, ce qui est conforme à des études précédentes (Schofield 1996). Nous nous sommes donc concentrés sur l'estimation de la survie adulte et juvénile, qui peuvent être très différentes chez les chauve-souris (Rossiter et al. 2001; Sendor and Simon 2003), et de la fécondité des petits rhinolophes. Nous avons uniquement pris en compte les individus femelles, qui constitue la majorité des colonies et qui sont connues pour être philopatriques (Dool et al. 2016). Cependant, des données de CMR récoltées pendant uniquement quatre ans et ne distinguant pas les adultes des juvéniles peuvent être limitées pour estimer efficacement ces paramètres. Les données de génétique non-invasives nous permettent d'obtenir des informations additionnelles comme le nombre de femelles pour chaque session d'échantillonnage et les relations de parenté entre les individus. Ces informations ont donc été incorporées avec les données de CMR dans un seul modèle, afin d'obtenir une fiabilité suffisante dans l'estimation de ces paramètres.

Méthodologie

Extraction et génotypage

L'échantillonnage a été effectué par des agents de l'ONF ainsi que des personnels ou bénévoles du Conservatoire Régionale des Espaces Naturels ou de Picardie Nature, et a consisté à poser du papier journal sur le sol des colonies pendant 10 jours, avant de mélanger le guano déposé dessus et d'en récupérer une partie. Des comptages ont également été effectués par ces agents, qui différenciaient, lorsque cela était possible et que l'observateur était assez expérimenté, les adultes des juvéniles. Ces comptages ont permis d'estimer le nombre de guano sélectionnés pour l'extraction d'ADN et le génotypage : Afin d'assurer une probabilité de détection suffisante, pour un coût raisonnable, nous avons récolté environ deux fois plus de guano que la taille de chaque colonie la première année, et autant de guano que d'individus dénombré pour les années suivantes.

L'ADN de ce guano a ensuite été extrait avant de le génotyper à l'aide de huit marqueurs microsatellites déjà publiés (Rossiter et al. 2001; Puechmaille et al. 2005; Struebig et al. 2011) et d'un marqueur sexuel développé dans le cadre de ce projet par Diane Zarsozo-Lacoste. Etant donné que l'ADN issu de guano est partiellement dégradé, chaque échantillon a été génotypé

trois fois, et les répliques utilisés pour estimer la qualité de nos données génétiques. La lecture des génotypes s'est faite de manière semi-automatisée : un pipeline informatique a été développé pour la lecture des génotypes, complété par une lecture manuelle quand plusieurs génotypes ne différaient que d'un ou deux marqueurs, afin d'éviter qu'un seul individu fournisse plusieurs génotypes à cause d'un mauvais génotypage, un problème particulièrement crucial dans le cadre de la CMR.

Modèle intégré de population

Les paramètres de dynamique des populations ont été estimés à l'aide d'un modèle développé dans un cadre bayésien considérant uniquement les individus femelles, qui constituent la grande majorité des colonies de maternité, et dont la fidélité au site nous permet de considérer chaque colonie comme des populations fermées. Les données de CMR fournies par les génotypes ont été associées aux résultats de l'assignation de parenté afin que les individus présents après la naissance (deuxième session d'échantillonnage de chaque année) soient assignés à un état de mère, d'adulte non-mère, ou de juvénile, en prenant en compte une certaine incertitude dans leur assignation. La survie adulte et juvénile ainsi que la fécondité ont ainsi été estimées à l'aide de l'histoire de vie de chacune de ces femelles mais aussi en se basant sur le nombre de femelles adultes et juvéniles estimé dans chaque population au cours des années, dans le cadre d'un modèle intégré de population. Le nombre de femelles a été estimé grâce à une méthode développée spécifiquement pour la génétique non-invasive (Petit and Valiere 2006), et déjà éprouvée sur les colonies de petits rhinolophes (Puechmaille and Petit 2007). Elle se base sur la distribution du nombre de recaptures au sein d'une seule session d'échantillonnage. La probabilité de détection des juvéniles étant très faible, nous n'avons pas pu utiliser cette méthode pour estimer le nombre de femelles juvéniles, et nous nous sommes basés sur les comptages visuels de juvéniles faits pendant l'échantillonnage, en considérant que la moitié de ces juvéniles sont des femelles (Gaisler 1966). Etant donné que nous nous intéressions à l'impact de l'environnement sur ces paramètres de dynamique des populations, nous avons considérés ceux-ci comme constants au cours du temps afin de nous concentrer sur la variation entre les colonies. Nous avons ensuite estimé l'impact du paysage et de la gestion forestière sur ces paramètres de manière analogue aux analyses statistiques de la première partie.

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

Authors: Diane Zarzoso-Lacoste^{1,2,*}, Pierre-Loup Jan^{3,*}, Lisa Lehnen⁴, Thomas Girard³, Anne-Laure Besnard³, Sébastien J. Puechmaille⁴, Eric J. Petit³

* Co-first-author

Accepted in Molecular Ecology Resources

¹ UMR 6553 ECOBIO, Université Rennes 1, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France

² UMR 8079 ESE, Université Paris-Sud/CNRS/AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay Cedex, France

³ UMR 985 ESE, INRA, Agrocampus Ouest, 35042 Rennes cedex, France

⁴ Zoological Institute and Museum, Greifswald University, 17489 Greifswald, Germany

Introduction

Monitoring wild populations is crucial for their effective management (McMahon *et al.* 2011; Pereira *et al.* 2013). Yet, developing robust monitoring protocols is challenging (Nichols & Williams 2006), particularly regarding detection probability issues (Vos *et al.* 2000; Yoccoz *et al.* 2001; Pollock *et al.* 2002). While extrinsic factors (related to observer identity, time, climate, habitat, or site) that lead to detection probability variation can be accounted for using covariates, this is not the case when variation results from inter-individual variation in behaviour. A common source of intra-specific variation is sex, with males and females displaying different behaviour that leads to large differences in detection probabilities (e.g. Ogotu *et al.* 2006; Christy *et al.* 2010; Singh *et al.* 2014). This observation led to the development of statistical frameworks accounting for specific forms of intra-specific variation (e.g. Veech *et al.* 2016), but the most obvious and efficient way of correcting potential bias is to *a priori* identify subsets of populations that differ in detection probabilities.

Numerous bat species are threatened by human induced perturbations and global change, and their loss could dramatically impact ecosystem functions and services (Mickleburgh *et al.* 2002; Jones *et al.* 2009; Rebelo *et al.* 2010). Monitoring programs that are set up to assess bat population trends most often use visual counts or, more recently, passive acoustics. One important caveat of these approaches is that different categories of individuals, which are not identifiable during census, may differ in detection probabilities. For example, sexual segregation varies both spatially and temporally in bats and many other organisms (Wearmouth & Sims 2008; Angell *et al.* 2013). Different behaviour may even occur between individuals of the same sex (Senior *et al.* 2005), potentially leading to differences in detection probabilities (Marescot *et al.* 2011). Moreover, visual counts may cause disturbance to roosting bats, especially during the parturition and hibernation periods (Kunz *et al.* 2009). Despite these limitations, visual counts are widely used in maternity colonies to study bat population structure and dynamics, either by assuming that males are not a substantial component of maternity colonies (Johnson *et al.* 2011; Olson & Barclay 2013) or by acknowledging that the unknown amount of males within colonies does not permit to correctly estimate essential parameters such as fecundity (Seckerdieck *et al.* 2005). When unverified, the first assumption is particularly likely to lead to incorrect inferences on population structure and dynamics. Furthermore, because females are the most important contributors to population dynamics in bats and many other animals, it is crucial to be able to differentiate both sexes when estimating colony sizes.

Capture-mark-recapture (CMR) techniques deliver individual level data which allow insights into bat life history and ecology, including longevity, physiology, social organization, movement behaviour, reproduction, sex ratio, and, to some degree, survival and population size (O'Shea *et al.* 2004; Ellison 2008). However, CMR methods have generally proven unsuccessful for reliably estimating bat population size due to bias associated with the need to capture individuals multiple times, heterogeneity in individual detection probability, low recapture rates, trap happiness or shyness, or mark loss (Kunz 2003; Schorr *et al.* 2014). Therefore, CMR is difficult to apply to bats, which are elusive and sometimes rare organisms that are usually small-sized, nocturnal, cryptic, highly mobile and capture-sensitive. Superior censusing methods should minimize disturbance and sampling bias (Yoccoz *et al.* 2001; Kunz *et al.* 2009).

Noninvasive genetic methods have become a well-established tool to study free-ranging animals by identifying each individual through its unique DNA fingerprint, without having to capture or disturb them. DNA is extracted from noninvasive samples (hair, faeces, urine) and amplified at genetically informative markers. As a drawback, noninvasive samples often contain only low amounts of degraded target DNA, resulting in genotyping errors (Broquet *et al.* 2006). Previous work has proven that high quality genotypes can be efficiently obtained from bat faeces (Puechmaille *et al.* 2007). Multilocus genotypes are then treated as individual molecular marks, and identical genotypes are considered as recaptures. This information can be used in CMR models to estimate demographic parameters (Lukacs & Burnham 2005). The data provided can also be analysed using population genetic tools to gather critical information on sex-ratio (using a sex-linked genetic marker), relatedness, pedigrees, population structure or genetic diversity within or between populations (Waits & Paetkau 2005).

Rhinolophus hipposideros is the Palearctic bat species whose population decline is best documented. During the last century, it became rare or extinct at the northern edge of its range in Northern Europe, likely due to pesticides use, food shortage, and habitat loss (Bontadina *et al.* 2000; Weiner & Zahn 2000; Farcy *et al.* 2009). Females are known to return to their natal roost in late spring or early summer to give birth and raise their single young (Gaisler 1966). Males are usually assumed to live alone or to gather in small groups throughout the year but their presence in maternity roost has already been reported (Gaisler & Chytil 2002; Bontadina *et al.* 2002). Pregnant and lactating females have stricter roost requirements than others (Speakman *et al.* 2003). Such possible intra-specific variations in roosting requirements and behaviour depending on sex or reproductive status could result in intrinsic heterogeneity in

detection probabilities, and therefore, affect colony size (i.e. total number of adults) and fecundity (i.e. ratio juveniles/adults) measurements when estimated by visual counts (Safi *et al.* 2007; Veech *et al.* 2016). Here, we provide evidence that genetic approaches, including molecular sexing, are of great interest to elucidate the population structure of bat maternity colonies and to investigate possible differences in sex- and/or status-related behaviours.

The main goals of this study were to investigate population size, sex ratio and sex-related behaviour in *R. hipposideros* maternity colonies with a noninvasive genetic CMR approach combined with parentage assignment. We developed a robust molecular protocol, using 8 polymorphic microsatellites and one sexual marker which we applied on samples from 19 *R. hipposideros* colonies situated in Northern France, assessing the importance of taking into account sex and reproductive status when monitoring populations.

Material and Methods

Study site and sampling protocol

19 colonies located in Northern France (Picardie) were investigated (Figure 7). Bat faeces were collected during two successive sessions conducted before and after parturition in 2013. Newspaper was spread on the ground under the main hanging sites of each colony to gather bat faeces. After approximately 10 days, faeces were collected and stored on containing silica gel fragments to prevent DNA degradation until analysis (Puechmaille & Petit 2007). The number of visible adults was recorded during each visit.

DNA isolation

All pre-PCR procedures were carried out with aerosol barrier tips and single-use non-talc gloves, and pre- and post-PCR procedures were performed in separate rooms to avoid cross-contamination. For each colony, the desired number of faeces (twice the number of bats visually counted during colony sampling; see Table 9) was randomly picked. Faeces were individually homogenized using two glass beads (2 mm diameter) for 2×30 s at 30 Hz (Tissuelyser, Retsch). DNA was extracted using the NucleoSpin® 96 Plant II Kit (Macherey-Nagel) with slight modifications from the original protocol (Appendix A).

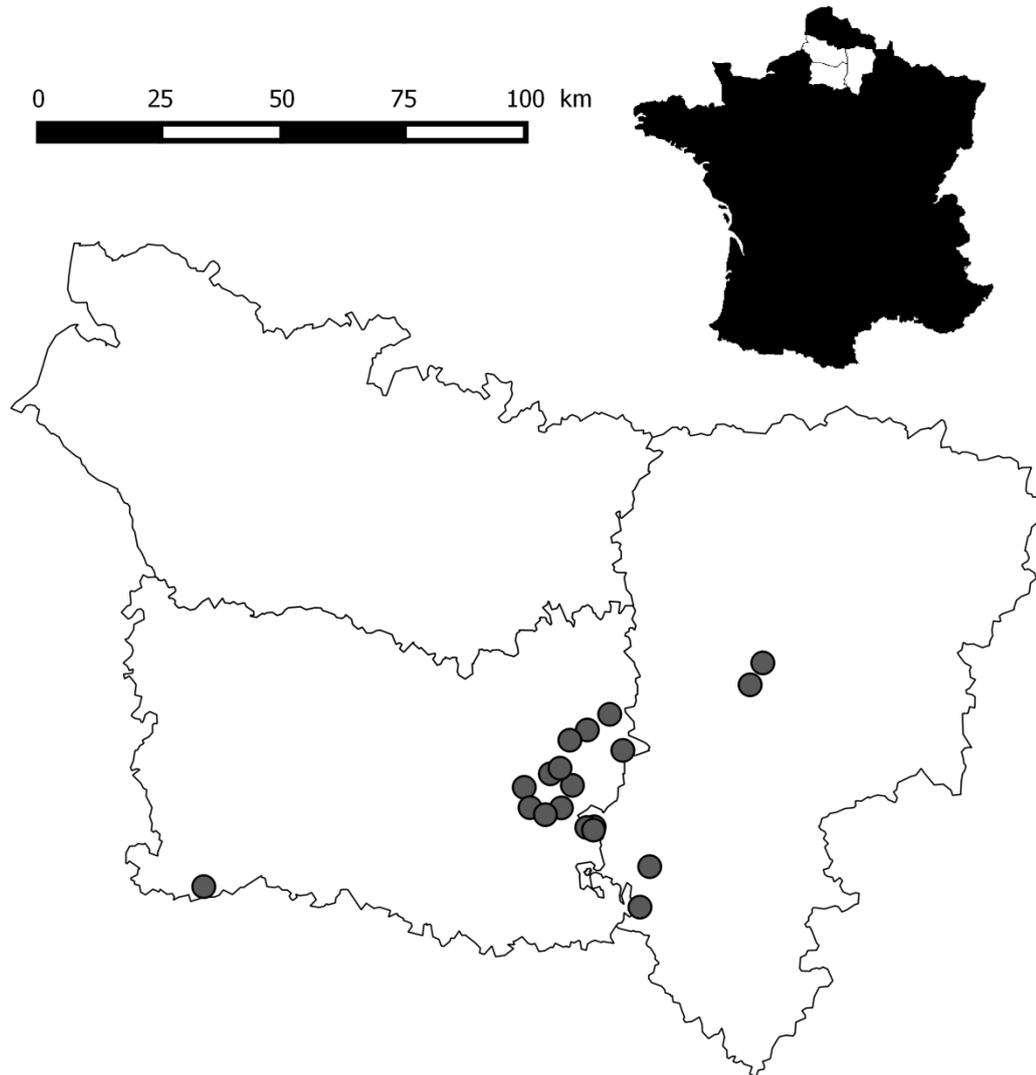


Figure 7: Location of the 19 monitored colonies (Picardie, France)

Development of a new polymorphic sex-linked marker

A primer pair was designed to target a pseudo-autosomal portion of the 8th intron of the sex-linked DEAD-box helicase 3 gene (DDX3). This gene was previously amplified in bats, with amplicon lengths suitable for degraded DNA analyses (Hellborg & Ellegren 2003). The new primer pair (DDX3X/Y-Mam-F: CAGATCTATGAGGAAGCCAGAAA; DDX3X/Y-Mam-R: TCATACCGCTCTAGAGTTCGC) targets a locus that exhibits different length on the X (154 bp from the DDX3X gene, also called DBX) and Y (131 bp from the DDX3Y gene, also called DBY) chromosomes, respectively.

The suitability of this marker for *R. hipposideros* sex identification was tested using 22 male and 17 female pure DNA samples extracted from postmortem biopsies following a salting out protocol (Petit *et al.* 1999). PCR reactions were conducted in a final volume of 15µL containing 1 µL of template DNA, 10X PCR Buffer (20 mM Tris–HCl pH 8.4, 50 mM KCl; Promega), 0.2mM dNTPs (Invitrogen), 1.5mM MgCl₂ (Promega), 0.3µM of forward and reverse primer, 0.05U/µL Taq DNA polymerase (Promega). The cycling conditions included an initial denaturing step of 95°C for 15 min followed by 45 cycles of 94°C for 45 s, 56°C for 45 s, and 72°C for 1 min and a final extension step of 72°C for 1 h. The PCR products obtained from two female and two male were cloned and purified (Strataclone PCR Cloning Kit, Agilent). Consensus sequences for DDX3 fragments amplified from both X- and Y-chromosomes were obtained by forward/reverse sequencing seven clones from each individual (Sanger technology).

In silico PCR (ecoPCR programme: Ficetola *et al.* 2010) was conducted to assess the theoretical coverage (Bc) of our sex-linked primer pair. To do so, we compiled a customized sequence database by blasting (Blastn) our consensus X-linked amplicon on the entire EMBL database, and by retrieving from GenBank the mRNA sequences of each available mammalian (sub)species (taxid: 40674). We then filtered out those that (i) did not align correctly, (ii) were too short to cover the entire length of the corresponding amplicon (i.e partial sequences) and (iii) contained ambiguous nucleotides (e.g. N). We randomly kept one sequence per (sub)species to reduce overrepresentation of a few species. Sequences were trimmed to contain only the amplicon (including primer binding sites), and internal insertions were removed. Our customized mRNA sequence database, containing 91 unique mammalian (sub)species (Appendix B), was used with ecotaxstat (Ficetola *et al.* 2010) to compute Bc (allowing 3 mismatches).

We also looked for length polymorphism of our sex-linked marker in Mammalian species. We first compiled a customized sequence database by blasting (Blastn) our consensus X-linked amplicon on all available mammalian reference genomic sequences (refseq_genomic) and by retrieving the sequences (and corresponding chromosome, gene and sex annotations) from each matching (sub)species. We then filtered out those that did not align correctly, as well as partial sequences, and trimmed the sequences to contain only the amplicon (including primer binding sites). Finally, we calculated the theoretically amplified amplicon length for all the 162 sequences, belonging to 85 unique mammalian (sub)species, contained in our customized genomic sequence database (Appendix B).

Multilocus genotyping

Bat DNA was amplified and genotyped using 9 polymorphic molecular markers including a panel of 8 microsatellites selected from the literature, and our new sex-linked marker (Table 8, Appendix C). These 9 markers were optimized into a single 8 µl multiplexed reaction containing 3.5 µl Multiplex PCR buffer mix (Qiagen), 0.0875 µM of each primer (Table 8) and 2 µl DNA templates.

A touchdown thermal cycle program was used to prevent non-specific amplification, which included an initial denaturation at 95°C for 15 min followed by 16 cycles each of denaturation at 94°C for 45 s, 58°C with 0.5°C decrease per cycle for 45 s, and extension at 72°C for 1 min, and completed with 20 additional cycles with an annealing temperature of 50°C. A final extension at 72°C for 1 hour was included at the end of the cycles before holding at 4°C. Amplifications were replicated three times to allow for genotyping error detection and to build robust consensus genotypes. Alleles were scored using GeneMapper v.5 from electrophoreses run on a 3730xl DNA Analyzer sequencer with GeneScan™–500LIZ size standard (Applied Biosystems).

Bioinformatic pipeline and genotyping quality

An automatic procedure that scores genotypes and determines consensus genotypes was developed to avoid problems associated with subjective/inconsistent scoring of alleles and human errors and minimize the time necessary for scoring alleles. This bioinformatic pipeline is based on a comparison between alleles obtained from different scoring parameters for each replicate, and a comparison between replicates. A first scoring mode, “stringent”, only considered peaks high enough to avoid genotyping errors associated with small peaks, with a threshold depending on the fluorescent dye (200 for PET, 100 for others). A second scoring mode, “non-stringent”, employed peak height thresholds of 20, 40, 50, and 60 for FAM, VIC, NED, and PET, respectively. This allowed the recovery of peaks that were not detected with the first thresholds. Thresholds for stringent and non-stringent analyses were chosen after careful observation of randomly selected samples to account for the different markers’ propensities to generate higher peaks or smaller artefacts. Peaks detected with the non-stringent analysis were only scored if they were detected in at least two of the three PCR replicates. Automated scoring with GeneMapper tends to not consider peaks obviously high enough when another peak is drastically higher. To overcome this issue, in a third approach, we scored our data as Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) instead of microsatellites. This

allowed the detection of all the peaks within defined bins independently of the height of other peaks, retaining only those that had already been detected in previous scorings in at least one other replicate. When more than two alleles per locus were scored by the software, only the two highest were kept.

The three replicates obtained from each sample were then used to create a consensus genotype by applying the following rule: one allele of the consensus must appear at least twice over the three replicates. In the rare case of problematic consensus (three alleles seen twice), the smallest peak was discarded. To rule out that distinct genotypes actually corresponded to the same individual because of genotyping errors, we manually checked every consensus that differed from others by one or two loci (mismatch 1 and 2 - Puechmaille & Petit 2007). If there was any evidence for distinct genotypes originating from the same individual (i.e. if a particular allele was present in at least one replicate of the genotype of the individual scored as homozygous for that locus) this allele was retrospectively validated, in order to create a common genotype and merge samples.

Samples with missing data on at least one locus were discarded for subsequent analyses, except the juvenile dataset for parentage assignment (see below). Allelic Drop Out (ADO) and False Allele (FA) rates, as well as the Quality Index (QI), were estimated by comparing consensus genotypes to PCR replicates (Broquet & Petit 2004; Miquel *et al.* 2006). The expected heterozygosity of each locus was computed with unique genotypes (i.e. individuals) using the adegenet package (Jombart 2008) to evaluate the markers' polymorphism.

Deviations from Hardy-Weinberg proportions were quantified and tested with FIS and the corresponding permutation test using the software GENETIX (Belkhir *et al.* 1996). Only individuals encountered before parturition (adults) were used in these two tests.

Parentage assignment

To identify mothers, parentage was assigned using the software Colony 2 with a full-pedigree likelihood method (Jones & Wang 2010). Males were designated as polygamous, and mothers as monogamous with only one possible offspring because samples were taken over a single reproductive event (Gaisler 1966). Individuals sampled before parturition were considered as potential parents while those only sampled after parturition were considered as potential juveniles. Only individuals successfully genotyped at 9 loci were considered, except potential juveniles for which the selection threshold was lowered to 7 loci since these individuals, only

sampled after parturition, were less likely to represent a clean genotype due to the lack of comparison between sampling sessions. We ran analyses ten times to assess the robustness of the results. Only individuals assigned at least five times out of ten runs were considered as parents.

Population size estimates

Population sizes were calculated using a Bayesian estimator based on single session CMR data (Petit & Valière 2006). This method, adapted to noninvasive genetic data, considers every population size between a minimum (the number of genotypes detected) and a maximum size (set to 10 times the visual count) and determines the most probable population size given the distribution of recaptures (i.e. the number of faeces corresponding to the same individual). This method assumes a homogenous detection probability and a closed population. The homogeneity of detection probability was tested with the method developed in Puechmaille & Petit (2007), which consists in simulating the sampling process under an assumption of homogeneous capture probability, and to compare the observed with the expected number of captures per individual. Population closure is highly likely since samples were deposited over a maximum of two weeks. Population size estimates were computed when considering adult (i) females and males and (ii) females only. Individuals assigned as juveniles were removed from population size estimates. To compare visual and genetic estimation methods, we performed a generalized linear mixed model (glmm) with population size as a response variable (following a Poisson distribution) and with the estimation method and sampling session as fixed effects. Colonies were considered a random effect. Fixed effect significances were tested with a Wald chi square test followed by post-hoc pairwise least-square means test. Glmm and Chi-square tests were performed in R 3.2.2 (R Core Team 2016). For comparison, we also estimated the population size with the Capwire package (Pennell *et al.* 2013), by performing either the "Equal Capture Model" or the "Two-Innate Rates Model" (depending on the likelihood ratio test included in the package) before performing the same glmm and subsequent tests. To validate the suitability of our molecular markers to discriminate among a large number of individuals, population size estimates were compared with the reciprocal of the probabilities of identity computed for unrelated individuals (PID-rand) and full siblings (PID-sibs) using Gimlet (Valière 2002) and for samples collected before parturition.

Sex related behaviour

The overall and offspring sex-ratio of each colony (i.e. the ratio of males to total number of individuals genotyped) was estimated separately before and after parturition. To investigate the capture probability of females and males depending on the sampling session, we performed a generalized linear mixed model (glmm) with the number of recaptures for each individual as a response variable (following a Poisson distribution) and with sex and sampling session as fixed effects. Because the same individual could be sampled before and after parturition, we considered individuals as a random effect. The fixed effect significance was tested with a Wald chi-square test followed by a pairwise least-square means post-hoc test. A Chi-square test was performed to investigate if the inter-session recapture rate (number of individuals captured before and after parturition) differed between sexes and with female reproductive status.

Results

Molecular protocol validation and sex ratio

The results of the amplification tests carried out with the DDX3X/Y-Mam sex-linked marker on 37 known *R. hipposideros* males and females confirmed its reliability for sex identification (100% were correctly sexed). Sequenced amplicons provided one allele from the X-Chromosome (154 bp) and two from the Y-Chromosome (129 and 131 bp). Furthermore, *in silico* PCRs confirmed the reliability of the DDX3X/Y-Mam marker for sex identification, its length polymorphism between and within 85 unique mammalian (sub)species, and the wide taxonomic coverage of the corresponding primer pair that theoretically amplified 88% of the 91 tested (sub)species belonging to all described placental mammal super-orders (detailed results are available in Appendix B).

In this study, 3544 samples out of 5099 (69.5%) were genotyped at all 9 loci. Mean ADO and FA rates over loci were 6.7% and 2.5% respectively, resulting in a QI of 91.6%. The average expected heterozygosity of the eight microsatellite loci was 70% (range 43–83%). Over all loci and colonies, the minimal number of individuals that could be discriminated for unrelated individuals ($1/PID\text{-rand}$) and assuming full siblings ($1/PID\text{-sibs}$) was above 1.46×10^6 and 2.77×10^4 , respectively, and was always clearly greater than the corresponding colony sizes estimated visually or genetically (Table 9).

We distinguished 1337 unique genotypes, inferred to correspond to different individuals, 345 (25.8%) of which were males. The number of unique genotypes identified for each colony and

sampling session ranged from 4 to 200 with a mean of 43.7, and was in the range of corresponding visual counts (Table 9). FIS values were variable between colonies, with four significantly positive values (Pic4, Pic5, Pic6, Pic19) and one significantly negative (Pic8). Males were sampled in each colony and at each sampling session, except in the smallest colony (Pic1) before parturition. The mean overall sex-ratio of the sampled colonies was 0.22 (range 0 - 0.5) and varied between colonies and sampling sessions Table 9).

Table 8: Description, sources and amplification conditions of markers used this study and their respective measures of allelic drop-out rate (ADO), false allelic rate (FA), quality index (QI) and expected heterozygosity (Hs).

	Locus	Size range	Fluoro-label	Annealing Temperature (°C)	Concentration of each primer (µM)	Source	ADO	FA	QI	Hs
Microsatellites	RHA101	130-150	NED	56	0.0875	Struebig et al. 2011	0.07	0.01	0.94	0.43
	RHA7	221-249	VIC	56	0.0875	Struebig et al. 2011	0.07	0.03	0.91	0.83
	RHA109	168-198	PET	56	0.0875	Dool et al. 2013	0.05	0.02	0.93	0.76
	RHA4	264-298	FAM	56	0.0875	Rossiter et al. 2012	0.07	0.03	0.91	0.77
	RHC108	150-174	FAM	56	0.0875	Puechmaille et al. 2005	0.09	0.02	0.89	0.73
	RHC3	186-194	FAM	56	0.0875	Puechmaille et al. 2005	0.10	0.05	0.87	0.52
	RHD102	224-272	PET	56	0.0875	Puechmaille et al. 2005	0.06	0.02	0.91	0.80
	RHD103	200-240	NED	56	0.0875	Puechmaille et al. 2005	0.05	0.03	0.93	0.73
Sexing Marker	DDX3X/Y-Mam	128-157	VIC	56	0.0875	This study	0.06	0.02	0.95	0.23

Table 9: Colonies' demographic and genetic characteristics. The number of adults visually counted, the number of unique genotypes (and corresponding proportion of males) and population sizes estimated genetically before and after parturition are presented separately. * indicates that population size estimates did not meet the homogeneous sampling assumption. Genetic characteristics were calculated using microsatellites data from the first sampling session only. F_{IS} values in bold are significantly different from 0 (10 000 permutations), and the ratio 1/probability of identity considering unrelated (PID-rand) or siblings (PID-sibs) individuals.

Colony	Before parturition				After parturition				Genetic characteristics		
	Count	Number of genotypes (sex-ratio)	Population size estimate (95% CI)		Count	Number of genotypes (sex-ratio)	Population size estimate (95% CI)		FIS	1/PIDunb	1/PIDSib
			Females + males	Females only			Females + males	Females only			
Pic1	5	8 (0.0%)	24 (12-49)	24 (12-49)	5	4 (25.0%)	NA	NA	0.05085	7.03×10^{10}	6.75×10^2
Pic2	16	21 (9.5%)	24* (21-30)	22* (19-27)	26	20 (35.0%)	32 (24-60)	20 (15-43)	-0.0254	2.02×10^7	4.13×10^2
Pic3	60	53 (20.8%)	60* (55-69)	47* (43-53)	60	45 (15.6%)	54* (48-64)	44* (39-52)	-0.00802	3.36×10^8	1.24×10^3
Pic4	45	43 (20.9%)	90 (67-155)	67 (49-121)	21	17 (23.5%)	21* (18-29)	15 (13-21)	0.05155	2.12×10^8	1.02×10^3
Pic5	40	34 (14.7%)	60* (46-99)	50* (38-87)	6	27 (18.5%)	40 (32-62)	30 (24-45)	0.06916	1.09×10^8	7.86×10^2
Pic6	70	50 (12.0%)	87 (69-128)	73 (58-108)	101	62 (12.9%)	65* (62-70)	56* (54-60)	0.09212	7.25×10^7	7.87×10^2
Pic7	30	36 (36.1%)	58 (46-89)	33 (27-53)	20	24 (33.3%)	28* (25-35)	18* (16-22)	0.01676	1.06×10^8	8.00×10^2
Pic8	35	35 (17.1%)	38* (35-44)	31* (29-36)	50	30 (16.7%)	40 (33-55)	32* (27-45)	-0.069	1.59×10^8	8.20×10^2
Pic9	55	36 (8.3%)	54* (44-79)	49* (40-72)	25	33 (39.4%)	45* (37-62)	26 (21-38)	-0.00381	2.36×10^8	1.20×10^3
Pic10	35	37 (32.4%)	44 (39-55)	30 (26-38)	40	28 (32.1%)	41 (33-63)	26 (21-40)	-0.01185	8.93×10^7	8.20×10^2
Pic11	37	33 (18.2%)	44 (37-59)	34 (29-45)	7	17 (17.6%)	18* (17-21)	15* (14-17)	-0.01587	4.93×10^7	7.59×10^2
Pic12	91	60 (20.0%)	65* (61-72)	53* (49-59)	50	62 (16.1%)	68* (63-74)	56* (52-61)	-0.03741	1.27×10^8	9.58×10^2
Pic13	50	51 (15.7%)	58* (53-66)	48* (44-55)	25	45 (13.3%)	60 (52-78)	50 (43-63)	0.00619	1.79×10^7	5.95×10^2
Pic14	80	63 (22.2%)	108 (88-151)	86 (68-129)	45	25 (20.0%)	58 (40-135)	41 (28-98)	-0.031	2.94×10^7	8.05×10^2
Pic15	5	10 (50.0%)	35 (17-59)	19 (7-29)	10	16 (31.3%)	85 (36-84)	60 (21-59)	0.01548	5.15×10^8	4.52×10^2
Pic16	222	200 (39.0%)	235* (222-253)	140* (131-152)	215	143 (32.2%)	152* (146-159)	101* (97-105)	-0.00448	7.90×10^7	1.09×10^3
Pic17	41	39 (25.6%)	51* (44-67)	41* (33-59)	3	24 (16.7%)	36* (28-57)	29* (23-48)	-0.01043	1.46×10^6	2.77×10^2
Pic18	40	55 (16.4%)	67 (60-80)	54 (49-64)	60	33 (3.0%)	45* (37-62)	43* (36-59)	0.04052	9.37×10^7	9.94×10^2
Pic 19	10	12 (41.7%)	17 (13-34)	9 (7-20)	10	4 (25.0%)	8 (5-29)	6 (3-23)	0.12659	1.09×10^8	3.04×10^2

Population size estimates

Population sizes estimated from all individuals ranged from 8 to 235, with a mean of 64.16 (SD = 46.16) individuals before parturition, and 60.28 (SD = 34.49) after parturition (Table 9). When only considering females, average population sizes decreased to 47.9 (SD = 28.71) and 44.56 (SD = 24.49) before and after parturition, respectively. However, capture probabilities were not homogenous in half of the colonies (in 9 to 11 colonies depending on male presence and sampling session, see Table 9). Because no recapture occurred at Pic1 after parturition, we were unable to estimate its population size.

Mean population sizes calculated from all individuals, before and after parturition, were greater than those estimated from females only. Mean adult population sizes estimated through visual counts were closer to those calculated from females only (Figure 8) and no significant difference was observed between them before parturition (Least-square means, p-value = 0.22). Independently of the estimation method, adult population sizes decreased after parturition. Capwire estimates gave similar results, with no significant differences between visual counts and female population size before and after parturition, with a p-value of 0.25 and 0.32, respectively (data not shown).

Sex ratio and sex related behaviour

Among the 662 females sampled before parturition and the 670 potential juveniles, only 174 were assigned as mother-juvenile pairs at least 5 times among 10 Colony runs. Mother-juvenile assignments were possible for all 19 sampled colonies, but with very heterogeneous proportions of mothers, varying from 8% to 80% (31.4% on average). This analysis allowed us to distinguish mothers and unassigned females (hereafter, non-mother females).

The number of samples collected from individuals assigned as mothers was significantly higher than for males for both sampling sessions (Least-square means, p-values < 0.05). The number of recaptures for mothers was particularly high after parturition, and significantly higher than for non-mothers (Figure 9). There were significantly more inter-session recaptures for mothers (63.8%) than for non-mothers (34.2%), and more for both types of females than for males (20.6%) (Table 10 ; Chi-square test; p-values < 0.001).

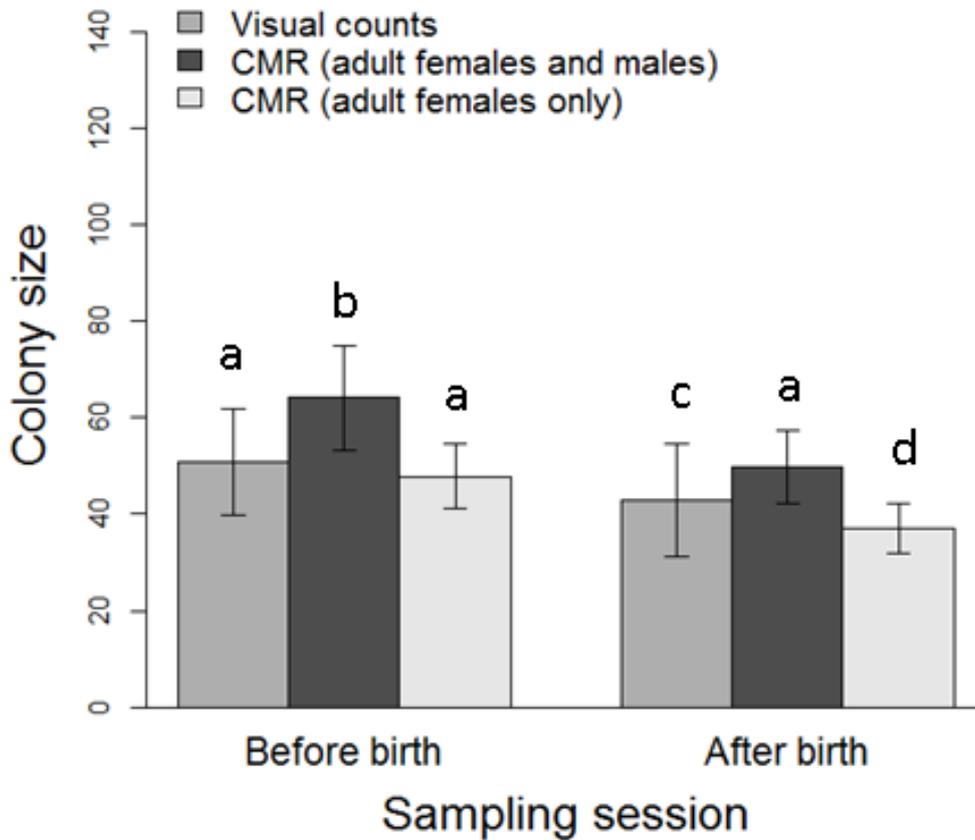


Figure 8: Colony sizes estimated by visual counts or CMR approach for both sampling sessions. CMR models were applied to all sampled individuals and to adult females only. Error bars represent standard error. Letters represent significant differences (Least-square means, p-values < 0.05)

Table 10: Number of adults sampled only before parturition vs in both sessions, depending on their sex and, for females, their assignment as a mother. *: significant Chi square-test (p-values < 0.001)

	Sampled only before parturition	Sampled before and after parturition	
Males	170	44	
Unassigned females	321	167	
Mothers	63	111	

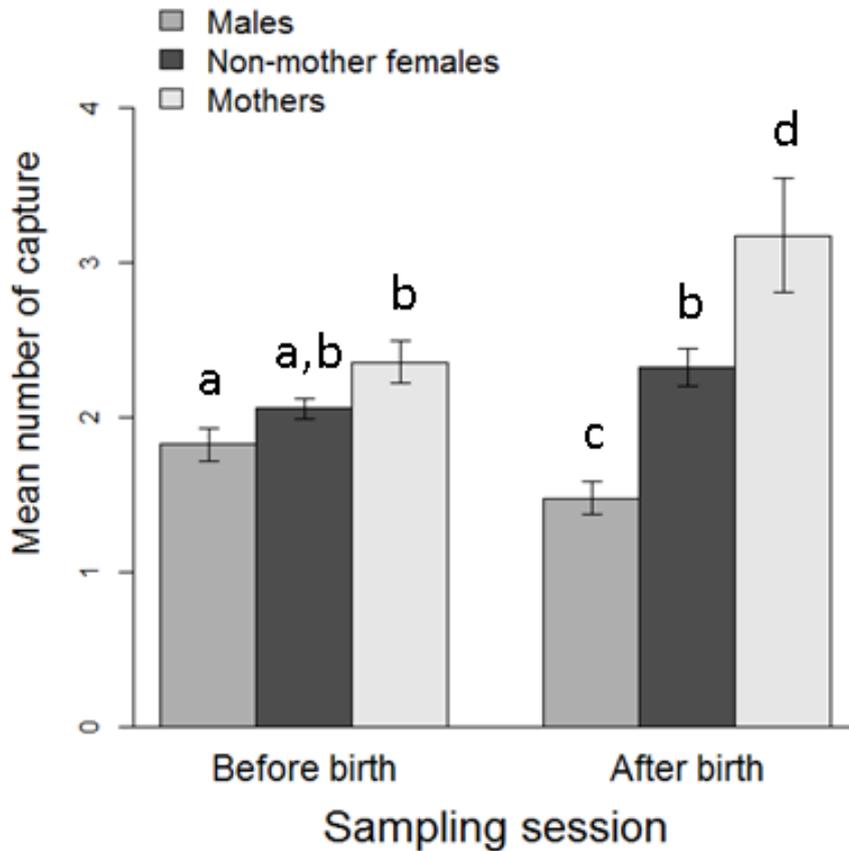


Figure 9: Number of captures for males, non-mother females, and females assigned as mothers for both sampling sessions. Error bars correspond to the standard error. Different letters correspond to a significant difference (Least-square means, p -values < 0.05)

Discussion

Molecular protocol validation

We developed a widely applicable noninvasive molecular protocol, involving eight microsatellite loci and one sex-linked marker, for population genetic studies conducted on *R. hipposideros*. Our results confirmed the suitability of the DDX3 sex-linked marker for reliable molecular-sexing from DNA extracted from different sources, including noninvasive samples. Indeed, the amplification of different pseudo-autosomal DNA fragment sizes (i.e. length polymorphism) from both X and Y chromosomes in a single PCR reaction allowed the unequivocal distinction between sexes by avoiding misidentification due to PCR failure (i.e. false negative results) when using chromosome-specific markers. We showed that this inter-chromosomal length polymorphism, which is linked to an indel located in the 8th intron of the DEAD-box helicase 3 gene, is observed in 85 mammalian (sub)species, making it a potentially widely applicable molecular sexing tool (Appendix B.2).

Despite the challenging low concentration and degraded nature of noninvasive DNA samples, our protocol allowed the complete genotyping of 70% of analysed faeces and provided high quality genetic data (QI 91.6%) with low genotyping error rates (ADO <7% and FA <3%). When including the samples with missing data, the Quality Index dropped to 73.3% but ADO and FA rates remained relatively stable (6.6% and 3.2%, respectively). These values are among the best recorded when compared to other studies directly amplifying nuclear DNA from faeces (Broquet *et al.* 2006), but are lower than those obtained in Puechmaille *et al.* (2007), where microsatellites markers were only genotyped if mtDNA was previously amplified in a given sample. This suggests that directly performing three PCR replicates per sample can represent a good compromise between sufficiently reducing genotyping error rates while keeping the cost of large scale studies as low as possible.

Here, 1337 unique genotypes were obtained from 19 colonies, which, in combination with the low PIDs calculated for our data set (even assuming full siblings), demonstrates that our molecular marker set is variable enough to discriminate a large number of individuals.

F_{IS} spanned a wide range of values around zero, with the most extreme ones being significantly different from zero (Table 9). No particular locus was involved in these extreme values (data not shown), excluding potential experimental artefacts. These F_{IS} values may rather be related to different underlying structures (e.g. Wahlund effect or family structures, see Parreira & Chikhi 2015) in the different colonies, a topic that will require further investigation.

Extrinsic factors affecting detection probability and population size estimates

Mean bat colony sizes estimated visually were always closer to the genetic estimates of female population sizes than to those of the total population (Figure 8). Hence, visual counts, which do not allow sex differentiation, underestimate the total number of individuals that occupy colonies. Indeed, individuals which are not present when the visual count occurs are missed. Individuals with the highest philopatry, i.e. females, are more likely to be detected. Beyond sex, individual detection probability may be heterogeneous due to a multitude of time- or site-dependent extrinsic factors affecting the observation process itself (observers' skills, timing and duration of censusing) and/or conditions (environmental factors restraining visibility or observers' proximity to the animals and/or factors related to species biology and ecology) (Kunz *et al.* 2009; Veech *et al.* 2016). Our results confirm that visual counts represent a reliable and cost effective method for censusing the more settled individuals within colonies (i.e. adult females, see below) when only interested in bat demographic trends. However, when more

detailed demographic data are required (e.g. population structure, reproduction or vital rates), sampling noninvasively over several consecutive days combined with CMR approaches represents a powerful alternative. Genotypes were obtained at a cost of 7.25€ per sample (consumables only) and approximately two months of lab work and data analysis were required to obtain clean consensus genotypes for all 19 colonies. This investment provided high quality data at the individual level and while minimizing both disturbance of colonies and the effects of extrinsic factors on individual detection probability and population size estimates (Petit & Valière 2006; Puechmaille & Petit 2007; Kunz *et al.* 2009).

Half of the population size estimates did not meet the assumption of homogeneous detection probability, and this heterogeneity can alter population size estimates (Link 2003). Therefore, population size estimates taken at the colony level should be treated carefully. Indeed, in most wild animal populations, standardizing sampling effort is helpful to reduce biases due to extrinsic factors, but will not totally eliminate heterogeneity, because other intrinsic variables, like inter-individual behavioural variations, will influence their detection probability through space and time (Yoccoz *et al.* 2001; Veech *et al.* 2016). It is thus crucial to define subsets of populations that differ in detection probability for a more accurate evaluation of key parameters such as population sizes or vital rates.

Intrinsic factors affecting detection probability and demography

Within a population, individuals may exhibit distinct types of behaviour that will make them more or less detectable. This heterogeneity in detection probability can be related to one or several intrinsic factors including age (e.g. Crespín *et al.* 2006), sex (e.g. Tavecchia *et al.* 2002), breeding or social status (e.g. Ogutu *et al.* 2006).

Although intrinsic heterogeneity remains difficult to measure and to control for statistically (Veech *et al.* 2016), its underlying factors are important to identify and consider whenever possible, because behaviour is often the primary force responsible for changes in density, genetic diversity, and sex or age structure.

Sex related behaviour

The set of molecular markers used allowed us to assess variation of bat maternity colony structure over time. Our results show that these colonies are indeed mainly composed of females but also that the number of males is substantial (25.8%). This is in agreement with sex-ratios recorded in other European maternity colonies (Bontadina *et al.* 2002), though our results

demonstrate that sex-ratio is not homogenous between colonies and through time within the same colony.

Unsurprisingly, a greater number of samples was analysed per female than per male before and after parturition (Figure 9). This number significantly increased in females while it decreased in males after parturition, suggesting that most males leave or spend less time in the roost and are not recaptured (Table 10). This is supported by the fact that our female population size estimates were slightly lower (13.7% on average) than visual counts, which only encompass the most settled individuals independently of their sex. Such behaviour has been observed in many other temperate bats where females segregate from males in spring and summer to form maternity colonies and raise their young (McCracken & Wilkinson 2000; Senior *et al.* 2005; Safi *et al.* 2007; Ibáñez *et al.* 2009). Indeed, during this period of low mating willingness, the lower fidelity of males to maternity colonies may reduce local resource competition with pregnant and lactating females that display more stringent foraging and roosting requirements (Senior *et al.* 2005; Safi *et al.* 2007).

These results highlight the potential of molecular approaches to investigate sex-related behaviour, in relation to species biology and ecology, and to evaluate how it could affect individual detection probabilities during population surveys. Such sex-specific information can inform conservation programs, especially in social and/or colonial species in which females, which are key individuals for population growth, form isolated groups to give birth and raise their young, a period in which they are particularly vulnerable.

Female reproductive status

The combination of our noninvasive CMR approach with parentage analysis allowed deeper insights into the structure of maternity colonies, revealing that female roost fidelity can change over time according to reproductive status, and providing fecundity estimates.

Only 26.3 % of the females sampled before parturition were assigned a mother status. This is surprisingly low considering previously reported values of this species' fecundity (e.g. 0.38 and 0.5 in Schofield 1996 and Petit *et al.* 2014, respectively). A possible explanation would be that we failed to assign a significant number of mothers due to insufficient sampling, or because of genotyping failure of some mothers before parturition and/or some juveniles after. The latter is particularly likely because sex-ratios of assigned juveniles, which are supposed to be balanced (Gaisler 1966), were biased towards females in our study (21.8% males, data not shown). This

could be explained by an unexpected difficulty to sample juveniles (e.g. particular composition and/or frequency of deposition of juvenile faeces, coprophagy behaviour of the mother), or by a significant part of the assigned juveniles actually corresponding to philopatric adult or subadult females sampled only after parturition. Nevertheless, variation in offspring sex-ratio has been reported in numerous mammal species including bats (Barclay 2012), and different adaptive explanations have been proposed (Clutton-Brock & Iason 1986).

We cannot currently accept or reject one of those two hypothetical explanations for the low number of assigned mothers observed, the reality being probably a mix of both. If low juvenile sampling prevails in shaping the observed patterns, sampling twice in a single year might not be optimal for correctly identifying all mothers of that year, or to estimate fecundity. Sampling colonies twice a year over multiple years would enhance both adult and offspring sample sizes and could help elucidating the causes of the observed low parentage assignment and female-biased offspring sex ratios.

Differences between the fecundity observed in bibliography, estimated from visual counts, and our molecular approach could also be related to intrinsic heterogeneity in individual detection probabilities due to behavioural differences in roost occupancy between individuals of different reproductive status. Indeed, the mean number of samples analysed per individual after parturition was higher for females assigned as mothers than for any non-mother in both sampling sessions (Figure 9). For mothers, the number of samples analysed per individual increased after parturition, suggesting a smaller mobility of females that gave birth. This number did not vary for non-mother females between sampling sessions, suggesting a stable behaviour over this period. Furthermore, the proportion of females resampled after parturition was higher for females assigned as mothers (Table 10). These results clearly show that all females seem to frequent the maternity colony before the permanent settlement of mothers. Because the costs and benefits of site fidelity for females may change with reproductive conditions and associated energetic requirements, we hypothesize that non-mothers are less faithful to their colony because of intra-specific competition for local resources with mothers (see Anthony *et al.* 1981; Kunz *et al.* 2009; Ngamprasertwong *et al.* 2014).

Finally, our results highlight the suitability of our approach (involving a well conserved polymorphic pseudo-autosomal sexual marker) to (i) gather high quality data at the individual level, (ii) decipher complex inter-individual behavioural variations that may influence individual detection probability, and (iii) consider these factors for more precise population size

and reproduction rate estimates, which are fundamental for efficient management of wild populations.

Conclusion

With noninvasive genetic sampling and an analysis method adapted to large datasets, we obtained high quality genetic data with minimal disturbance of the colonies. We showed that distinguishing males from females, using a sex-linked marker, offers unique opportunities to more reliably determine different categories of individuals (males, females, potential breeders, reproductive individuals), to identify extrinsic and intrinsic factors of heterogeneity in individual detection probabilities, and to estimate population sizes, which is critical for understanding population dynamics and optimise wildlife management. By combining parentage with CMR analyses, we showed that the population structure of *R. hipposideros* in maternity colonies changes dynamically during the summer. Parentage assignment provided valuable insights into female behaviour revealing that, after parturition, maternity colonies are mainly composed of mothers and their offspring while males and non-mother females continue to frequent them without residing there permanently. Because reproductive females crucially contribute to the establishment and long-term persistence of social animal colonies, disentangling behaviour specific for these different categories of individuals is essential for an effective monitoring and conservation of wild populations. Finally, our study highlights that noninvasive genetic samples, when analysed both as individual marks (CMR) and genetic fingerprints (parentage) instead of as allelic frequencies only, allow to investigate both individual (behaviour, mating, etc.) and population (genetics and dynamics) level processes. When combined with information on other biotic or abiotic factors, such data offer unprecedented information to better understand population dynamics and the underlying responsible processes (Jan *et al.* 2017). This knowledge is urgently needed for conservationists, managers and policy makers to understand how species are responding to global environmental change (e.g. climate, habitat) and to make long-term predictions.

Influence of density, landscape and forest management on vital rates of a woodland bat: benefit of non-invasive genetic monitoring in an integrated population model

Authors: Pierre-Loup Jan¹, Diane Zarzoso-Lacoste^{2,3}, Anne-Laure Besnard¹, Thomas Girard¹, Damien Fourcy¹, Catherine Deck⁴, Jerome Jaminon⁴, Pascaline Le Gouar², Sébastien J. Puechmaille⁵, Eric J. Petit¹

¹ *UMR 985 ESE, INRA, Agrocampus Ouest, 35042 Rennes cedex, France*

² *UMR 6553 ECOBIO, Université Rennes 1, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes cedex, France*

³ *UMR 8079 ESE, Université Paris-Sud/CNRS/AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay Cedex, France*

⁴ *Office National des Forêts, 6200 Compiègne, France*

⁵ *Zoological Institute and Museum, Greifswald University, 17489 Greifswald, Germany*

Introduction

The environment influences the growth rate of a population through its effect on survival, fecundity and dispersal (Benton et al. 2006). Predicting the impact of environment on population size is thus much more efficient with detailed information about population dynamic parameters than with population sizes data only, because estimating the values of the vital rates allow to disentangle the effect of environment from covariation between them or with the population size. (Clutton-Brock and Sheldon 2010; Frederiksen et al. 2014). This makes the estimation of vital rates crucial to set up efficient management tools (Benton et al. 2006).

Estimations of vital rates can be done in various ways, with some methods dedicated to one vital rate : counting eggs or juveniles for fecundity (Berezina 2005), assessing the age at death for survival (Schaub et al. 2010), radio-tracking for migration (Taylor et al. 2013), are only some of the many existing methods. Capture-mark-recapture (CMR) set-ups allow to follow the life history of many individuals in the population and their analysis provide estimates of all vital rates mentioned. CMR is sometimes considered as the method offering the most detailed information on the variation of demographic parameters (Frederiksen et al. 2014). CMR data can also be combined with data on counts or on reproduction monitoring, in an "Integrated Population Model" (IPM) framework, enhancing the reliability of estimations (Schaub et al. 2007; Schaub and Abadi 2011).

The capture and tagging methodology, crucial for getting CMR data, has been thoughtfully studied by considering many issues such as capture heterogeneity (Abadi et al. 2013) and tag loss (McDonald et al. 2003). One of the most sensitive issues could be the negative impact of capture and tagging on the survival and behaviour of some species, because of the bias induced in vital rate estimates but above all for obvious ethic reasons (Powell and Proulx 2003; Dietz et al. 2006). Indeed, classic marking methods can imply harmful tags, trapping without access to food or possibility to escape predation or even stressful handling that alter the survival and behaviour of the most sensitive species, which is particularly problematic for species of conservation interest (Powell and Proulx 2003).

By genotyping the DNA contained in non-invasive samples, such as shed hair or faeces, it is possible to follow individual's history without having to handle them (Broquet et al. 2007). This method is adapted for studies on elusive, rare or endangered species (Fuller et al. 2016; Morin et al. 2016; Gervasi et al. 2017) but is much less common than classic tagging studies. This is partly explained by the expensive cost of DNA extraction and genotyping, the misidentification

of individuals because of genotyping errors (Broquet et al. 2007; Lampa et al. 2013) or the inability to assess without uncertainty some characteristic of individuals, such as age (Gervasi et al. 2017). However, robust extraction and genotyping protocols allow to decrease genotyping errors to negligible proportions (Puechmaille et al. 2007), and genetic data provide additional information about relatedness, population structure, fecundity (Di Pierro et al. 2010), and population size (Puechmaille and Petit 2007) that can be used to improve the estimation of vital rates. There is however hitherto no integrated population model which makes use of genetic information.

Developing alternative solutions to classical CMR set-ups is fundamental for taxa like bats, for which the impact of environment on vital rates is still broadly unknown (Fleischer et al. 2017), and where numerous species are sensitive to classical handling and tagging (O'Shea et al. 2004). Horseshoe bats are among those species (Dietz et al. 2006), and it has been shown that an appropriate protocol allows non-invasive genetics to distinguish lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) individuals with very low rate of genotyping errors (Puechmaille et al. 2007). This makes non-invasive genetics a method particularly valuable for studying the population dynamics of *R. hipposideros*. This species has undergone a massive decline in the northern part of its distribution range during the last century for reasons that are still not fully understood, although pesticides use, decline in insect prey, and habitat destruction were suspected causes (Bontadina et al. 2000). *R. hipposideros* is known to have stringent habitat requirements, especially during the parturition period, when females gather in maternity colonies, because they need an appropriate roost surrounded by high quality foraging area (Tournant et al. 2013). *R. hipposideros* forages in woodland, especially broadleaved ones, and are mostly active in close vicinity to their maternity roost (Bontadina et al. 2002; Reiter et al. 2013). A recent study has shown that colony size, fecundity and demographic trend were impacted by the landscape composition around their maternity roost (Jan et al. in prep.). The effect of woodland management on colony size was also investigated, with only the effect of tree diameter detected.

Our aim is to enhance our understanding of the effect of landscape composition and woodland management on *R. hipposideros* by focusing on vital rates rather than on the resulting colony size (Benton et al. 2006). Non-invasive genetic data extracted from faeces collected in 18 maternity colonies allowed us to follow individual life histories during four years. Adult survival, juvenile survival and fecundity were estimated by developing an integrated population model combining capture-recapture data, parentage assignment and population size. Vital rates

in bats colonies can be influenced by colony size, either negatively, because of density dependence driven by competition (López-Roig and Serra-Cobo 2014), or positively, because of social behaviours (Allee effect - Gregory and Jones 2010). We will thus begin our investigation by testing for the presence of density dependence on population growth rate in our colonies. Indeed, if the presence of this effect is established in our data, we will need to consider the population size as a covariate while investigating the effect of environment on vital rates (Frederiksen et al. 2014; Ehrlen et al. 2016). Investigating the effect of environmental variables on vital rates will allow us to test (i) if the influence of environment on vital rates is consistent with what we already know about the influence of the environment on abundance and demographic trend in *R. hipposideros* and (ii) which of the vital rates are influenced by environmental variables.

Materials and Methods

Data collection

Study site and sampling protocol

18 bat colonies located in Northern France (Picardie – Figure 10) were investigated. Bat droppings were collected during two successive sessions conducted before and after parturition during four years, from 2013 to 2016. The sampling procedure is described in Zarsozo-Lacoste et al. (2017). The number of individuals was estimated visually at each sampling session, differentiating adults and juveniles when the samplers were able to distinguish them. The number of juveniles was thus not assessed every year for each colony.

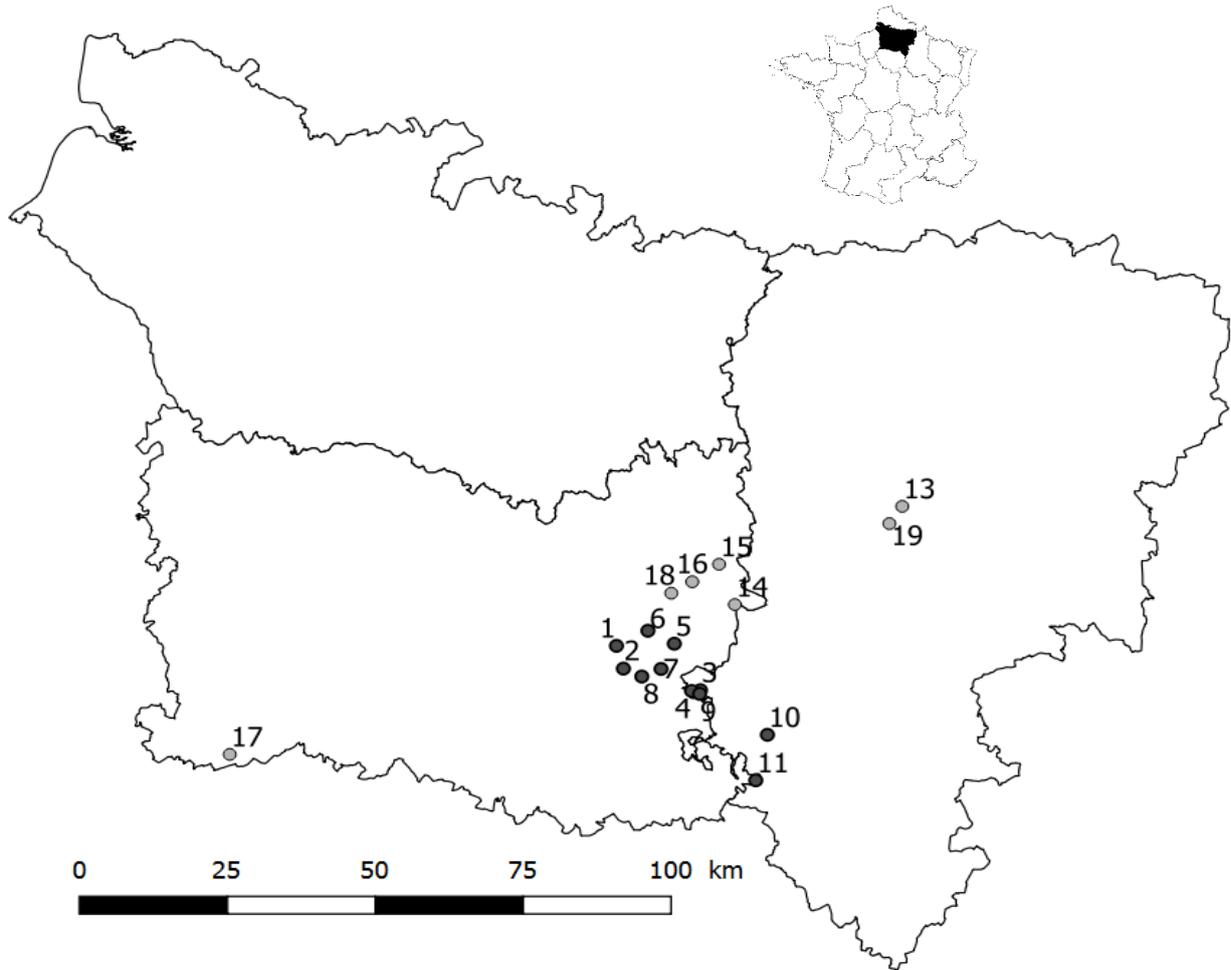


Figure 10: Map of the 18 colonies monitored in Picardy. Black dots correspond to roosts which have known forest management around them.

Capture-recapture data and population counts

Individual capture-recapture data were obtained by extracting DNA from bat droppings and genotyping them (the complete procedure is described in Zarzoso-Lacoste et al. 2017). We calibrated our sampling effort by means of simulations that mimicked the entire experimental procedure, from sampling to CMR analyses (data not shown). Accordingly, the number of samples for which we extracted DNA varied between years and colonies: we collected twice the colony size before and after parturition during the first year (2013), and once the colony size for all subsequent sampling sessions. These data allowed us to construct a capture-mark-recapture (CMR) dataset made of 3832 individuals (distinct genotypes correctly genotyped on at least 7 of the 9 loci), including 2693 females and spread over 18 colonies and 8 sampling occasions. One occasion per year correspond to the sampling done before parturition (hereafter called "pre-reproduction occasions") and the other occasions correspond to the samples

including the juveniles of the year (hereafter called "post-reproduction occasions"). Because females make the great majority of maternity colonies (Zarzo-Lacoste et al. 2017), only females were considered in this capture-recapture dataset. The number of adult females was estimated using a Bayesian estimator which uses a single session of non-invasive CMR data (Petit and Valiere 2006; Puechmaille and Petit 2007). Data from the pre-reproduction sampling occasions were used for this estimate, because they are supposedly less prone to capture heterogeneity (Zarzo-Lacoste et al. 2017). The number of juvenile females was estimated by dividing by two the number of juveniles counted in the sampling sites, since the sex-ratio is balanced in *R. hipposideros* juveniles (Gaisler 1966).

Parentage assignment.

In order to identify mothers and juveniles from genetic data, parentage was assigned using the software Colony 2 with a full-pedigree likelihood method (Jones & Wang 2010). Parentage assignment was performed independently for each year. Individuals seen during the pre-reproduction occasion or already seen in previous years were adults, and thus considered as potential parents. The others were potential juveniles. The full parentage assignment method is described in Zarzo-Lacoste et al. (2017).

Environment characteristics

Following the results depicted in Jan et al. (in prep.), we characterized the environment prone to influence the population dynamics of *Rhinolophus hipposideros* by considering the landscape in a 500m radius around the colonies. Following the same protocol, six landscape classes inside these buffers were distinguished: broadleaved woodland, coniferous woodland, artificial area, freshwater, cropland, and open land (other than crops and artificial). The proportion of the area of three of these classes (artificial, coniferous woodland and freshwater) were extremely reduced if not absent for most colony, and exhibited a very low variance between colonies (sd < 0.1). We thus only considered the landscape class broadleaved woodland, cropland, and open land. Given the low number of colonies, we focused on the FRAGSTATS metrics (McGarigal and Marks, 1995) that have already exhibited interesting results for assessing the impact of landscape on *R. hipposideros* maternity colonies (Jan et al. in prep.): the proportion (%LAND) of the landscape occupied by each class and their Mean Shape Index (MSI). Landscape data acquisition is fully described in Jan et al. (in prep.).

Eleven out of the 18 colonies were located near or in a forest managed by the National Forest Office (ONF). Data about forest characteristics and management around those colonies (500 meters radius) were spatially joined to the attributes of the land cover map features. These data are the proportion of even-aged forest and the tree diameter, known to impact the abundance of bats or other mammals (Ecke et al. 2002; Russo et al. 2010), and the tree diversity (Shannon index), that can impact insect abundance (Sobek et al. 2009).

Simulations

To test the reliability of population dynamics models that include genetic data in assessing vital rate estimates, we simulated 170 colonies made of 100 females and tested three different models: a model based on CMR data only, a model including CMR and parentage assignment data, and a model also integrating population size estimates. Females *Rhinolophus hipposideros* are known to be highly philopatric (Dool et al. 2016), and indeed a very small proportion of females were detected in different colonies (0.3% if we exclude movements between Pic3 and Pic9; see Discussion). We thus considered in our simulation and models closed populations, and focused on the estimation of survival and fecundity. Fecundity is here defined as the ratio of juveniles (both sexes) on adult females. Bat survival highly differs between juveniles (yearling) and adults (Rossiter et al. 2001; Sendor and Simon 2003), and we distinguished estimates for adults and juveniles. The life history of each individual, as well as the appearance of new ones (juveniles) were simulated for four years. The birth of male juveniles was also simulated for parentage assignment purpose, and they were then excluded from the dataset used in CMR models. Based on previous knowledge on *Rhinolophus hipposideros* and related species (Rossiter et al. 2001; Sendor and Simon 2003; Petit et al. 2014), we set adult survival at 0.85, juvenile survival at 0.4, and fecundity at 0.5 in our simulated populations. CMR data were then simulated to mimic our sampling procedure (8 occasions – juveniles captured only on post-reproduction occasions), based on what we know from the detection probability in maternity colonies (Zarzoso-lacoste et al. 2017). Detection probability were set between 0.5 and 0.6 for pre-reproduction occasions, between 0.8 and 0.9 for mothers, between 0.45 and 0.55 for non-mothers on post-reproduction occasion, and between 0.3 and 0.4 for juveniles. Population size estimates were simulated including observation error with a Poisson distribution, using the true population size as lambda. Parentage assignment was simulated by considering that at least 90% of the mother and juveniles were assigned, but assignment was conditioned upon the detection of both juvenile and mother.

Model building

In order to estimate the vital rates in the 18 colonies sampled, we constructed an integrated population model including data from non-invasive CMR, parentage assignment, and the number of adult and juvenile females. Because our final aim was to understand the impact of the environment near the colonies on those vital rates, we focused on variability between colonies and considered that those rates differ between colonies but are constant over time. To assess the reliability of our integrated population model, we progressively constructed three models: A multi-events model only based on CMR data, a multi-events model including information from parentage assignment, and an integrated population model that included data about the number of adult and juvenile females. We then ran all three models on our simulated datasets, and the reliability of the different models was assessed by extracting the median from each estimation of adult survival, juvenile survival, and fecundity, and by computing the relative bias, the standard error (precision) and the mean-square error (MSE – accuracy), following Abadi et al. (2013).

CMR only (CMRo)

This model is based on individual capture-recapture data only. It estimates survival rates (the probability to survive and to not emigrate permanently from the population) for each population. Intra-annual survival (between pre-reproduction and post-reproduction sampling occasions) was not considered, because we do not expect adult mortality to occur at significant rates during the few days between the two sampling sessions. We considered two states: Adult and Juvenile. Every individual seen during an pre-reproduction occasion was an Adult, and Juveniles can only be individuals that are seen for the first time during an post-reproduction occasion. However, such individuals could also be an Adult that was not detected in previous occasion. We thus introduced state uncertainty in our estimation of survival between post-reproduction and pre-reproduction occasion by distinguishing two processes: the hidden state process (transition from one state to another at each new occasion), and the observation process (observation made given the state of individuals at each occasion), making this model a multi-events one (Pradel 2005). We considered two observations: "Possible Juveniles", which correspond to individuals detected for the first time during an post-reproduction occasion, and "Adults". The observation process followed a multinomial distribution with cells that were function of the detection probability (p) and the proportion of "late adults" only detected after the births (IA). The state process also followed a multinomial distribution with cells that were

function of juvenile survival (ϕ_j – the probability for a Juvenile to survive and to become an Adult) and adult survival (ϕ_a – the probability for an Adult to survive). Survival rates and the proportion of late adults were supposedly constant in time, but detection probability was considered as occasion-specific, to fit the varying sampling effort in our protocol. Appendix D illustrate the state and observation process of this model, as well as the initial state matrix, the transition matrix and the detection matrix containing the parameters of the multinomial distributions. The likelihood of this model is $L_{CMRO} = (m|\phi_a, \phi_j, p, lA)$

CMR including parentage assignment information (CMRpa)

Information from parentage assignment can be added to our model. In this model, all individuals seen on pre-reproduction occasions are still considered as Adults (with their own capture probability - p_A), but three states are now possible for post-reproduction occasions: Mother, Non-mother and Juvenile. The state process still follows a multinomial distribution with cells that are function of ϕ_a and ϕ_j for the state transition from post-reproduction to pre-reproduction occasions, because we considered that the survival probability was the same for mothers and non-mothers. Cells considering the transition from Adults to Mothers or Non-mothers are function of the fecundity (F). We directly included the results of parentage assignment in the CMR data, by adding the observations "assigned as mother" and "assigned as juvenile" in the observation process. The parentage assignment protocol ("Parentage assignment" section) implies that an individual can only be assigned as a mother if it was previously seen, and assigned as a juvenile if it is its first detection. Parentage assignments taught us that detection probabilities differ between occasion and states, with mothers having a higher detection probability than other females (Zarzoso-Lacoste et al. 2017). The multinomial distribution of the observation process are thus function of the Adult, Mother and Non-mother detection probabilities (respectively p_A , p_M , and p_N with $p_M > p_N$) and parameters considering assignment error. Juveniles can only be seen during their first detection, and thus they were not associated with a detection probability. The proportions of Mothers and Juveniles that were correctly assigned (*Mass* and *Jass*, respectively) were set in the model without constraints: We expected a good parentage assignment between the potential mothers and potential juveniles from the Colony software, but accurate assignments require both the detection of the Mother before birth and the detection of the Juvenile, which will probably lower *Mass* and *Jass* (Zarzoso-Lacoste et al. 2017). The proportion of individuals wrongly assigned as Mother or Juvenile (called *NasM*, *MasJ* and *NasJ* depending of their states and observation – see supplementary materials) were supposedly low, and set as inferior to 5%. Matrixes containing the parameters of the

multinomial distributions are detailed in supplementary material. Appendix D provide a scheme illustrating the state and observation process of this model, as well as the initial state matrix, the transition matrix and the detection matrix containing the parameters of the multinomial distributions. The likelihood of this model is

$$L_{CMRPA} = (m|\phi_a, \phi_j, F, p_A, p_M, p_N, Mass, Jass, NasM, MasJ, NasJ)$$

Integrated Population Model (IPM)

The third model included the CMR and parentage assignment data in the same way as the second model, but also used population size estimates of adult females (Bayesian estimator) and juveniles females (Visual counts) in an integrated population model framework. Population dynamic parameters were linked to population size in a state-space model with the following Poisson distributions to account for demographic stochasticity.

$$N_{a,t+1} \sim Po(N_{a,t} * \phi_a + N_{j,t} * \phi_j)$$

$$N_{j,t} \sim Po(N_{a,t} * \frac{F}{2})$$

Counting error was included in the model by considering that the population count ($y_{x,t}$, where x represent either adults (a) or juveniles (j) and t correspond to the year) were related to the actual population size ($N_{x,t}$) with a Poisson distribution as $y_{x,t} \sim Po(N_{x,t})$. The likelihood of the state-space model is $L_{SS} = (y|N, \phi_a, \phi_j, F)$, which makes the joint likelihood used in the IPM : $L_{IPM} = (y, m|N, \phi_a, \phi_j, F, p_A, p_M, p_N, Mass, Jass, NasM, MasJ, NasJ)$. JAGS script of this model is provided in Appendix E.

Model computation

We calculated the posterior distribution of the population dynamic parameters (ϕ_a , ϕ_j and F) for those models with MCMC (Markov Chain Monte Carlo) computations implemented in the program JAGS (Plummer et al 2003). JAGS was executed from R (R Core Team 2017) with the package "jagsUI" (Kellner 2016). We ran 800 000 iterations and discarded the 700 000 first iteration as a burn-in, with a thinning interval of two. Convergence of the models was checked with the potential scale reduction factor (Brooks and Gelman 1998)

Growth rate and density dependence

Adult survival, juvenile survival and fecundity of the 18 colonies were estimated by extracting the median of the posteriors of integrated population models. IPM also provided the standard deviation of each estimate. Correlations between vital rates were tested with a spearman correlation test. Asymptotic growth rate was estimated with the package "popbio" (Stubben et al. 2007) using ϕ_a , ϕ_j and F , with the fecundity divided by two to only consider the ratio female juveniles to female adults. We then built a linear model including the growth rate as a variable response and the linear and quadratic terms of colony size as explanatory variable and tested for the significance of each term with a type II ANOVA. The sign and significance of these two terms would then suggest or not Allee effect and density dependence in our populations (Angulo et al. 2007).

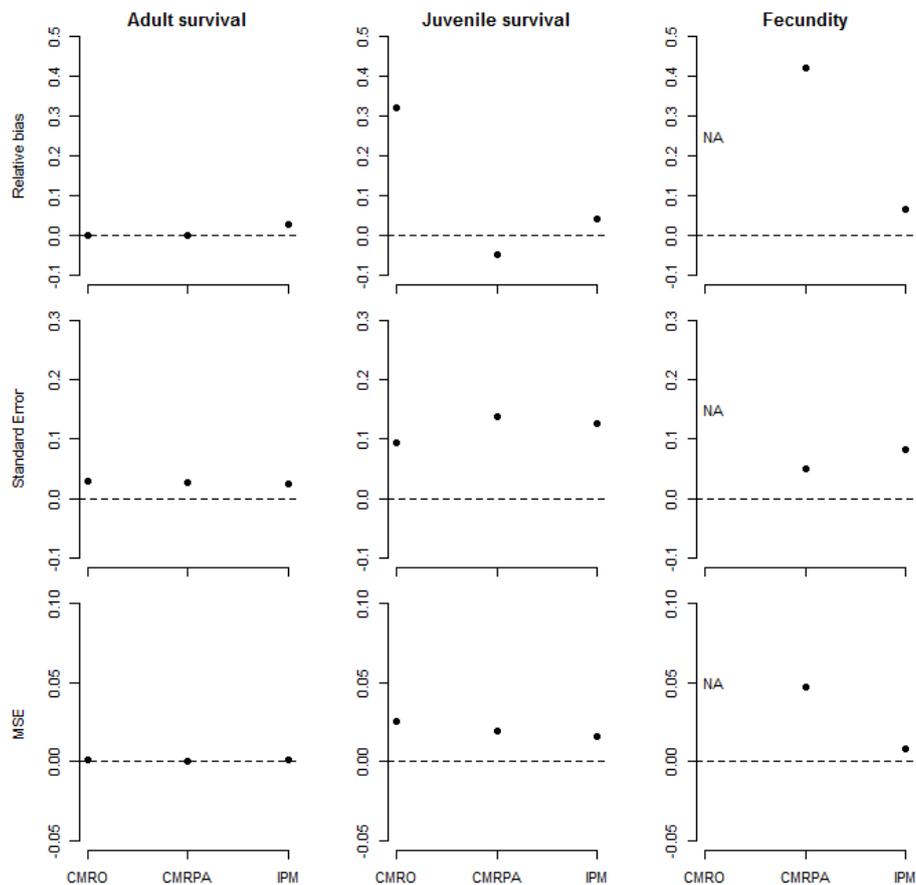
Impact of the environment on vital rates

We performed a two-time analysis to assess the impact of environment and colony size on the vital rates of sampled colonies. We firstly considered the whole dataset (18 colonies) and investigated the impact of landscape composition and population size. Vital rates were estimated more or less precisely (as quantified by the standard deviation σ) in the different colonies because of differences in sampling success of the different classes of individuals. We thus performed weighted least squares regressions (WLSR), by building linear models with vital rates as response variable, and considering that each data point was weighted by $\frac{1}{\sigma^2}$ (Ryan 1997). We computed six regressions for each vital rate, considering a specific landscape metric and the colony size as explanatory variables. The significance of each predictor was then tested with a type-II ANOVA.

We then considered the subset of 11 colonies which allowed us to investigate the effect of forest management variables. We built WLSR with vital rates as response variable and significant predictors previously detected as explanatory variables. We then included one of the forest management variables in those models and tested if it significantly decreased the BIC of the model ($\Delta\text{BIC} > 2$). In the case of such a decrease, we tested the significance of this variable with a type-II ANOVA.

Results

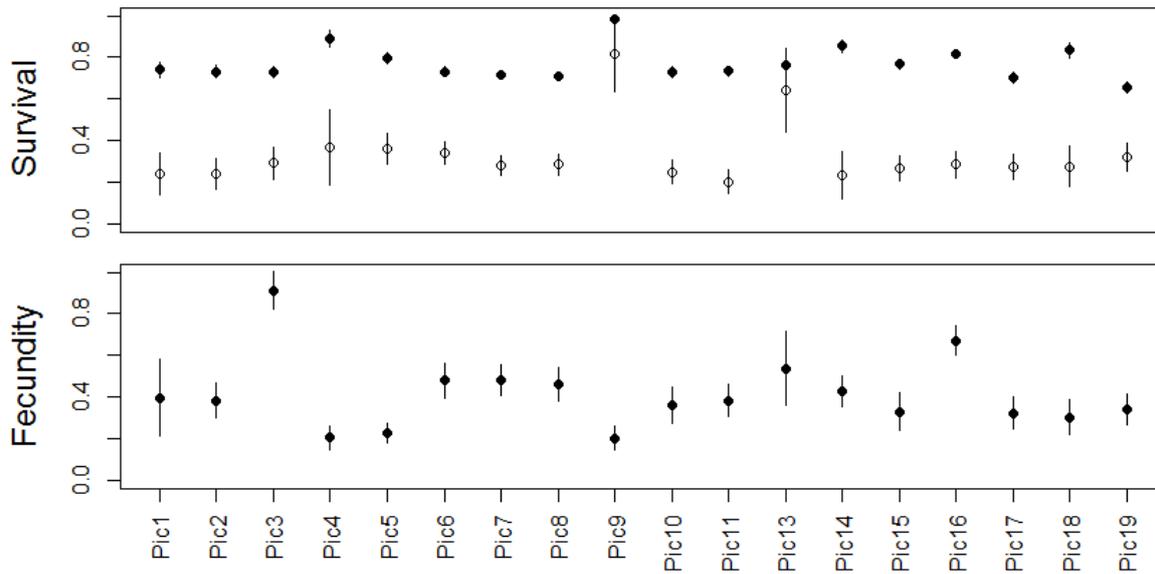
Simulations



[Figure 11: Relative bias, standard error \(precision\), and mean-square error \(MSE, accuracy\) of juvenile and adult survival probabilities, and of fecundity, estimated with three different models.](#)

Relative bias, standard error and MSE of each model are shown on Figure 11. Those three values are nearly equivalent between the three models when it comes to the estimation of adult survival. Regarding juvenile survival, estimations from the first model is more precise but highly biased when compared to the other two models. The CMRO model does not allow to estimate fecundity, and the second model provided highly biased fecundity estimation when compared to the IPM.

Empirical dataset



[Figure 12: Survival and Fecundity estimated by an integrated population model in 18 *R. hipposideros* maternity colonies. Black dots represent adult survival, and white dots juvenile survival. Errors bars represent standard deviations.](#)

Figure 12 presents the estimation of vital rates for our empirical dataset. Potential scale reduction factor were lower than 1.1 for every parameter in every colony, implying that MCMC chains converged (Brooks and Gelman 1998). Adult and juvenile survival were not properly distinguished in two colonies, Pic9 and Pic13. Models associated with those two colonies were also the models with the lowest detection probability, being the only ones with a mean adult probability detection below 0.25 (data not shown). Those results are discussed later and seems to show that our models were not able to grasp the dynamic of those two colonies, and were then excluded from subsequent analysis, reducing the dataset to 16 colonies including 10 with known forest management. Adult survival, juvenile survival and fecundity averaged over colonies were respectively equal to 0.76, 0.28 and 0.42. There was no correlation between vital rates (spearman correlation, $p > 0.30$ for every combination). Asymptotic growth rate varied from 0.72 to 0.93, with a mean value of 0.83. The linear model investigating the presence of Allee effect and density dependence exhibited a significant and positive impact of colony size ($p = 0.004$), and a marginally significant and negative impact of the squared colony size ($p = 0.053$). The relationship between growth rate and population size (including both linear and quadratic term) are shown in Figure 13.

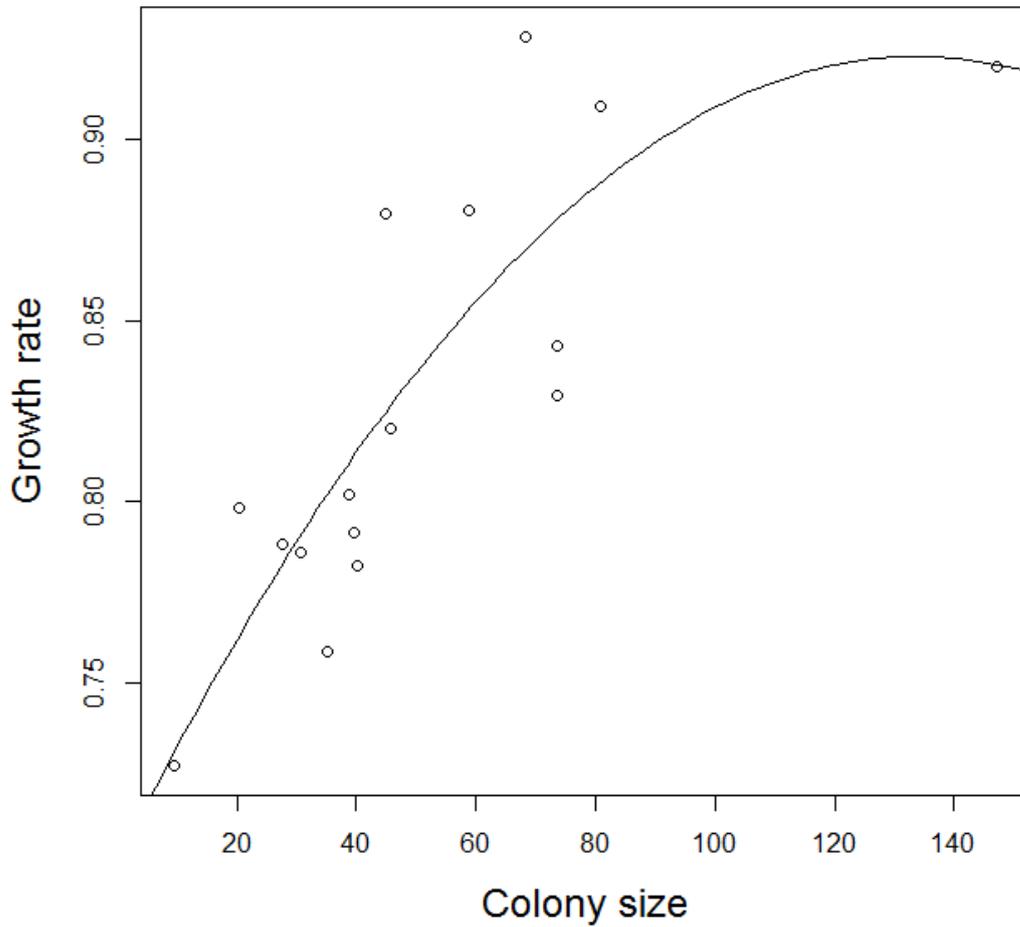


Figure 13: Regression of the asymptotic growth rate as a function of colony size, considering linear and quadratic terms.

There was a positive relationship between adult survival and colony size, a positive impact of broadleaved woodland proportion on juvenile survival, and a negative impact of the proportion of cropland on the same vital rate (Table 11).

Table 11: Effect of colony size and landscape metrics (LM) on vital rates assessed by type II-Anovas performed on weighted least squares regression. NS : non-significant predictor (p-value>0.05); + : positive significant predictor; - : negative significant predictor.

<u>Landscape metric tested</u>		<u>Adult Survival</u>		<u>Juvenile Survival</u>		<u>Fecundity</u>	
		<u>Colony size</u>	<u>LM</u>	<u>Colony size</u>	<u>LM</u>	<u>Colony size</u>	<u>LM</u>
<u>Broadleaved woodland</u>	<u>%LAND</u>	+	NS	NS	+	NS	NS
	<u>MSI</u>	+	NS	NS	NS	NS	NS
<u>Crop land</u>	<u>%LAND</u>	+	NS	NS	-	NS	NS
	<u>MSI</u>	+	NS	NS	NS	NS	NS
<u>Open land</u>	<u>%LAND</u>	+	NS	NS	NS	NS	NS
	<u>MSI</u>	+	NS	NS	NS	NS	NS

Crop land and broadleaved woodland proportion were negatively correlated, so we only included the predictor explaining the most variation of juvenile survival, crop land proportion, in WLSR investigating the contribution of forest management. Adding forest management variables never significantly decreased the BIC of WLSR explaining the variation of adult survival and fecundity (Table 12). Tree diameter is the only variable that significantly decreased the BIC of the WLSR explaining juvenile survival. ANOVA applied on the regression including tree diameter found a marginally significant impact of this parameter ($p = 0.066$).

Table 12: BIC and R² of weighted least squares regression (WLSR) testing the impact of forest management variables on adult survival (ϕ_a), juvenile survival (ϕ_j) and fecundity (F). Bold characters indicate BIC significantly lower than the null model ($\Delta\text{BIC}>2$).

<u>WLSR</u>	<u>BIC</u>	<u>R²</u>	<u>WLSR</u>	<u>BIC</u>	<u>R²</u>	<u>WLSR</u>	<u>BIC</u>	<u>R²</u>
$\phi_a \sim 1$	-30.96	0	$\phi_j \sim 1$	-26.66	0	F ~ 1	0.62	0
$\phi_a \sim$ Colony size	-32.11	0.29	$\phi_j \sim$ Crop land proportion	-28.41	0.33			
$\phi_a \sim$ Colony size + tree diameter	-30.72	0.35	$\phi_j \sim$ Crop land proportion + tree diameter	-31.28	0.60	F ~ tree diameter	0.01	0.25
$\phi_a \sim$ Colony size + tree diversity	-30.37	0.38	$\phi_j \sim$ Crop land proportion + tree diversity	-26.24	0.34	F ~ tree diversity	1.97	0.09
$\phi_a \sim$ Colony size + even aged forest	-31.91	0.42	$\phi_j \sim$ Crop land proportion + even aged forest	-27.86	0.44	F ~ even aged forest	2.87	0.01

Discussion

Benefit of non-invasive genetic for estimating vital rates in populations

Estimating vital rates in a species sensitive to handling and tagging may be extremely challenging. Non-invasive genetic has already proved useful to follow individual histories (Morin et al. 2016; Gervasi et al. 2017), but does not allow to know the stage or the reproductive status of individuals as classical tagging methods would. This is particularly problematic for species like *Rhinolophus hipposideros*, in which the survival rate of juveniles is supposed to be lower than the survival rate of adults, and in which females cannot be distinguished from males by visual inspection during regular censuses. Colony size estimation from non-invasive genetic data are not significantly different from those obtained from visual counts, which include some males even in maternity colonies, but non-invasive genetics offers the opportunity to reduce the bias of colony size estimates by considering only females (Zarzoso-Lacoste et al. 2017). Parentage assignment allowed us to infer the reproductive status and the age class of some individuals, with consequences on their detection probability and the estimation of vital rates. To assess the reliability of estimation of adult survival, juvenile survival and fecundity, we simulated 170 colonies, and considered bias, precision and accuracy of three population dynamic models. The first model (CMRo) provided reliable estimates of adult survival, but failed to correctly estimate juvenile survival, because CMR data were not sufficient to distinguish juveniles from adults. Moreover, this model did not allow inference about fecundity. The second model (CMRpa) highly reduced the bias around juvenile survival but comes with the price of a decrease in precision. Parentage assignment allowed the model to differentiate juveniles from adults, but the low detection probability of juveniles highly reduced the precision around the true value. Parentage assignment data was also not sufficient to estimate fecundity, which was highly biased. The IPM, which included the number of adults (estimated with single-session CMR method) and juvenile (derived from visual counts) females, provided estimates with low bias for all vital rates, especially considering the small sample size simulated (Schaub and Abadi 2011). Estimates of juvenile survival were however still rather imprecise, and should be considered with caution. Because the IPM provided unbiased estimates of all vital rates of interest, we chose this model to analyse our empirical dataset.

Vital rates and density-dependence

In our empirical dataset, our models failed to grasp the population structure and dynamics of two colonies: Pic9 and Pic13. This result is very interesting in the case of Pic9, which is located

in an open roost not far (700 meters) from the warmer roost of Pic3. 41 individuals were detected in both colonies, sometimes during the same year, and Pic9 was thus suspected to correspond to a satellite roost, i.e. a roost with a temperature that is different from the temperature in the main roost, and which is used by *R. hipposideros* to track temperature changes during the parturition period (Kayikcioglu and Zahn 2004). The assumption of closeness is inappropriate for a satellite roost, which would explain why we failed to model the vital rates of this colony. Failure of Pic 13 is more surprising, being a medium-sized colony with no physical characteristic that could explain it. It can be however noted that visual count of juveniles was only performed once in this roost, and thus the state-space part of the IPM probably performed poorly to estimate juvenile survival. Subsequent analyses were thus based on the 16 remaining colonies.

The average adult survival rate we estimated (0.76) is higher than the previous adult survival rates estimated for *R. hipposideros* (0.57, see Bezem et al. 1960), but is however in the range, if a bit low, of more recent studies on adult survival of insectivorous bat species (Sendor and Simon 2003; Schaub et al. 2007; Schorcht et al. 2009; Frick et al. 2010; Bailey et al. 2017). Juvenile survival (0.28 on average) was lower than what is commonly estimated for insectivorous bat species (between 0.45 and 0.55 - Sendor and Simon 2003; Schaub et al. 2007; Schorcht et al. 2009), but not exceptional (Frick et al. 2010). Fecundity (0.42 on average) was also lower than what is observed in other species but in the range of values previously obtained from *R. hipposideros* populations (e.g. 0.38 and 0.5 in Schofield (1996) and Petit et al. (2014), respectively). The resulting growth rate was 0.83, which is low if we consider that those populations are stable since a long time. We considered a short period of time (four years), and we can hypothesize that challenging environmental conditions during those years, such as bad weather, could partly explain the low values of vital rates we estimated (Frick et al. 2010; Jan et al. 2017). For example, 2015 summer has been especially dry, with the June precipitations (known to influence the colony size - Jan et al. 2017) during 2015 being the lowest ever recorded around the colony (Creil climatic station, 15 years of data – www.infoclimat.fr). It has already been documented that long term population dynamics of bat populations can be particularly sensitive to years with extreme climatic events (Fleischer et al. 2017). Our results suggest that detrimental dynamics can also be driven by more diffuse stressors.

We found a positive impact of colony size on adult survival. Density dependence in bats has already been documented, but with a negative impact of colony size, either on the growth rate (Froidevaux et al. 2017) or directly on juvenile survival (López-Roig and Serra-Cobo 2014).

Positive influence of colony size on fitness (called the Allee effect - Courchamp et al. 1999) in bat populations has already been hypothesized, because of social behaviour benefits linked to social thermoregulation or social foraging (Willis and Brigham 2007; Froidevaux et al. 2017). To our knowledge, this study is the first to demonstrate this effect in a bat species. The relationship that includes linear and quadratic term (Figure 13) suggests a threshold around a population size of 100 individual, but this results must be considered carefully, because our dataset only contained one colony larger than 100. Our results suggest that adult survival was the vital rate that drives this relationship, which would be expected in a context of social thermoregulation or foraging. Population prone to Allee effect can undergo fast extinctions, because declining populations would be more and more weakened with time (Courchamp et al. 2008). This effect could partly explain the speed and strength of the decline of *Rhinolophus hipposideros* during the 20th century (Bontadina et al. 2000). We are aware that this effect was detected by considering a small number of colonies and without considering temporal variations in vital rates. In addition, extrinsic factors not considered in this study could affect colony size and adult survival in the same way. We cannot exclude this possibility given the fact that adult survival is the vital rate with the greatest influence on growth rate (elasticity analysis – data not shown). Nevertheless, these results have deep implications for our understanding of bat population dynamics and the conservation of the lesser horseshoe bat, and density dependence in bats thus requires further investigations.

Extrinsic factors affecting the vital rates

Previous work based on the colony size, fecundity and demographic trend observed in lesser horseshoe bat maternity colonies (Jan et al. in prep.) exhibited a positive impact of the proportion of broadleaved woodland and the MSI of water bodies on colony size. It also shown a negative impact of the proportion of crops and artificial land and the MSI of open land on *R. hipposideros* population dynamic, as well as a positive effect of tree diameter on colony size. Unfortunately, the landscape around maternity colonies in our Picardy dataset was not variable enough to investigate the effect of artificial land, coniferous woodland and water bodies. By investigating the remaining variables, we confirmed results previously detected on the proportion of broadleaved woodland and crop land and tree diameter. We however did not observe any impact of the MSI of open land. The only vital rate affected by environment was the juvenile survival. The reliability of these results is questionable, given the fact that one of the p-value is above 0.05 (tree diameter, $p=0.066$), and that none of the p-values is below 0.008 (data not shown), which would be the appropriate threshold with a strict Bonferonni correction.

We are thus aware that without any a priori about the impact of landscape and forest management, these results would be likely to be false positives (Forstmeier et al. 2016). However, these results are extremely consistent with previous findings on *R. hipposideros* and give further insights that deserve discussion.

The negative impact of crop land on the demographic trend of *Rhinolophus hipposideros* populations previously detected was associated with the low prey availability of arable land but also with the impact of agrochemicals on individual survival (Shore and Rattner 2001). It was also hypothesized that this landscape particularly affects juveniles in *R. hipposideros* populations. Bat juveniles strongly accumulate organochlorine pesticides (Streit, Winter, and Nagel 1995; Luftl et al. 2005) through lactation and even before their birth through the placenta. Their survival is also more affected by pesticide contamination than adult survival (Frick, Rainey, and Pierson 2007). Inexperienced juveniles do not restrain themselves to favourable habitat for foraging like reproductive females do (Bontadina, Schofield, and Naef-Daenzer 2002), and are potentially more exposed to low prey availability and agrochemicals during foraging. Our results, showing a direct effect of crop land proportion on juvenile survival, seems thus to support this hypothesis. Broadleaved woodland has already been documented as being the best foraging habitat for *R. hipposideros* with telemetry data (Bontadina et al. 2002), presence/absence data (Tournant et al. 2013), and colony size (Jan et al. in prep.), and tree diameter has already exhibited, on the very same dataset, a positive impact on maternity colony size (Jan et al. 2017). This last point was explained by the higher diversity of vegetative structures and microhabitats offered by larger and older trees, which can then host a higher diversity of preys (Holzhaider et al. 2002; Smith and Racey 2008). In the same logic than for crop land, having a sufficient proportion of broadleaved woodland with large trees around the colony from where they are going to fly for the first time might be particularly crucial for inexperienced individuals like juveniles, because it will increase the probability for them to forage in these environments with the highest prey availability.

Conclusion

Using non-invasive genetic samples collected in 18 *R. hipposideros* maternity colonies during four years in Picardy, we combined various analyses (CMR modelling, parentage assignment, population size estimation), to build an integrated population model that provided reliable estimates of adult survival, juvenile survival, and fecundity for 16 of these colonies. Variations between colonies gave us the opportunity to investigate the effect of population size and

environmental variables on *R. hipposideros* vital rates. Our results suggest an Allee effect in *R. hipposideros* populations, at least for colonies with less than 100 individuals. Further investigations with a broader range of population sizes are required to fully understand density-dependence in this species. Environmental effects on juvenile survival were consistent with previous work on the impact of environment on colony size and demographic trend, with this vital rate being positively impacted by a large proportion of broadleaved woodland and forest composed of large trees, effects that may be linked to good prey availability, and negatively impacted by the proportion of crop land, an environment with low prey availability and affecting bat physiology through pesticide contamination. These results have implications for the conservation of the lesser horseshoe bat, but also show how non-invasive genetic data can provide various information that can be used to enhance our modelling of population structure and dynamic. Integrated population modelling seems particularly appropriate to benefit from this variety of information, and we encourage the development of models including genetic data for future studies on population dynamics, especially for species too sensitive for classical CMR methodology.

*Partie 3 – Diversité génétique, connectivité et
goulots d'étranglement*

**DISENTANGLING HISTORICAL POPULATION SIZE AND
CONNECTIVITY EFFECTS ON GENETIC DIVERSITY**

Contexte et objectifs

Le maintien d'une diversité génétique suffisante est essentiel pour éviter l'effondrement des populations à long terme (Reed and Frankham 2003). Après le déclin du siècle dernier, de nombreuses populations de Petit rhinolophe dans le nord ou le centre de l'Europe ont vu leurs effectifs diminuer drastiquement, et certaines populations se sont retrouvées particulièrement isolées (Bontadina et al. 2000). La réduction de la taille d'une population et son isolement sont deux phénomènes connus pour provoquer une perte de diversité génétique. Les populations situées en bordure nord de l'aire de distribution du Petit rhinolophe sont donc susceptibles d'avoir une diversité génétique réduite, mettant en question leur persistance à long terme. De plus, les changements climatiques annoncés pour les prochaines décennies vont probablement repousser les populations de Petit rhinolophe vers le nord (Rebelo et al. 2010), et les populations en limite d'aire de distribution seront alors les sources d'une recolonisation du milieu, un phénomène qui a déjà partiellement commencé dans certaines régions allemandes (Biedermann et al. 2012). La question de la diversité génétique de ces populations devient dès lors encore plus cruciale, puisque les allèles présents dans les populations colonisatrices seront principalement issus des populations actuellement en limite d'aire de distribution. Nous nous sommes donc intéressés au niveau actuel de la diversité génétique de ces populations, avant d'étudier si les fluctuations de tailles des populations ou de leur isolement pouvaient expliquer ces différences de diversité.

Pour accomplir cet objectif, nous avons échantillonné le guano de 42 colonies de maternité situées le long de la limite nord de l'aire de distribution du Petit rhinolophe, en France, Belgique et Allemagne, incluant trois des colonies situées en Picardie et déjà présentées dans ce mémoire. Ces échantillons ont permis de connaître leur diversité génétique, de chercher la trace de goulots d'étranglement dans ces populations mais aussi déterminer si des flux de gènes existaient entre ces colonies, afin d'estimer la dispersion efficace du Petit rhinolophe dans cette région.

Méthodologie

La récolte de guano a été effectuée pendant l'été 2015 avant la période de mise-bas, avec l'aide de différents organismes naturalistes en France et en Belgique (Bretagne Vivante, le Groupe Mammologique Normand, le parc régional naturel du Vexin, le conservatoire des espaces naturels de Champagne-Ardenne, la CPEPESC de Lorraine et Natagora) et celle d'une doctorante allemande, Lisa Lehnen, pour les colonies Allemandes. L'extraction d'ADN et le

génotypage s'est fait de manière analogue à celui effectué pour la deuxième partie de cette thèse. Nous avons ensuite cherché si les fréquences alléliques des populations présentaient des traces d'ancien goulot d'étranglements à l'aide du logiciel MSVAR. Les traces détectées par ce genre de méthodes peuvent parfois se confondre avec l'impact d'un isolement particulièrement fort des populations (Chikhi et al. 2010). Afin de connaître la cause réelle des goulots d'étranglement détecté dans nos populations, nous avons effectué une série de simulations sur l'impact des chutes démographiques brutale ("vrais" goulot d'étranglement) et de l'isolement des populations sur la relation entre la distance génétique et la distance géographique entre les populations. Ainsi, observer cette relation au sein de jeu de donnée empirique et comparer ces résultats aux simulations produites nous a permis de distinguer si les goulots d'étranglements observés dans nos populations étaient majoritairement dus à des chutes démographiques ou à un fort isolement génétique.

La relation distance génétique-distance géographique au sein des colonies permet également de tester si les différences de fréquences alléliques entre les colonies s'expliquent par la distance réelle entre les colonies (Rousset 1997). On parle alors d'isolement par la distance, et le patron révélé par cette analyse nous a ensuite permis ensuite d'estimer la distance efficace de dispersion des individus, c'est-à-dire la distance de dispersion attendue entre deux générations (Rousset 1997), qui a servi de base pour estimer la distance de dispersion maximale à l'aide d'un kernel de dispersion (Nathan et al. 2012).

A l'aide de ces informations, nous avons enfin testé l'impact du degré de connectivité des colonies et des goulots d'étranglements sur la diversité génétique de ces colonies. La connectivité des colonies a été estimée avec trois métriques différentes : la distance à la plus proche colonie, le nombre de colonies et le nombre d'individus autour des colonies échantillonnées. Les deux dernières mesures nécessitent de prendre en compte un rayon bien précis, et nous avons considérés deux rayons possibles : 10 km, qui est l'ordre de grandeur des distances parcourues lors de la recherche de nourriture (Downs et al. 2016b), et la distance de dispersion maximale estimée plus tôt.

Disentangling historical population size and connectivity effects on genetic diversity

Authors : Pierre-Loup Jan^{1,*}, Lisa Lehnen^{2,*}, Anne-Laure Besnard¹, Diane Zarzoso-Lacoste^{1,3}, Pierrette Nyssen⁴, Eric J. Petit^{1,*}, Sébastien J. Puechmaille^{2,*}

* Alphabetical order

¹ UMR 985 ESE, INRA, Agrocampus Ouest, 35042 Rennes cedex, France

² Zoological Institute and Museum, Greifswald University, 17489 Greifswald, Germany

³ UMR 8079 ESE, Université Paris-Sud/CNRS/AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay Cedex, France

⁴ Natagora, 5000 Namur, Belgique

Introduction

Genetic diversity, as a prerequisite for long-term population persistence and evolution, is one of the cornerstones of conservation biology (Frankel and Soulé 1981; Avise 2008). Reduced heterozygosity, a concomitant effect of inbreeding (Falconer and Mackay 1996), diminishes population fitness via numerous processes like the accumulation of deleterious alleles (Saccheri et al. 1998; O'Grady et al. 2006; Vandewoestijne et al. 2008) and loss of phenotypic variation (Neaves et al. 2015), which ultimately may result in extinction (Frankham 2005) under stressful conditions (Armbruster and Reed 2005), but even in benign environments (Markert et al. 2010). Furthermore, standing genetic variation is the basis for adaptive potential (Lande 1988; Reed and Frankham 2003). Adaptive or evolutionary potential is gaining in importance with proceeding global change as it is crucial for coping with degraded or changing environments (Markert et al. 2010; Perrier et al. 2017), provides resilience against extinction via intra-specific trait variation (González-Suárez and Revilla 2013), and facilitates ecosystem recovery after extreme climatic events (Reusch et al. 2005). The genetic diversity of resident populations or species increases resistance towards invasive ones (Scheepens et al. 2017). The genetic diversity of the population of origin can also have a great impact on the successful colonization of novel habitats, which is crucial for species responding to climate change via range shift (Forsman 2014; Szűcs et al. 2017). Hence, different hierarchical ecological levels, from populations to whole ecosystems, can be considerably affected by genetic diversity (Hughes et al. 2008). Reduced genetic variation is therefore usually seen as an alarming indicator of increased extinction risk (Gilpin and Soule 1986).

While reduced levels of genetic diversity can be observed in many threatened populations or taxa (Spielman et al. 2004), the underlying processes are often obscure. However, mechanisms contributing to and consequences arising from reduced genetic diversity may strongly differ between populations or species, with potentially contrasting implications for conservation management (Jaquiéry et al. 2009). An efficient use of resources invested into conservation efforts requires targeting the actual source of the problem. Identifying the dominating drivers behind reduced levels of genetic diversity should therefore be prioritised in conservation and a framework to disentangle the potential causes is urgently needed.

The first step towards establishing such a framework is to target the main processes influencing within species genetic diversity. Alongside mutation rate and linked selection, effective population size (N_e) is the main parameter determining genetic diversity. N_e is affected by the

historic (e.g. bottlenecks) and contemporary local abundance of the target population and the extent of exchange with neighbouring populations, i.e. gene flow (Ellegren and Galtier 2016). Demographic bottlenecks diminish genetic diversity via a reduction in population size leading to increased genetic drift (Frankel and Soulé 1981; Lande 1988). Emigration counteracts drift by the introduction of new alleles via gene flow (Palstra and Ruzzante 2008), hence increasing intra-population genetic variation (Allendorf and Luikart 2009). Those two factors are important for most populations or species of conservation concern (e.g. (Miller and Waits 2003)) and therefore constitute a focal point of our study.

While the negative consequences of reduced genetic variation are usually the same in small connected populations (e.g. (Lynch et al. 1995; Frankham 1996; Reed 2005; Willi et al. 2006)) or isolated populations (e.g. (Westemeier et al. 1998; Whitlock 2002)), the underlying mechanisms are different and require distinct conservation measures. Telling them apart however is usually not trivial, for several reasons. For example, a population that becomes genetically depauperate due to disconnection may shrink in size as a secondary effect due to the populations' reduced fitness (Westemeier et al. 1998). Measures aimed at improving habitat quality will not have a great benefit in such a case, while reinstalling gene flow can result in genetic rescue (Frankham 2015). Vice versa, the negative impact of past demographic bottlenecks may be masked by large present day population sizes, if populations have recovered in size, but not genetic diversity, when actually such an extinction debt (Tilman et al. 1994) justifies special conservation concern (Kuussaari et al. 2009; Taylor et al. 2017). Furthermore, distinguishing between the effects of reduction of population size and connectivity can be challenging due to the negative impact of fragmentation on population size (Ewers and Didham 2006) and because they are linked via demographic connectivity: exchanges between populations will automatically decrease with decreasing population size if dispersal is density-dependent, whereas a high net influx of migrants can substantially increase population size and stabilize populations in the source-sink dynamics of a metapopulation network (Kawecki 2008; Lowe and Allendorf 2010). Consequently, both bottlenecks and connectivity should be explicitly and separately tested as potential drivers of reduced genetic variation.

Yet, while Bayesian approaches allow to infer historic bottlenecks from populations' genetic signatures (Cornuet and Luikart 1996), the disruption of gene flow and the concomitant disequilibrium in allele frequencies can cause genetic signatures akin to those created by a demographic crash (Broquet et al. 2010). Bottlenecks detected via commonly applied approaches based on allele frequencies therefore may be caused by (changes in) population

structure rather than a drop in population size (Chikhi et al. 2010; Broquet et al. 2010) and need to be interpreted with care if extensive information on connectivity over the whole time period and all populations of interest is unavailable, which is usually the case. However, connectivity effects can be investigated via isolation by distance (IBD) patterns (Rousset 1997; Broquet et al. 2006), a valuable source of information that to our knowledge has gone unexplored so far regarding the issue of bottleneck identification.

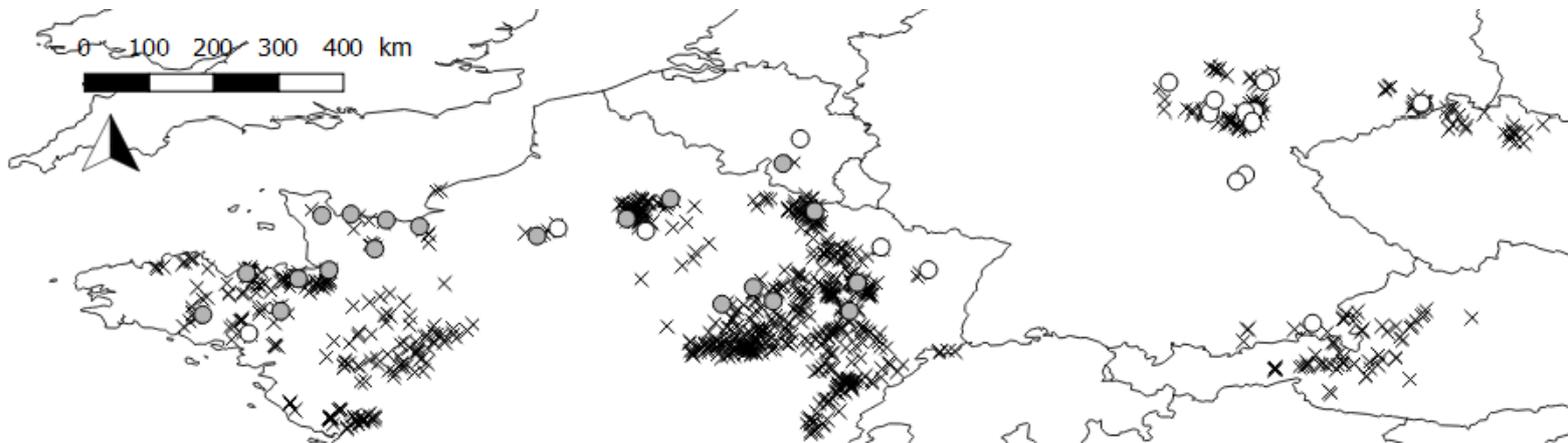
We used the lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* as an example, as both demographic crashes and connectivity are prone to play a role in this species, influencing genetic diversity to a varying extent in different populations: It underwent pronounced regional declines in population size during the last century (Bontadina et al. 2000) and it is highly sensitive to reductions in connectivity (Tournant et al. 2013; Reiter et al. 2013; Dool et al. 2016). Correspondingly, the lesser horseshoe bat is of high conservation concern due to the decline and isolation of populations in many parts of its northern range (Bontadina et al. 2000; Dietz et al. 2016; Dool et al. 2016; Andrews et al. 2017) and due to expected climate change induced habitat loss in the southern distribution area. It is among the species which have been predicted to respond to global warming via range shift (Rebelo et al. 2010) and therefore strongly depend on adaptive potential. As genetic diversity levels differ across the range of *Rhinolophus hipposideros* (Dool et al. 2013), but also regionally (Dool et al. 2016), extensive genetic sampling covering a large and coherent part of the species' northern range was applied to control for potential (large-scale) geographical patterns.

In this study, we introduce a novel approach that allows to distinguish between confounding effects of demographic bottlenecks and connectivity on genetic variability. Bottlenecks induced by demographic crashes will enhance the IBD signal, because gene flow still prevails, but fewer migrants are exchanged between populations; whereas disconnection should result in a decreased IBD signal due to the complete disruption of gene flow and prevailing genetic drift. Using simulated datasets, we demonstrate that patterns of IBD greatly differ between demographic versus connectivity induced bottlenecks. We applied this new approach to investigate whether demographic or connectivity induced bottlenecks are responsible for variations in genetic diversity across the Northern range of an endangered bat species, *Rhinolophus hipposideros*.

Material and Methods

Empirical data set

Bat faeces were collected from 42 *R. hipposideros* maternity roost colonies along the northern distribution edge (Figure 14), following the sampling protocol described in (Zarzoso-Lacoste et al. 2017). DNA was extracted from 40 samples per colony to allow the distinction of a sufficient number of individuals at reasonable cost, with the exception of five colonies where synergism with other projects allowed us to process more samples, and two colonies where populations size estimates based on visual counts suggested that fewer samples would suffice to distinguish all individuals of the population (see Table S. 4). Extraction of DNA as well as the following steps of genotyping using eight neutral microsatellite loci, bioinformatic pipeline processing, and genotyping quality assessment were identical to those described in (Zarzoso-Lacoste et al. 2017). Departure from Hardy-Weinberg proportions was assessed at the population level via F_{IS} and tested with the corresponding permutation test using the software GENETIX (Belkhir et al. 1996). Genetic diversity (expected heterozygosity) was calculated in R version 3.3.1 (R Core Team 2016) via the adegenet package (Jombart 2008).



[Figure 14: Locations of sampled and counted *Rhinolophus hipposideros* colonies along the northern limit of its distribution range. Dots represent sampled populations, with MSVAR analysis indicating strong support for a bottleneck \(white dots\) or no bottleneck \(grey dots\). Each cross corresponds to a lesser horseshoe bat maternity colony reported by a local nature conservation NGO in an 80 km radius around sampled colonies.](#)

Detection of genetic bottlenecks

We searched for bottlenecks in our empirical data set with the full-likelihood Bayesian method implemented in MSVAR v.1.3 (Beaumont 1999; Storz and Beaumont 2002). Three

independent chains with different priors were run for each colony (parameters provided in Appendix F). Convergence was tested with Gelman & Rubin's convergence diagnostic (Brooks and Gelman 1998). Since without prior knowledge about mutation rates and meta-population structure, MSVAR is prone to detect spurious bottleneck signals (Chikhi et al. 2010), we chose a more conservative threshold than usual (Girod et al. 2011) and only considered bottlenecks with according Bayes factors (BF) higher than 10, which corresponds to “strong support” (Jeffreys 2000). We focused on the mere detection of signals for reductions in effective population size without explicitly discussing the associated demographic parameter estimates due to the wide credibility intervals provided by MSVAR (Girod et al. 2011).

Estimation of connectivity, isolation by distance, effective density and dispersal distance

We employed three commonly used connectivity metrics in order to assess the impact of connectivity on genetic diversity, assuming homogenous gene flow across the landscape without a major impact of landscape features or barriers. All connectivity measures were computed for each colony as: a) the distance to the nearest neighbouring colony; b) the number of colonies within a certain buffer zone around the focal colony (more details below); c) the number of individuals in a certain buffer around the focal colony (Moilanen and Nieminen 2002; Amorim and De Marco 2011). The number of colonies or individuals within those buffer zones was quantified with the help of local nature conservation NGOs in France, Belgium, Germany, Austria and Czech Republic who provided locations and census sizes of maternity colonies. Only those hosting a minimum of five females and with evidence for reproduction were considered.

As buffer-based connectivity estimates are sensitive to the radius considered (Moilanen and Nieminen 2002), we tested two radii, 10 and 80 km, which represent movement distances typical for different biological contexts. A 10 km buffer was used to assess connectivity on a spatial scale accounting for distances covered during foraging (Reiter 2004b; Downs et al. 2016b). We selected a radius suited for connectivity on a spatial scale corresponding to long distance dispersal by constructing the negative exponential dispersal kernel (Nathan et al. 2012) based on the effective dispersal distance.

For this purpose, we first quantified the linear relationship between genetic distance $F_{ST}/(1-F_{ST})$ and the logarithm of Euclidean geographic distance (Rousset 1997), i.e. isolation-by-distance (IBD), and tested its significance with a Mantel test using 10000 permutations. Bottlenecked and non-bottlenecked colonies were analysed separately to obtain the ratio of the slope of the

IBD regression between bottlenecked populations over the slope of the IBD regression between non-bottlenecked populations, in order to determine the major process behind the bottleneck signal (see Simulations). Subsequent analysis were only based on the IBD pattern of non-bottlenecked colonies, to avoid introducing a bias due to demographic history. Next, population density was calculated for each area monitored by a certain NGO by dividing the population size of the entire region by the geographic area covered in the census assessment. Because visual counts of maternity colonies mainly include females (Zarzoso-Lacoste et al. 2017) and sex ratios are usually balanced in this species (Gaisler 1966), we assumed population size to be twice the number of individuals counted. Population density was divided by 10 to obtain the effective density, D (Frankham 2007). Only regions containing at least one genetically sampled colony were included in the density estimation.

The resulting IBD and density estimates were used to calculate the effective dispersal distance, σ , using the equation provided by (Rousset 1997):

$$\sigma^2 = \frac{1}{b4D\pi}$$

where b is the slope of the linear isolation-by-distance-relationship and D is the effective population density. Based on the resulting dispersal kernel (Figure S. 2, see Results for estimates of b and D), we deemed an 80 km radius largely sufficient to estimate connectivity. This is well in accordance with frequencies of movement distance intervals reported by (Fairon 1967), where the large majority of distances covered did not exceed 20 km and the maximum dispersal distance observed was 81 km. We used the R version 3.3.1 (R Core Team 2016) packages hierfstat (Goudet 2005) and adegenet (Jombart 2008) to compute pairwise F_{ST} , IBD regressions and mantel test.

Demographic declines, connectivity, and genetic diversity

The impact of bottlenecks and connectivity on genetic diversity was tested with five linear models considering the different connectivity metrics (distance to the nearest neighbour colony, number of colonies within a 10 km and 80 km neighbourhood and the number of individuals within a 10 km and 80 km neighbourhood). We applied a type-II analysis of variance (ANOVA) to test for the significance of bottleneck and connectivity and calculated the adjusted r^2 of the linear models to assess the proportion of variance explained by models. For the connectivity measurement that resulted in the model with the lowest AIC, we performed a Spearman correlation test between population connectivity and genetic diversity, differentiating

bottlenecked and non-bottlenecked colonies, in order to quantify how much variability of genetic diversity can be explained by connectivity for each group.

Simulations

In order to test our hypotheses regarding how IBD patterns are affected by bottlenecks caused by reductions in populations size or a cessation of gene flow, respectively, we simulated 81 populations evolving in a strict stepping stone model of gene flow using the coalescent as implemented in fastsimcoal2 (Excoffier et al. 2013). We simulated two different population sizes (100 and 500 diploid individuals) and gene flow rates (1 and 10 migrants per generation), making four basic simulation scenarios (Table S. 5). In each simulation, we randomly bottlenecked 40 of the 81 populations. Bottlenecks were caused either by total disconnection or by demographic crashes. Total disconnection mimicked the effects of habitat destruction. Given the actual balance between habitat destruction and restoration, we assumed that disconnection was definitive: disconnected populations remained isolated for the whole simulation after disconnection had occurred. Demographic crashes mimicked the effects of habitat degradation. Because the demographic consequences of habitat degradation can vary in magnitude, we reduced population sizes using two different crash strengths by applying two reduction size factors (10 and 25) to population sizes. Depending on the evolution of environmental conditions, or the ability for populations to cope with degraded habitats, they may or may not recover their initial population size after the demographic crash. We thus distinguished between scenarios in which populations could regrow immediately after the demographic crash up to their initial population sizes, and scenarios in which growth after the demographic crashes was not allowed. These situations are the most extreme cases between which most realistic situations are likely to occur, when demographic crashes do not end up in population collapses. We chose an intrinsic growth rate of 1.1 based on the available literature for bats (O'Shea et al. 2011; Froidevaux et al. 2017). Finally, we explored different times at which the bottlenecks occurred (20, 50, and 100 generations back in time). The resulting 60 parameter sets (see Table S. 5) were replicated 100 times each, leading to 6000 simulated data sets.

To avoid edge effects, we only sampled the 49 (7 x 7) populations that formed the central part of the (9 x 9) simulation grid. We sampled 35 individuals from each population and classified populations as bottlenecked or non-bottlenecked according to their demographic history. To test our hypothesis that the two kinds of bottlenecks have diverging effects on the IBD slope, we recorded, for each simulation replicate, the ratio of the slope of the IBD regression between

bottlenecked populations over the slope of the IBD regression between non-bottlenecked populations.

Results

Multi-locus-genotypes

On average, 79% of the samples were correctly genotyped, with allelic drop-out and false allele rates of 3.8% and 2.3%, respectively. The number of individuals (distinct genotypes) per colony ranged from 5 to 44 (Table S. 4).

Bottleneck detection

The three runs converged for all colonies, with Gelman & Rubin's convergence diagnostic values lower than 1.02. Based on the BF, 22 out of the 42 colonies showed strong support for a past demographic bottleneck (Table S. 4). Most of these colonies were located in the eastern part of our sampling area (Figure 14).

Isolation by distance, effective density, and dispersal distance

Isolation by distance was significant both among non-bottlenecked colonies (Mantel test; $p=0.037$, $r=0.13$) and among bottlenecked ones ($p<0.001$, $r=0.52$). The ratio between the two slopes was 3.4. The slope of the regression line computed for non-bottlenecked colonies was $b=0.013$ (Figure 15). The census performed by NGOs revealed a mean density of 0.218 individuals/km² in sampled regions, leading to an effective density of approximately 0.0218 individuals/km² and an effective dispersal distance of 16.8 km. The dispersal kernel based on this dispersal distance implies that the maximum dispersal distance should not exceed 80 km (Figure S. 2).

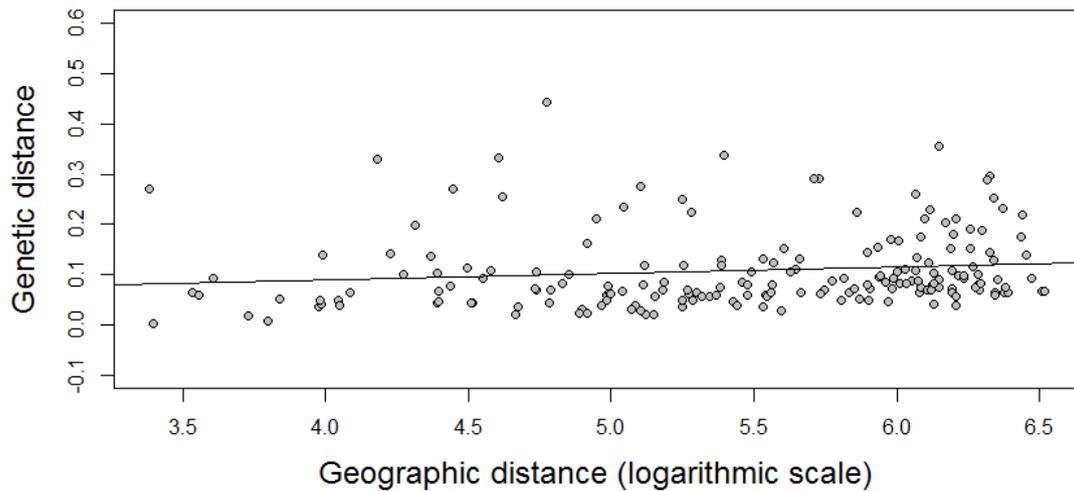


Figure 15: Relationship between genetic and geographic distances for non-bottlenecked colonies. The equation of the regression line is: $y=0.036+0.013x$

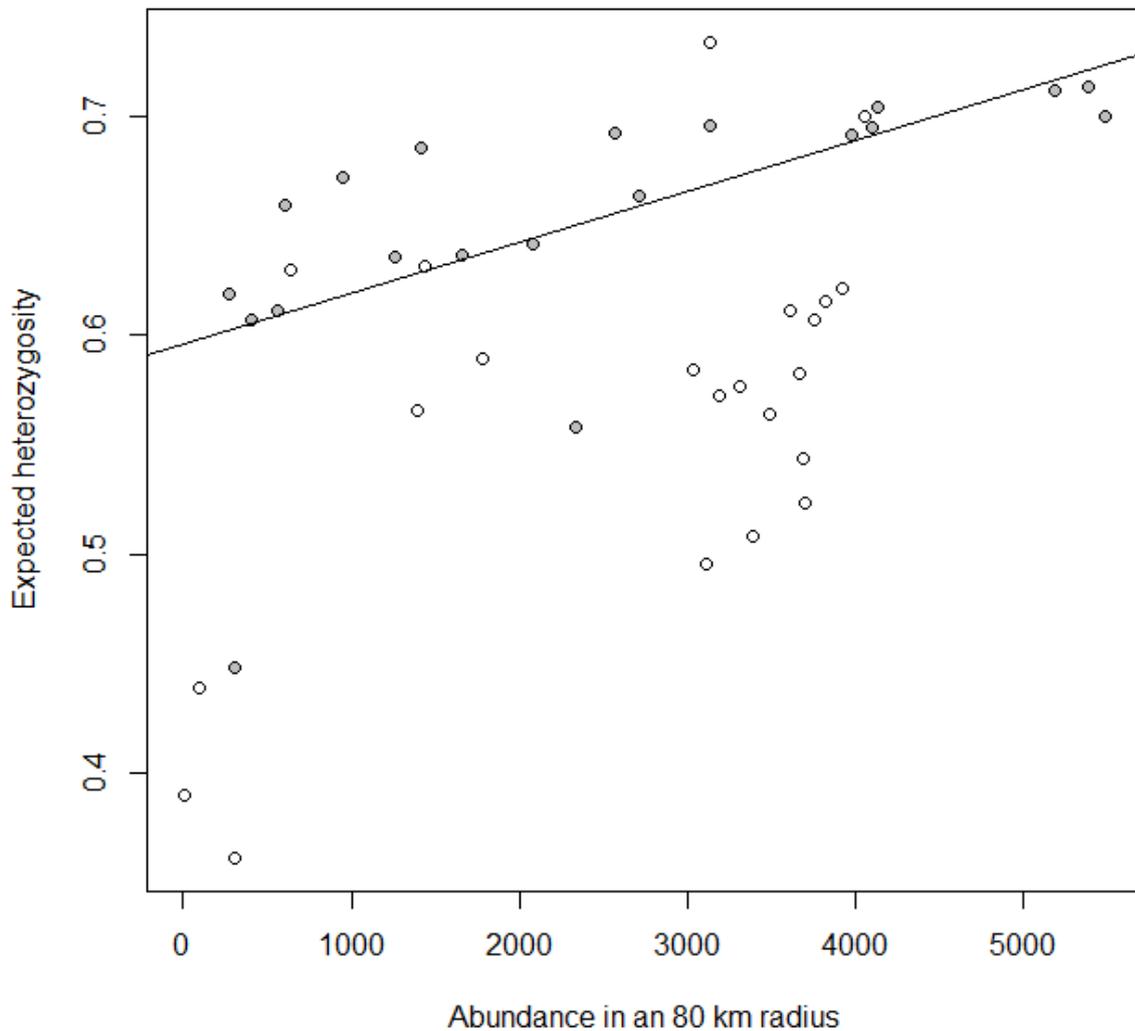
Factors driving genetic diversity

Bottlenecks were significantly associated with decreased genetic diversity for the five models tested, i.e. regardless of the type of connectivity measure used (Table 13; Type II ANOVA, $p < 0.01$). Connectivity was not a significant predictor of gene diversity when estimated by the distance to the nearest colony, or by considering a buffer zone of 10 km radius ($p > 0.05$), but was positively and significantly associated to genetic diversity in the models considering the number of colonies or individuals in an 80 km buffer around focal colony ($p = 0.007$ and $p < 10^{-4}$, respectively). The model considering connectivity as the abundance around focal colonies had the lowest AIC ($\Delta AIC > 8$), and the two variables (bottleneck and connectivity) explained 49% of the variability in genetic diversity. As a consequence, this connectivity measure was used in the subsequent analyses.

Table 13: Factors driving genetic diversity. Significance of bottlenecks and connectivity were tested with five linear models considering three different connectivity measures: distance to the nearest neighbor population (NN), number of population within a 10 km and 80 km buffer zone around the focal colony (CB) and the number of individuals within a 10 km and 80 km buffer zone around the focal colony (IB). Fixed effect was tested with a type II ANOVA: NS: non-significant predictor; + : positive significant predictor; - : negative significant predictor. The last column displays the AIC and R² of the models, with bold characters for the lowest AIC and highest explained variance.

<u>Radius</u>	<u>Connectivity measure</u>	<u>Significant variables</u>		<u>AIC</u>	<u>R²</u>
		<u>Bottleneck</u>	<u>Connectivity</u>		
	<u>NN</u>	-	NS	-93.54	0.31
<u>10 km</u>	<u>CB</u>	-	NS	-92.23	0.29
	<u>IB</u>	-	NS	-92.54	0.29
<u>80 km</u>	<u>CB</u>	-	+	-97.53	0.37
	<u>IB</u>	-	+	-106.45	0.49

As both bottlenecks and connectivity had a significant effect, groups that were affected by past demographic declines or not were analyzed separately in the next step in order to investigate the role of connectivity excluding a potential bias introduced by the genetic history of populations. Bottlenecked and non-bottlenecked colonies differed in their response of genetic diversity to connectivity. Connectivity was significantly correlated with genetic diversity in non-bottlenecked populations (Figure 16; Spearman correlation test, $p < 0.001$), explaining 72% of its variability, but not in bottlenecked ones ($p = 0.08$).



[Figure 16: Relationship between genetic diversity \(as measured by expected heterozygosity\) and population connectivity. White dots: bottlenecked colonies; grey dots: non-bottlenecked colonies. The Spearman correlation is significant for the non-bottlenecked colonies \(\$r^2=0.72\$, \$p<0.01\$ \), and non-significant for the bottlenecked colonies \(\$r^2=0.17\$, \$p=0.08\$ \). A plain line represents the regression for non-bottlenecked colonies only.](#)

IBD signatures of simulated demographic and disconnection bottlenecks

As expected, bottlenecks that were due to demographic crashes increased the slope of the IBD pattern when compared to populations that did not experience a reduction in population size (Figure 17). In the absence of regrowth, this effect could be observed for both low and high rates of gene flow, but was more pronounced for higher number of migrants, while N did not have an effect (Figure 17). Growth after demographic crashes erased the signal unless the bottleneck was recent, population size was high, and gene flow was limited. For bottlenecks caused by disconnection, changes in the slope ratio were dependent on the number of migrants prior to disconnection: The slope ratio was reduced by disconnection when gene flow had been high ($Nm = 10$), but no changes were detectable if connectivity had been low from the start

($Nm = 1$) (Figure 18). The results were similar when the demographic crashes were stronger (population size reduction factor of 25, Figure S. 3).

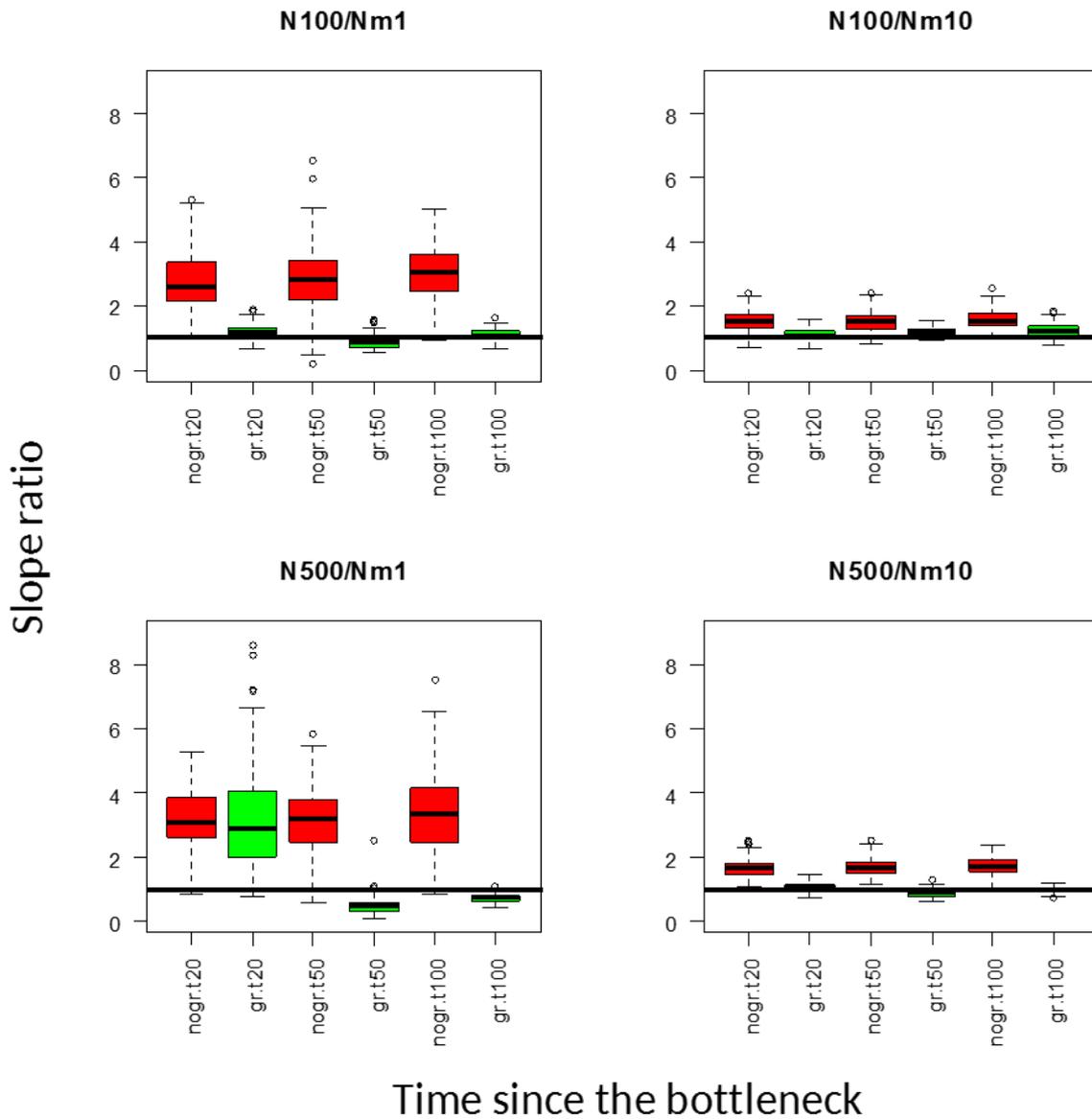


Figure 17: Effect of demographic bottlenecks (size reduction factor: 10) on the slope of isolation-by-distance as a function of population size N , gene flow Nm , time since the bottleneck t , and the possibility for populations to regrow after a bottleneck (gr, green) or not (nogr, red). The boxplots show the ratio of the slope of isolation-by-distance computed between bottlenecked populations compared to the slope of isolation-by-distance computed between non-bottlenecked populations. The horizontal line shows the value expected if bottlenecks have no effect on the slope ratio.

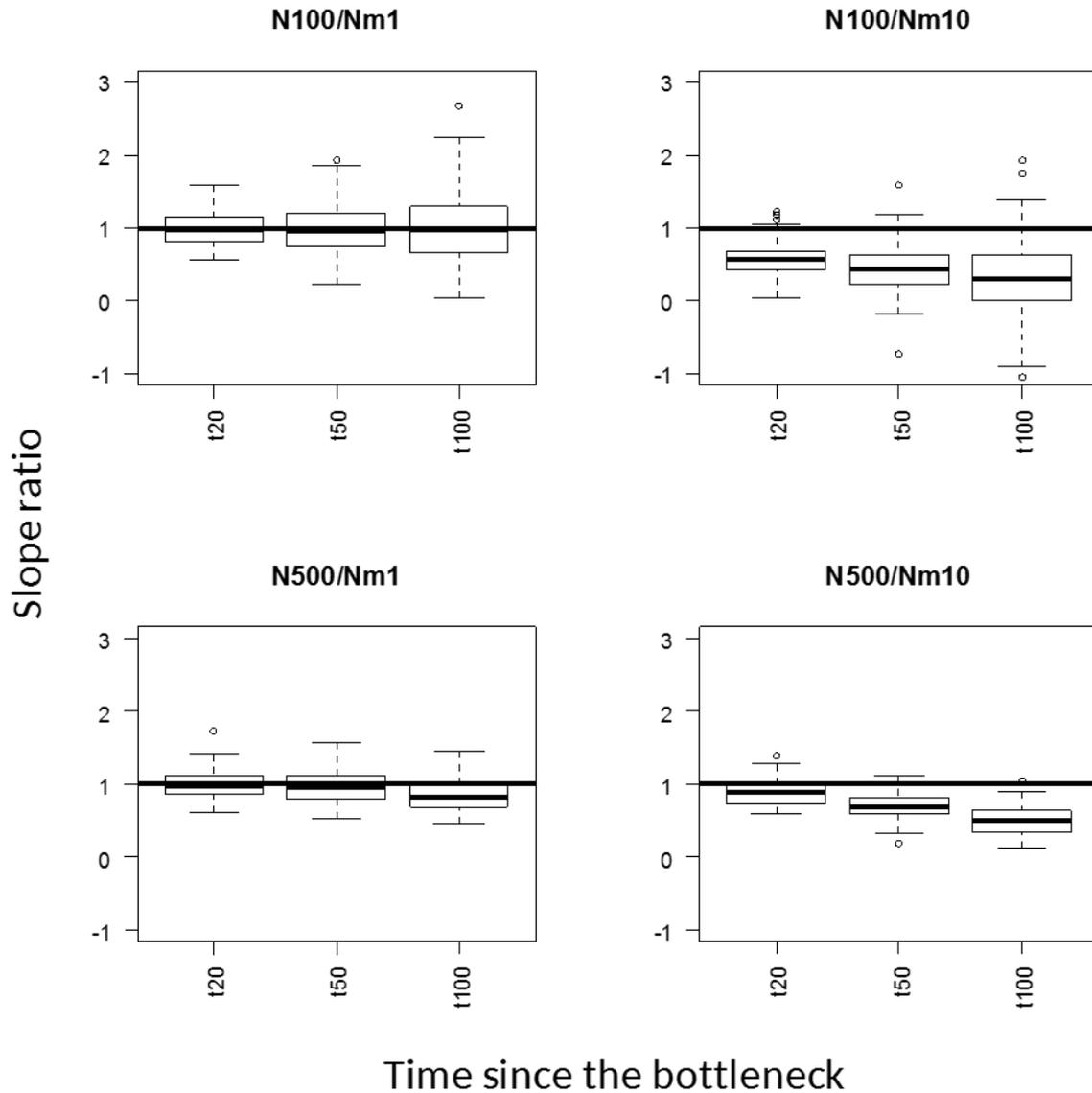


Figure 18: Effect of disconnection bottlenecks on the slope of isolation-by-distance as a function of population size N , gene flow Nm , and time since the bottleneck. See Figure 17 for more details.

Discussion

We present here a framework that makes use of genetic data to, first, detect potential effects of historic bottlenecks or connectivity on genetic diversity, and, second, to differentiate between scenarios of demographic crash versus genetic disconnection. Although both scenarios somehow result in a lower effective population size, their genetic signatures are very distinct. Lower effective population size results in stronger genetic drift (Wright 1931), leading to higher genetic differentiation across the landscape. In the case of a demographic crash, the persistence of gene flow between neighbour populations leads to accentuated differentiation between

distant populations, resulting in a very strong pattern of IBD. Contrastingly, in the case of disconnected populations (without gene flow), differentiation is similar between neighbour or distant populations as a result of drift, leading to very similar (or lower) IBD slopes compared to connected stable population.

Checking for bottlenecks revealed a strong bottleneck signal for a considerable part of the *Rhinolophus hipposideros* colonies sampled, which is in accordance with the drastic population declines (in size and distribution range) the species underwent in Northwestern Europe during the second half of the 20th century (Bontadina et al. 2000). The detection of bottleneck signals in colonies mostly located in the eastern part of our sampling area (i.e. Belgium and Germany) was expected given the more severe declines accompanied by local extinction events having taken place in these regions, as opposed to less drastic losses in France (Ohlendorf 1997). Our simulations unambiguously confirm the pronounced influence of demographic crashes in creating the bottleneck signals in our study system: the ratio between IBD slopes for bottlenecked and non-bottlenecked populations in the empirical data set was 3.4, which is among the highest slope ratios observed in the simulated data set (Figure 17 and Figure 18). Slope ratios > 2 were in general only observed in scenarios of demographic crash, not disconnection. Therefore, even though we cannot exclude an influence of connectivity, the genetic signatures are fully concordant with a recent demographic crash in *Rhinolophus hipposideros*. Caveats concerning the interpretation of bottleneck detection have been acknowledged for some time now (Chikhi et al. 2010; Broquet et al. 2010; Peery et al. 2012) and the issue is usually discussed in current studies (e.g. (Shirley and Austin 2017)), but we are not aware of a published approach that allows to discriminate between a demographic crash versus genetic disconnection as the causes. Here, we present a method for confirming that a reduction in population size is involved in creating the detected genetic bottleneck signal, even though it does not yet provide a means to reliably classify bottlenecks as originating from disconnection.

The fact that we failed to detect a significant correlation of genetic diversity with connectivity estimates based on distance to nearest neighbour (NN) confirms previous criticism of this connectivity measure, further emphasizing the importance of more realistic proxies that consider density at least (Moilanen and Nieminen 2002). Our two density based connectivity estimates performed well, detecting a significant association between genetic variance and the respective connectivity estimate for a buffer zone of 80 km, but not 10 km radius. They considered either the number of populations or the number of individuals within the buffer

patch, the latter resulting in the best model. The fact that a higher number of potential immigrants was associated with higher genetic variation strongly supports that gene flow between subpopulations is crucial in our study system to maintain the genetic diversity of focal populations. This finding has important implications for conservation strategies, demonstrating that the protection of a few selected key colonies/subpopulations is probably insufficient to preserve genetic diversity for longer time periods. Instead, conservation measures should aim at maintaining or establishing a well-connected network of many medium sized colonies/populations, as aggregating individuals more densely in fewer colonies/populations will increase the distance between single colonies/populations, ultimately resulting in their isolation when they are too far apart.

The observed relevance of considering connectivity on a sufficiently large scale that exceeds by far our study species' home range (Bontadina et al. 2002; Reiter et al. 2013) demonstrates that many conservation measures may be missing their goal as they consider geographic areas that are too small to establish stable, well-connected networks of populations. The Natura2000 network e.g. has recently been criticized for many of the protected sites being too small to efficiently protect large carnivores (Santini et al. 2016), and for not considering connectivity to a sufficient degree in population coverage assessments (Zisenis 2017). While we acknowledge the difficulty of establishing and maintaining networks across purviews and political borders, we still view according attempts (e.g. (Van der Sluis et al. 2004; Jongman et al. 2011)) as highly desirable and advocate to increase such efforts in conservation planning.

We have shown that genetic diversity is considerably influenced by past genetic bottlenecks for a large part of the populations sampled. Furthermore, the power to detect an impact of other factors of interest, (here, connectivity estimated from the number of individuals in a buffer patch around the focal population), greatly improved after accounting for the effects of bottlenecks. Therefore, pooling populations whose genetic diversity patterns are dominated by distinct mechanisms may result in overlooking important effects. Even though we did identify connectivity as a driver of genetic diversity also for the pooled data set, its contribution would have been masked had the proportion of bottlenecked populations been higher, and the amount of heterozygosity variability explained by our connectivity measure strongly increased when considering non-bottlenecked populations only (49 vs. 72%, respectively). Hence, we recommend that potential drivers of genetic variation should be investigated separately in studies targeting the maintenance and recovery of genetic diversity.

Overall, simulation results concerning the effects of demographic bottlenecks on IBD patterns were consistent with our hypothesis that a reduction in population size leads to higher IBD slopes in bottlenecked populations. However, high numbers of migrants considerably attenuated this effect, and population regrowth even tended to completely erase it. Hence, we cannot denote an unambiguous IBD slope signature caused by demographic bottlenecks due to confounding influences of gene flow and recovery of population size. Likewise, our expectations regarding the effects of disconnection induced bottlenecks on IBD were only partly fulfilled, as we failed to detect the expected decrease in the IBD slope of bottlenecked compared to non-bottlenecked populations when gene flow prior to disconnection was weak.

A search of the VARVER database (Yashima and Innan 2017) revealed that variation in genetic diversity levels reported for other species are similar, or even higher, to those we found for *Rhinolophus hipposideros* (considering studies on terrestrial vertebrates that covered a comparable number of populations and sampling range, see Appendix G). Hence, differences in genetic diversity levels between populations exist for a wide range of taxa and investigating the causes with methods herein presented could help to prioritise conservation measures.

While our simulations based approach for the classification of bottlenecks was helpful to confirm the overall importance of demographic crashes in creating the bottleneck signal in our studied system, they lacked the power to unambiguously identify a bottleneck signal as originating from genetic disconnection. While the average slope ratio measured in our empirical dataset implies an overall effect of demographic crashes rather than a global genetic disconnection, it bears mentioning that the two most geographically isolated populations were considered as bottlenecked. We can thus expect that a method allowing to distinguish between demographic crashes induced vs. disconnection bottleneck signals at a population level could give more detailed results. Future according efforts could benefit from investigating further IBD parameters, e.g. the intercept. We did not encompass such an approach because the intercept of IBD models is determined by more complex factors than the slope (Rousset 1997) and its implementation hence beyond the scope of our study. A more reliable classification of the bottleneck signals detected in empirical studies could also envisage approximate Bayesian computation (ABC) models that allow the inference of the time since the bottleneck, the size reduction or disconnection.

Conclusion

We demonstrate the importance of explicitly investigating the respective contribution of different potential drivers of reduced genetic diversity and that large-scale connectivity plays an important role in maintaining genetic variation. The latter suggests that preserving or facilitating large-scale connectivity of populations is much more efficient for maintaining high levels of genetic diversity compared to the selective protection of single or few populations. Based on the former finding, we strongly recommend that studies aimed at informing conservation planning in regard to preserving or recovering the genetic variability of populations should follow a stepwise approach that first identifies parameters that are potentially important for genetic diversity in their system and then assesses their respective influence separately to avoid overlooking important factors due to masking effects. Particularly, population history and connectivity should be accounted for when investigating potential mechanisms influencing genetic diversity. We have combined these steps with a simulations based approach that allows the confirmation of the demographic nature of detected bottlenecks signals. Further research is needed to develop a way to exclude demographic crashes or disconnection as the source of a bottleneck, or rather to unambiguously classify the dominating driver. The framework presented here is widely applicable to a wide range of species and can help in the prioritisation of conservation actions and increasing their efficiency.

Discussion générale

SYNTHÈSE ET PERSPECTIVES

Lors de cette thèse, nous avons tenu à mettre en place une approche globale, tirant partie de différentes méthodes et prenant en compte différentes échelles spatiales, afin de construire un portrait le plus complet possible de l'impact de l'environnement sur la dynamique des populations du Petit rhinolophe. Les comptages utilisés dans la première partie nous ont fourni une grande diversité d'environnements pour lesquels nous avons pu tester leur impact sur la taille des populations, la fécondité et les tendances démographiques. Ces informations nous ont ensuite servi de base pour mieux comprendre comment l'environnement des colonies de maternité pouvait affecter la dynamique des populations du Petit rhinolophe, à l'aide de données de génétique non-invasives. Ce même type de données collectées à plus grande échelle nous a également permis d'étudier la sensibilité des colonies de petits rhinolophes à l'isolement des populations et aux goulots d'étranglements. Nous discuterons dans un premier temps de l'impact de l'environnement sur les colonies de maternité du Petit rhinolophe, avant de nous intéresser à ce que nos résultats nous ont appris sur les caractéristiques démographiques et la dispersion du Petit rhinolophe. Nous parlerons ensuite des implications des résultats de cette thèse pour la biologie de la conservation en général, notamment pour les espèces les plus sensibles. Nous terminerons par différentes perspectives concernant des mesures de conservation appliquées au Petit rhinolophe et la biologie de la conservation.

Impact de l'environnement sur les colonies de maternité du Petit rhinolophe

Une espèce sensible aux variations climatiques.

Les variations climatiques sont connues pour influencer la dynamique des populations de chauves-souris (Adams and Hayes 2008; Burles et al. 2009; Schorcht et al. 2009; Frick et al. 2010; Adams 2010; Amorim et al. 2012, 2015; Lučan et al. 2013), et le Petit rhinolophe ne fait ici pas exception. La température a un impact positif sur l'abondance comme sur la fécondité. Ceci s'explique par une augmentation de l'activité des insectes constituant l'alimentation du Petit rhinolophe, ainsi que par un coût réduit pour maintenir la température du corps de ces chauves-souris (Reiter 2004a; Burles et al. 2009). L'impact des précipitations est beaucoup plus nuancé, puisqu'il sera positif ou négatif selon la période ou la variable réponse considérée. Les précipitations vont augmenter les coûts énergétiques pour voler et la difficulté de trouver des proies par écholocation par temps de pluie (Grindal et al. 1992; Frick et al. 2010; Voigt et al. 2011). A l'inverse, la pluie aura un effet bénéfique sur la taille de la population pendant les périodes les plus sèches où la pluie peut favoriser l'abondance des insectes (Williams 1951).

L'impact des variations climatiques sur la dynamique des populations du Petit rhinolophe confirme également que ces populations seront sensibles aux changements climatiques qui s'annoncent, et que cette espèce devra très certainement remonter vers le nord dans les années à venir (Rebelo et al. 2010).

Bien que de nombreuses études considèrent les variables climatiques sur des échelles temporelles relativement longues, nos résultats montrent que les variations climatiques conditionnent la dynamique des populations du Petit rhinolophe à des moments bien précis. Ces résultats peuvent être dus à l'existence de périodes courtes mais cruciales dans le cycle de vie du Petit rhinolophe, qui vont conditionner sa fitness. Une étude récente a également montré que la dynamique des populations à long terme d'une autre chauve-souris européenne, *Myotis bechsteinii*, dépendait principalement d'évènements rares et intenses (Fleischer et al. 2017), et la détection de l'effet de tels évènements pourrait également être facilitée par l'utilisation de résolution temporelle adaptée. Les variables météorologiques des mois qui ont montré un impact significatif dans nos résultats n'ont cependant pas montré de plus fortes variations que celles des autres mois, ou la présence d'outliers qui traduiraient un élément climatique rare (Figure S. 1). D'autres indices laissent penser que l'impact de ces mois en particulier traduit la présence de moments clés dans le cycle de vie du Petit rhinolophe. Ainsi, l'importance de la température et du niveau de précipitation du mois d'avril vient probablement du fait que cette période correspond à la période où la qualité de l'environnement va déterminer si les femelles gardent leur fœtus ou non (Grindal et al. 1992; Lučan et al. 2013). Les conditions climatiques du mois de juillet sont également déjà connues pour affecter la survie des juvéniles tout juste nés (Reiter 2004a; Burles et al. 2009). Les autres effets laissent plus de place à l'interprétation, notamment les effets contradictoires de la précipitation d'octobre sur la taille de la colonie et la fécondité. Comprendre les tenants et aboutissants de l'effet de chacune de ces variables nécessiterait une investigation plus poussée qui n'a pas été développée dans cette thèse, l'objectif premier de l'étude dédié à l'impact des variations climatiques étant de le prendre en compte dans les analyses dédiées à l'effet du paysage. En effet, les données de comptages ne correspondant pas aux mêmes années selon les colonies, et il nous a paru essentiel de prendre en compte un effet connu pour influencer la dynamique des populations de chauves-souris, celui des variations climatiques. Le fait d'inclure ou non les variables climatiques dans les modèles dédiés à l'impact du paysage ne change que très peu leurs résultats. En effet, seule une variable paysagère n'a été considérée comme significative qu'après l'inclusion des variables climatique dans les modèles, à savoir la proportion de forêt de feuillus autour de la colonie (données non

présentées). Il convient cependant de noter qu'il s'agit de la variable avec la plus grande taille d'effet sur la taille des colonies bretonnes, et qui a montré son impact sur la survie juvénile dans le jeu de données picard. Ceci montre bien l'importance de prendre en compte les variables connues *a priori* pour affecter la variable réponse afin de réduire le bruit environnemental et de déceler un maximum des effets contenus dans un jeu de données. La détection de variables climatiques significatives présentée dans ce manuscrit est basée sur l'intervalle de confiance à 95% autour de l'effet de ces variables, ce qui n'est pas le seuil le plus approprié. En effet, nous avons ensuite constaté qu'il est plus pertinent de prendre en compte un seuil de 85% dans le cadre de sélection de modèle basé sur l'AIC (Arnold 2010). L'article basé sur cette analyse étant déjà publié, nous l'avons laissé tel quel dans ce manuscrit, mais nous tenons à préciser que les résultats des *model averaging* utilisés dans cette partie restent inchangés en modifiant ce seuil (Tableau 1, Tableau 2, Tableau S. 1 et Tableau S. 2).

[Des colonies de maternité sensibles à l'habitat proche](#)

Définir les limites d'une population de Petit rhinolophe n'est pas une chose aisée : les femelles se rassemblent en colonie de maternité pendant l'été, et tous les individus se rassemblent pendant l'hiver en colonie d'hibernation (Tournant 2013). Nous ne savons cependant toujours pas si les individus rassemblés pendant l'hiver sont les mêmes que ceux rassemblés en colonie de maternité. De plus, la reproduction du Petit rhinolophe est très peu documentée, mais les phénomènes de "swarming" observés chez des espèces proches, supposent que des individus issus de différentes colonies se rassemblent pour la reproduction (Parsons and Jones 2003; Kerth and Morf 2004). La reproduction entre les individus étant un critère nécessaire à la définition d'une population, la population de petits rhinolophes est une notion difficile à définir. Il est cependant nécessaire de définir des unités de gestion concrètes permettant une gestion efficace de ces populations (Taylor and Dizon 1999).

Dans ce cadre, la colonie de maternité semble être une unité de gestion très efficace puisqu'elle permet de s'intéresser à un ensemble d'individus philopatriques (Tournant 2013), et dont le proche environnement (500 m autour) influence les taux vitaux de ces populations et à travers eux le taux de croissance de la population. Une analyse de sensibilité (données non montrées), basée sur les taux vitaux obtenus en Picardie, montre que le taux de croissance de la population serait particulièrement sensible aux variations de survie adulte, ce qui est attendu pour des espèces longévives comme les chauves-souris (Peron et al. 2016). Les paramètres moins déterminant pour le taux de croissance, et donc moins canalisés, sont censés être plus fortement

impactés par la variation environnementale (Gaillard et al. 2000). Ceci semble confirmé par le fait que l'environnement proche de la colonie influence surtout la survie des juvéniles, qui sont des individus qui vont s'envoler pour la première fois hors de la colonie de maternité, inexpérimentés. Bien que la survie juvénile ne soit pas le paramètre le plus déterminant pour le taux de croissance, nos résultats suggèrent que l'impact de l'environnement sur la survie juvénile se répercute sur celui-ci. En effet, l'impact des surfaces agricoles autour des colonies sur la survie juvénile observée sur le jeu de donnée de génétique (Tableau 11) se retrouve sur la tendance démographique étudiée sur le jeu de donnée de comptage (Tableau 5). L'impact négatif des surfaces agricoles sur la présence du Petit rhinolophe a déjà été observé, et semble être particulièrement lié aux pesticides et insecticides utilisés communément en agriculture conventionnelle, qui vont diminuer le nombre d'insectes dans les milieux alentours, voire directement affecter la physiologie des chauves-souris (Bontadina et al. 2002; Wickramasinghe et al. 2003, 2004). Les résultats obtenus en Picardie impliquent que la présence de ces milieux autour de la colonie de maternité affecterait donc particulièrement les individus inexpérimentés que sont les juvéniles, alors qu'à l'inverse la présence disproportionnée du terrain de chasse idéal autour de la colonie faciliterait leur survie. Ceci est confirmé par la relation positive entre la surface en forêts de feuillus et la survie juvénile (Tableau 11), un type de paysage connu pour être le terrain de chasse favori du Petit rhinolophe (Schofield 1996; Bontadina et al. 2002). Nos résultats concernant la taille de la colonie et la survie juvénile suggèrent également que ces forêts sont d'autant plus profitables pour le Petit rhinolophe que le diamètre des arbres est grand, car les arbres plus larges, et donc plus vieux, offrent plus de micro-habitats et abritent des populations d'insectes plus abondantes, facilitant la chasse du Petit rhinolophe (Holzhaidner et al. 2002; Smith and Racey 2008).

Le jeu de données breton nous a montré qu'une surface élevée des milieux artificiels est associée à des tailles de colonies et des valeurs de fécondités réduites. De précédents travaux ont montré que des grandes surfaces artificielles diminuent la probabilité de présence des colonies, et ont formulé l'hypothèse que ces surfaces ne fournissent pas de gîtes de maternité appropriés pour le Petit rhinolophe (Tournant et al. 2013). Cependant, nos résultats semblent plutôt appuyer un impact actif de ces surfaces sur la taille et la fécondité des colonies de Petit rhinolophe, qui pourrait s'expliquer par la pollution lumineuse, l'augmentation des morts accidentelles ou par prédation, ou encore la pollution (Stone et al. 2009; Gaston et al. 2013; Ziembicki et al. 2014; Fensome and Mathews 2016; O'Shea et al. 2016). La proportion de surface artificielle n'a pas été testée sur les données collectées en Picardie, faute de variabilité de cette surface dans cette

zone d'étude. En effet, seule une colonie, Pic16, présentait une proportion notable de surface artificielle autour de la colonie, étant donné que celle-ci se trouve au cœur d'un château d'une taille conséquente. Il est cependant intéressant de noter que cette colonie est la plus grande de notre jeu de données picard, et la colonie avec la deuxième plus forte fécondité. Ceci peut s'expliquer par la présence de combles très larges, permettant d'accueillir de nombreux individus, et la présence de nombreux gîtes satellites facilitant la régulation de la température pour les mères et les juvéniles (Kayikcioglu and Zahn 2004). Cet exemple nous montre donc que la surface artificielle n'est pas forcément la métrique la plus appropriée pour rendre compte des effets néfastes de l'urbanisation sur le Petit rhinolophe. Une distinction plus fine des différents types de bâtiments, ou des mesures plus directes, comme la pollution lumineuse (Froidevaux et al. 2017), pourraient se révéler plus pertinentes.

Des mesures plus élaborées que la simple surface des couvertures paysagères peuvent également améliorer nos connaissances sur l'impact de l'environnement sur les populations de Petit rhinolophe. Si la taille moyenne des patchs où les indices de diversité du paysage testés sur le jeu de données breton n'ont pas montré d'effet apparent sur la taille et la dynamique des populations, des patchs de couvertures paysagères se sont distingués non pas par leur surface, mais par leur forme. Ainsi les patchs d'eau douce les plus sinueux, avec une plus grande proportion de berges pour une surface équivalente, sont positivement associés avec de plus grande tailles de colonies. Les berges des rivières, des fleuves et des lacs contiennent une végétation abondante qui abrite de nombreuses espèces d'insectes, notamment ceux ayant un stade aquatique dans leur cycle de vie. Cela fait de ces berges un excellent terrain de chasse pour les chauve-souris (Warren et al. 2000). Contrairement à ce qui avait été précédemment trouvé par Tournant et al. (2013), la surface des milieux ouverts n'a pas montré de lien avec la taille des colonies. Cependant la complexité des patchs des milieux ouverts était plus forte autour des petites colonies et des colonies décroissantes. Ceci implique que les patchs de milieux ouverts particulièrement sinueux et intrusifs dans le paysage autour de la colonie impactent plus la dynamique des populations que des patchs plus équilibrés et à surface équivalente. Les milieux ouverts particulièrement sinueux au sein d'un paysage majoritairement forestier impliquent une plus grande fragmentation *sensu stricto*, c'est-à-dire plus de lisière forestière et plus de découpage des patchs forestiers pour une surface équivalente. Cette variable confirme donc bien l'impact néfaste de la fragmentation de l'habitat forestier sur le Petit rhinolophe (Reiter et al. 2013).

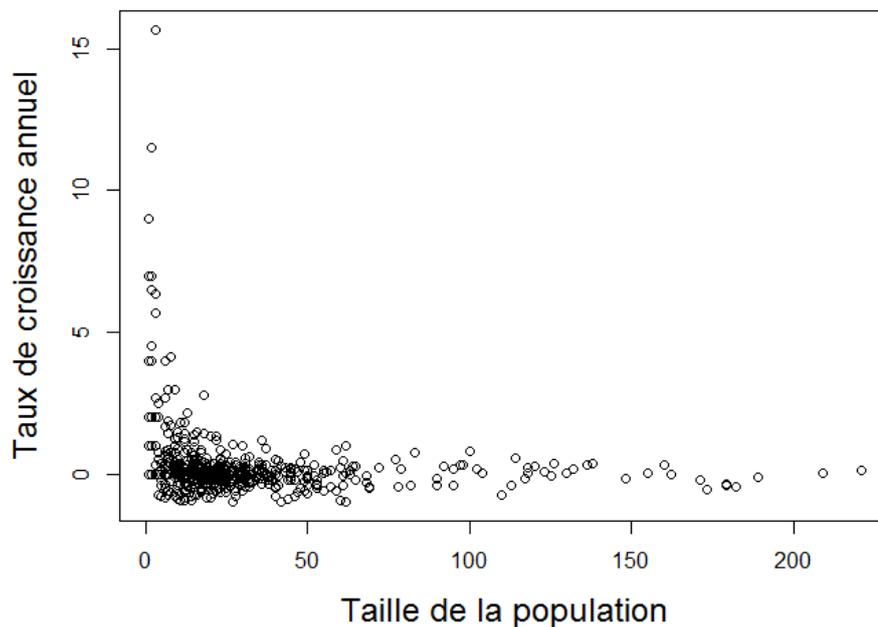
Des caractéristiques démographiques qui fragilisent les populations.

Effet Allee

Au-delà de l'impact de la dégradation de son habitat, les populations de Petits rhinolophe semblent avoir des caractéristiques intrinsèques qui ne facilitent pas leur conservation. Les taux de croissance obtenus sur les colonies picardes suggèrent la présence d'un effet Allee dans les populations étudiées. On distingue deux types d'effets Allee (Stephens et al. 1999). L'effet Allee démographique s'observe à l'échelle de la population par une relation positive entre le taux de croissance et la taille d'une population pour de faibles effectifs. L'effet Allee élémentaire se traduit par une relation positive entre un taux vital et la taille de la population : si la présence d'un effet Allee démographique implique toujours au moins un effet Allee élémentaire, l'inverse n'est pas toujours vrai, car les effets Allee élémentaires peuvent être contrebalancés par d'autres phénomènes qui impliquent plutôt une densité-dépendance négative, comme la compétition (Stephens et al. 1999; Angulo et al. 2017). Une densité-dépendance négative, sur les taux de croissance comme sur les taux vitaux, ont déjà été observés chez des populations de chauves-souris, incluant une espèce proche du Petit rhinolophe, le Grand rhinolophe (López-Roig and Serra-Cobo 2014; Froidevaux et al. 2017). Au vu des comportements sociaux des chauves-souris, telles que la recherche de nourriture en groupe (Wilkinson and Wenrick boughman J 1998; Dechmann et al. 2010) ou la thermorégulation sociale (Tuttle 1976), plusieurs études ont émis l'hypothèse de la présence d'effet Allee dans la dynamique de populations des chauves-souris (Angulo et al. 2017; Froidevaux et al. 2017). A notre connaissance, il s'agit cependant de la première validation empirique de cet effet Allee, sur le taux de croissance (démographique) comme sur un taux vital associé, la survie adulte (élémentaire).

Les données de comptages étudiées dans le premier axe de cette thèse ne suggèrent pas de densité dépendance, qu'elle soit positive ou négative (Figure 19), et tester l'impact de la taille de colonie (de manière linéaire et quadratique) sur le taux de croissance annuelle (suivant le protocole de Froidevaux et al. (2017), n'a pas démontré la présence des patrons attendus en cas de densité dépendance, négative comme positive. Il semble cependant que plusieurs taux de croissance annuels montrent des valeurs excessivement élevées, liées à des tailles de colonies très réduites suivi par des comptages beaucoup plus élevés, qui peuvent être attribués à différents phénomènes (dérangement de la colonie pendant une année ou décalage entre le passage de l'observateur et le pic de population) mais qui ne sont certainement pas représentatifs

des processus démographiques des colonies. Ce type de données pourrait donc masquer un vrai signal d'effet Allee au sein des populations bretonnes. Concernant la densité dépendance négative, les colonies considérées pour le Grand rhinolophe, pour lesquelles une densité-dépendance négative a été observée, avaient des tailles bien plus grandes que celles observées chez les petits rhinolophes (entre 50 et 700 individus pour le Grand rhinolophe, contre moins de 220 individus sur toutes les colonies que nous avons étudiées.). Il est possible que la densité dépendance négative ne soit détectable que sur des colonies de très grande taille, de la même manière que nos données suggèrent que l'effet Allee ne joue que sur la démographie des petites colonies, inférieures à 100 individus (Figure 13).



[Figure 19 : Taux de croissance annuel en fonction de la taille de la population dans les colonies bretonnes](#)

Etant donné que la majorité des travaux de cette thèse sont centrés sur l'habitat du Petit rhinolophe, nous avons défini ce qu'était une population notamment par son utilisation du milieu, et considéré les colonies de maternité comme des populations. Dans le cadre d'une étude de densité dépendance, il serait cependant plus pertinent de considérer les colonies comme un groupe social, et la population comme un ensemble d'individus capable de se reproduire entre eux (Angulo et al. 2017). Les phénomènes de "swarming" que nous avons déjà évoqué impliqueraient que des individus issus de colonies de maternité différentes pourraient se reproduire en ensemble, mais ce phénomène est très mal connu chez le Petit rhinolophe (Tournant 2013; Davison and Thomas 2017). Mieux connaître le degré d'interaction entre les groupes sociaux est essentiel pour mieux comprendre comment l'effet Allee observé dans les

groupes sociaux peut se manifester à l'échelle de la population (Angulo et al. 2017). Nos observations sur les colonies de maternité du Petit rhinolophe confirment donc les attendus théoriques concernant la relation entre les effets Allee élémentaires et démographiques, mais ouvrent également des perspectives d'études intéressantes pour l'écologie théorique comme appliquée (Angulo et al. 2017). Cela nécessitera cependant de mieux comprendre le fonctionnement et la structure des populations à une plus large échelle que la colonie, ce qui s'annonce comme un défi conséquent pour le Petit rhinolophe. Avec un échantillonnage adapté, la génétique non-invasive et les outils d'assignations de parenté sont des pistes intéressantes pour étudier ce fonctionnement dans le futur.

Faible capacité de dispersion et isolement des populations

Le Petit rhinolophe est considéré comme une espèce de chauve-souris sédentaire et philopatric (Schofield 1996; Tournant 2013). Nos résultats ont confirmé que la dispersion des individus est très limitée. D'une part par le très faible nombre d'individus recapturés dans une autre colonie dans le cadre de la CMR non-invasive (0.3%, n=3832), et d'autre part par le patron d'isolement par la distance et la faible distance de dispersion efficace observée dans le cadre de l'étude de génétique des populations à grande échelle. Les espèces avec des faibles capacités de dispersion sont particulièrement sensibles à la fragmentation de l'habitat (Fischer and Lindenmayer 2007), qui est une menace extrêmement présente pour le Petit rhinolophe (Reiter et al. 2013). Nos résultats montrent également que les capacités de dispersion limitées du Petit rhinolophe impliquent que la diversité génétique de chaque population dépend de sa connectivité avec les autres populations, et notamment de l'abondance de l'espèce dans la région avoisinante. Les populations les plus isolées sont donc particulièrement fragiles, et présentent des risques d'extinction élevés à long terme (Reed and Frankham 2003).

Les déplacements les plus longs ne représentent généralement qu'une très faible proportion des dispersions pour n'importe quelle espèce, mais présentent tout de même une importance capitale pour de nombreux processus (Trakhtenbrot et al. 2005). Nos résultats suggèrent que la distance de dispersion maximale du Petit rhinolophe ne dépasse pas 80 km, des distances relativement faibles comparés à d'autres chauve-souris, qui peuvent atteindre 300 voire 600 km (Fairon 1967; Kerth and Petit 2005; Norquay et al. 2013). Ces capacités de dispersion relativement faible ne faciliteront pas son expansion vers le nord afin de suivre les changements climatiques (Nichols and Hewitt 1994). Des études de modélisation ont montré que les événements de dispersion à grandes distances, bien que rares, sont censés avoir une importance capitale dans le maintien

de la diversité génétique, avec des effets variables selon le niveau de différenciation génétique initial des populations (Bohrer et al. 2005). Les données que nous possédons montrent que l'influence de la connectivité sur la diversité génétique augmente avec la taille du rayon considéré, et que le degré de connectivité expliqué par la présence des individus dans un rayon de 80 km (distance maximale de dispersion) est la variable qui explique le mieux les variations de diversité génétique entre les populations. Ces résultats suggèrent donc que la connectivité impacte positivement la diversité génétique notamment à l'échelle de la dispersion maximale, et valideraient via des données empiriques l'importance des dispersions longue distance suggérées par les modèles. Nous manquons cependant des données nécessaires pour tester l'influence de la connectivité à une échelle spatiale supérieure, qui permettrait de valider ou non cette hypothèse.

Gestion d'une espèce sensible : comment suivre des populations sans nuire aux individus ?

On touche avec les yeux

La méthode de capture-marquage-recapture (CMR) est souvent considérée comme la méthode reine en dynamique des populations, permettant d'obtenir des données précieuses sur les taux vitaux des populations, leur sensibilité à l'environnement et leurs caractéristiques démographiques (Frederiksen et al. 2014). La CMR classique peut cependant imposer de très fortes contraintes sur les espèces les plus sensibles à la manipulation, au piégeage ou à la pose de marques, et impacter leur survie et leurs comportements (Powell and Proulx 2003). Lors de cette thèse, nous nous sommes intéressés à la dynamique des populations d'une de ces espèces, le Petit rhinolophe, en utilisant deux méthodes non-invasives : le comptage des adultes et des juvéniles, et un suivi individuel basé sur l'ADN extrait de guano récolté au sein des populations.

Les comptages offrent une possibilité relativement peu coûteuse d'obtenir des jeux de données de larges dimensions, spatialement et temporellement. Nous avons déjà mentionné l'importance de la taille de ces jeux de données qui permet de les analyser avec une puissance statistique suffisante et de limiter le bruit environnemental (Jonzén et al. 2002; Frederiksen et al. 2014). Constituer un tel jeu de données peut être un défi considérable pour un organisme de recherche seul, puisqu'il demande une planification sur du long-terme et des moyens humains suffisants. Cependant, la France comme de nombreux autres pays abrite de nombreux organismes, associatifs ou non, dédiés à l'observation et au suivi des populations, qui accumulent ce type de

données sur des protocoles standardisés au fil des années. Ainsi, les données de comptages collectées en Bretagne nous ont permis d'étudier l'impact des variations climatiques et du paysage sur les tailles des colonies et sur la fécondité, mais aussi l'impact du paysage sur les tendances démographiques de chaque population, cohérent avec les résultats obtenus par la génétique non-invasive. La grande variabilité de climats entre les comptages et de paysages entre les colonies nous ont permis de détecter un effet significatif de pas moins de 9 variables climatiques et 5 variable paysagères. Les données de comptages collectées dans chaque région de France, de Belgique et d'Allemagne nous ont également permis d'estimer la connectivité des populations que nous avons échantillonné. Ceci illustre que les données de comptage sont des données extrêmement précieuses, et que les organismes qui les fournissent sont essentiels aux avancés de la biologie de la conservation (Rich 2006; Asher et al. 2011).

Distinguer différentes classes d'âges avec la génétique non-invasive

Le fait de baser nos études sur des colonies de maternité nous a permis de nous intéresser à la fécondité et de différencier les survies adultes et juvéniles dans nos populations. Cela implique de différencier les juvéniles des adultes au sein de la population, ce qui peut se faire relativement facilement lors des comptages, mais qui est beaucoup moins simple avec des données génétiques (Gervasi et al. 2017). L'assignation de parenté peut être utilisée pour estimer la classe d'âge des individus, mais nécessitent souvent des informations complémentaires (Marucco et al. 2012). Dans notre cas, en différenciant des sessions pré-reproduction et post-reproduction, nous avons ainsi pu assigner l'état de juvénile ou de mère à certains individus, avec certaines limites. Tout d'abord, assigner des individus à ces états nécessitent la détection de la mère et du juvénile. La probabilité de détection des juvéniles étant particulièrement basse, nous n'avons donc placé aucun à priori concernant la proportion d'individus non assignés dans nos modèles. Les postérieurs de nos modèles implique que 54% des individus mères ont été effectivement assignés comme mère par la méthode d'assignation de parenté, et que 35% des individus juvéniles ont été correctement assignés. La différence entre ces deux valeurs vient du fait que le calcul de la proportion de mères est conditionné par la recapture des individus après la naissance des juvéniles (voir construction du modèle, Appendix D). Une autre limite de cette méthode est la possibilité que des femelles adultes, détectées uniquement après la naissance des juvéniles, soient faussement assignées en tant que juvénile si leurs propres mères sont toujours en vie et dans la colonie. La forte philopatrie des femelles rend ce scénario possible, notamment pour la première année d'échantillonnage, mais le fait de répéter cet échantillonnage au fil des années rend la probabilité qu'une femelle adulte soit considérée comme juvénile potentiel de

moins en moins probable, et nous avons considéré dans nos modèles que la probabilité de ce scénario ne dépassait pas 5%. Une manière de le vérifier consiste à observer le sex-ratio des juvéniles : si celui-ci est largement biaisé en faveur des femelles et diminue avec le temps, alors on peut considérer qu'une part non-négligeable des juvéniles sont en fait des adultes mal assignés. Le sex-ratio des juvéniles (Figure 20) est effectivement biaisé en faveur des femelles, et ne montre pas de rééquilibrage avec le temps, mais plutôt un pic de présence des mâles en 2015. Chez les chauves-souris européennes, les individus femelles naissent plus tôt que les mâles (Barclay 2012), et les échantillonnages post-naissances, effectués autour du 15 juillet, contiennent donc potentiellement (i) plus de guano issu de juvéniles femelles que de mâles et (ii) des guanos plus gros de la part des juvéniles femelles que des mâles, et qui contiennent donc plus d'ADN et sont moins sujet aux erreurs de génotypage. Cette hypothèse est appuyée par le pic de sex-ratio observé en 2015, l'année la plus sèche des quatre années d'échantillonnage, car le manque de précipitations provoque une mise-bas plus précoce chez les chauves-souris (Grindal et al. 1992).

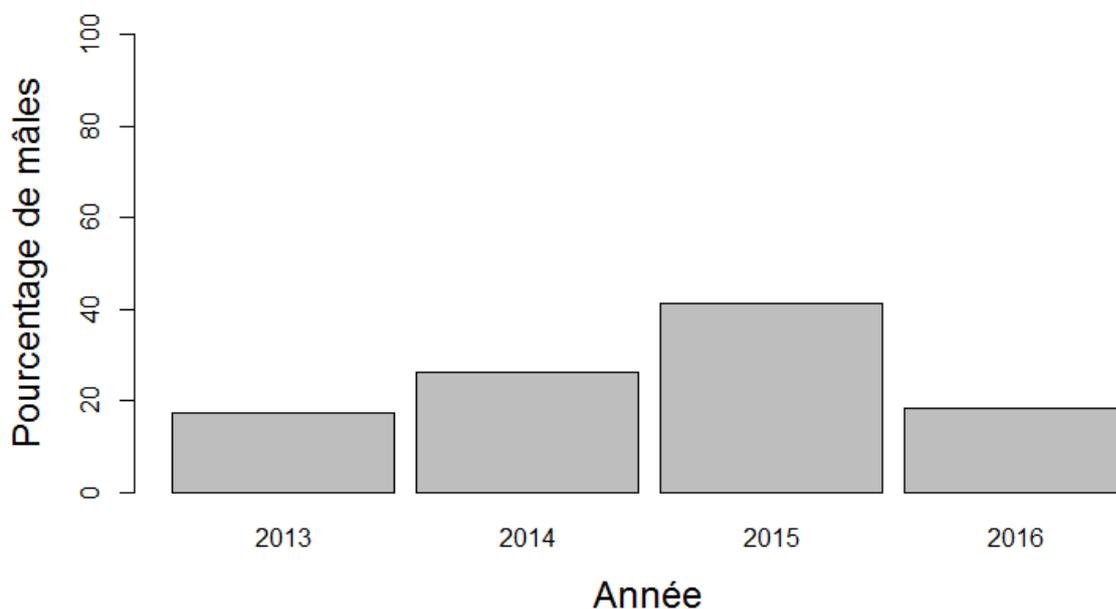


Figure 20 : Sex-ratio des individus assignés comme juvéniles selon les années.

Ce sex-ratio remet cependant en question une autre hypothèse formulée dans notre modèle de population intégré: le nombre de femelles juvéniles utilisé pour la partie "état-espace" du modèle est estimé à partir du nombre de juvéniles observés visuellement, que nous avons divisé par deux, car le sex-ratio des juvéniles est équilibré au moment de l'envol (Gaisler 1966). Nous

avons en effet considéré que les comptages, effectués à la fin de la période d'échantillonnage, reflétaient probablement un sex-ratio plus proche de celui du moment de l'envol que celui observé dans les échantillons génétiques, qui traduisent aussi bien des différences de tailles que de présence et qui sont influencés par le sex-ratio pendant l'ensemble de la période d'échantillonnage. Nous aurions pu éviter les désagréments de cette hypothèse imparfaite en estimant directement le nombre de juvéniles à partir des échantillons génétiques (et donc, sexés) via la méthode de CMR unisession utilisée sur les adultes femelles. Dans notre cas, nous n'avons cependant pas pu utiliser cette méthode étant donné le faible nombre d'échantillons assignés comme juvéniles, qui découle directement de la faible probabilité de détection des juvéniles dans le cadre de notre échantillonnage. Nous encourageons cependant ceux intéressés par l'utilisation de l'IPM à base de données de génétique non-invasive d'utiliser exclusivement les données d'estimation de taille issues de ces données lorsque cela est possible.

Ce que nous a apporté la génétique non-invasive : le Petit rhinolophe et au-delà

Au vu des résultats déjà offerts par les comptages, et des contraintes évoquées pour la génétique non invasive, quel est l'apport réel de cette deuxième méthode ? La question est légitime car si la récolte d'échantillons n'est pas beaucoup plus contraignante que le comptage, le matériel nécessaire à l'extraction de l'ADN et au génotypage implique des coûts financiers plus élevés, et les données issues de génotypage un temps d'analyse plus conséquent (dans le cas de notre étude, 7,25€ par échantillon, et environ un mois et demi de travail pour obtenir les génotypes d'une année d'échantillonnage). Il convient tout d'abord de dire que si l'ADN est un marqueur universel, le comptage et de manière plus générale le suivi visuel des individus peut être très compliqué chez certaines espèces, où il sera plus facile de collecter des épreintes, des poils ou des plumes, justifiant l'utilisation de données génétiques (Arandjelovic et al. 2011). Les comptages peuvent également fournir des résultats très biaisés (Gervasi et al. 2016). Ce ne semble cependant pas être le cas du Petit rhinolophe, qui se rassemble en colonies à intervalle régulier, facilitant son comptage.

A l'aide d'un marqueur sexuel approprié, la méthode de génétique non-invasive permet de s'intéresser au sex-ratio des populations, voire aux différences comportementales entre les sexes. Le Petit rhinolophe ne présente pas de dimorphisme sexuel morphologique assez marqué pour pouvoir différencier les mâles des femelles lors de simple comptages. La présence, même réduite, de mâles dans les colonies de maternité était déjà connue (Gaisler 1966; Schofield 1996), mais les comptages effectués ont toujours été considérés comme quasiment

exclusivement composés de femelles. Grâce à un échantillonnage non-invasif, effectué sur de longues périodes (10 jours), nous avons pu observer que les mâles sont effectivement présents dans des proportions qui peuvent être très différentes selon les colonies, mais aussi que leur présence dans les colonies n'est qu'occasionnelle. Nos résultats ont donc montré que les comptages effectués sont bien représentatifs du nombre de femelles, comme supposé, mais légèrement biaisé vers le haut pour certaines colonies. La génétique non invasive permet cependant d'estimer le nombre d'individus via des méthodes de CMR unisession, basées sur le nombre de recaptures de chaque génotype. Nous pouvons alors estimer la taille d'une population en s'affranchissant du biais dû au nombre de mâles, et en ne considérant que les individus femelles. Les données de génétique, associées à la procédure d'assignation de parenté décrite plus haut, nous ont également montré que la probabilité de détection dépendait du statut reproducteur, avec des implications directes sur les à priori des modèles de CMR utilisés par la suite. Ces différences de probabilité de capture sont très certainement dues à des différences comportementales qui impliquent que les mères passent plus de temps au sein des colonies que les autres femelles. Ces différences pourraient également avoir des implications sur les comptages effectués dans les colonies, notamment sur l'estimation de la fécondité par comptage, mais nous n'avons cependant pas exploré plus en détail cet aspect dans le cadre de cette thèse. Ces résultats illustrent que les données génétiques permettent d'explorer de nombreuses manières l'histoire de vie et le comportement des individus, et ne sont que des exemples des informations que le génotypage peut nous apporter dans ce domaine. D'autres travaux ont ainsi démontré l'impact de la présence d'individus d'apparentés sur le comportement de chasse à l'aide de la reconstruction de pedigree complet (Rossiter et al. 2002), ou ont exploré la distance de dispersion des individus à l'aide de méthodes d'assignation de population (Proctor et al. 2002). Les espèces les plus sensibles peuvent supporter particulièrement mal les prélèvements de sang ou d'échantillons fournissant des génotypages de meilleure qualité, mais nos résultats montrent que la génétique non-invasive peut également fournir ce genre d'informations nécessaires pour une meilleure compréhension du fonctionnement des populations sauvages.

Concernant l'impact de l'environnement sur les populations, un objectif majeur de cette thèse, la génétique non invasive nous a permis d'estimer directement les taux vitaux de ces populations et de chercher l'effet de l'environnemental sur leur variation. Dans le cas de notre étude, nous avons ainsi pu confirmer que l'impact négatif des cultures sur la croissance des populations venait de la survie juvénile, ce qui n'était qu'une hypothèse fournie par les comptages. Peu de

variables ont été testées sur notre jeu de données de génétique non-invasive, étant donné le faible nombre de colonies et le manque de variabilité entre elles, et nous n'avons pas trouvé d'impact du paysage qui n'ait pas déjà été suggéré par les données de comptages. Les méthodes statistiques utilisées sur le jeu de données de génétique non invasive ne sont pas optimales, car la répétition des analyses sur plusieurs modèles linéaires n'est pas conseillée sur un jeu de données si réduit (Forstmeier et al. 2016). Étant donné la quantité de travail nécessaire à l'obtention des données de génétique non-invasive, il est difficile d'imaginer des jeux de données génétiques avec une taille équivalente à ceux obtenus via des comptages à grande échelle, cependant cela ne signifie pas qu'il est impossible d'étudier l'impact de l'environnement de manière fiable à partir de ce type de données. En effet, il est possible d'estimer l'impact des variables environnementales en incluant directement l'effet de l'environnement dans les modèles estimant les taux vitaux ou autres paramètres (Letcher et al. 2015). Chacun de nos modèles mettant un temps non-négligeable à tourner (autour d'une semaine pour chaque combinaison de variables environnementales testées), nous n'avons cependant pas pu mettre en pratique cette méthode avant la fin de cette thèse, mais nous espérons pouvoir le faire dans un avenir proche. Le fait de pouvoir distinguer les taux vitaux des populations sensibles ouvre de grandes perspectives pour la biologie de la conservation en général. Ces informations sont très précieuses pour comprendre les mécanismes impliqués dans l'impact de l'environnement sur la dynamique des populations sauvages (Benton et al. 2006) et adapter les mesures de conservation en fonction. Distinguer les taux vitaux et en extraire le taux de croissance nous a également permis de détecter un effet Allee dans nos populations, que nous n'avions pas observé à l'aide des comptages seuls.

Enfin, la génétique des populations offre des informations extrêmement pertinentes dans le cadre de la biologie de la conservation d'une espèce sensible. Maintenir la diversité génétique d'une population est essentielle pour son maintien à long terme (Reed and Frankham 2003), et les données de génétique non-invasive récoltées à grande échelle nous ont permis d'étudier l'origine de la chute de la diversité génétique de certaines populations. Si la taille d'une population joue beaucoup sur sa diversité génétique, au moins parce qu'un grand nombre d'individus implique un plus grand nombre d'allèles possibles, les populations de petits rhinolophes offrent un très bon exemple de la sensibilité de cette diversité à d'autres paramètres (goulots d'étranglement et d'isolement). En révélant la diversité génétique des populations, les données de génétique permettent donc de déterminer plus efficacement que les simples comptages quelles sont les populations avec les plus forts enjeux de conservation, et de prioriser

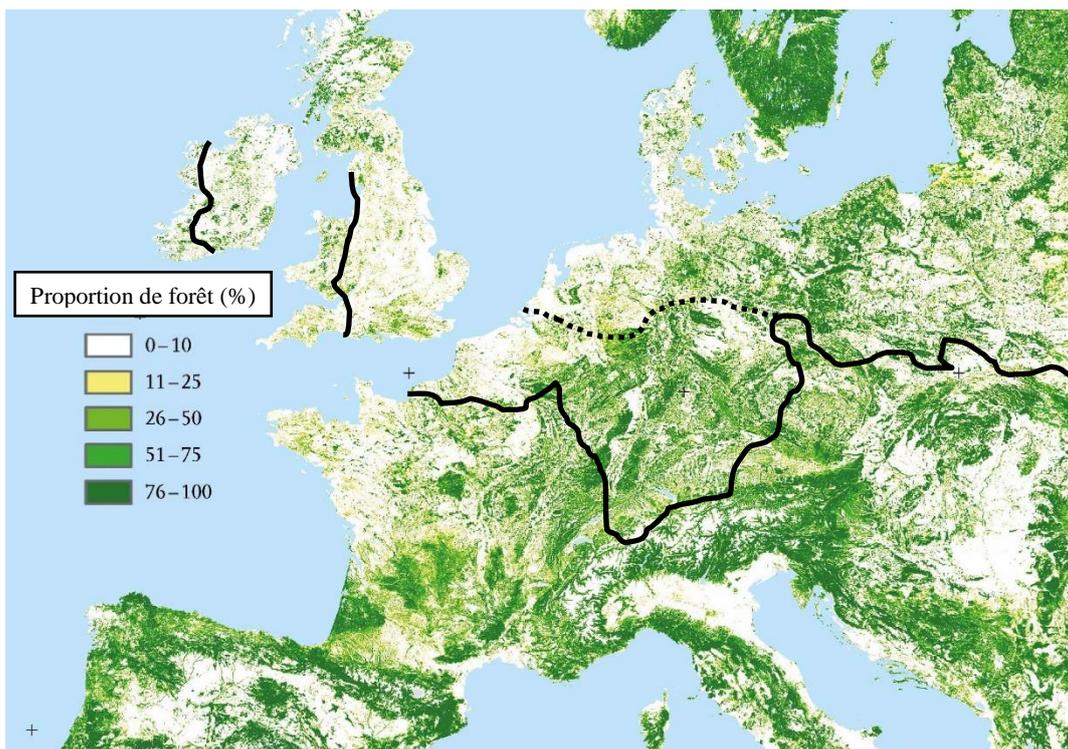
la gestion des populations. La distance génétique (F_{ST}) entre les populations nous donne également beaucoup d'informations sur les flux de gènes entre les populations, et leur sensibilité à la distance géographique (Rousset 1997). Nous avons même pu utiliser ces résultats pour estimer la distance de dispersion efficace ainsi que la distance de dispersion maximale du Petit rhinolophe, et obtenu en une année des résultats qui concordent avec des données de baguage récoltés pendant 25 ans, durant laquelle seul un individu fut recapturé à 80 km du lieu du baguage (Fairen 1967). La génétique des populations offre une pléiade d'analyses permettant de mieux comprendre le fonctionnement des populations sauvages et utilisée dans le cadre de la conservation : assignations de populations, structuration génétique des métapopulations, sensibilité à la sélection naturelle, etc. La génétique non-invasive nous offre donc la possibilité d'obtenir des informations variées sur les espèces les plus sensibles, sans pour autant nuire aux individus étudiés.

Perspectives

Perspectives pour la conservation du Petit rhinolophe

La forêt est un milieu fournissant de nombreux services écosystémiques (production de bois, fixation du carbone, etc.), dont l'efficacité dépend largement du niveau de biodiversité présent dans cet écosystème (Mori et al. 2017). Les chauves-souris sont des espèces bio indicatrices et participent au bon fonctionnement de l'écosystème forestier (Jones et al. 2009; Kunz et al. 2011). Leur conservation peut donc être considérée comme un enjeu capital. Le Petit rhinolophe est une espèce fragile, qui a déjà subi un fort déclin au cours du siècle dernier (Bontadina et al. 2000), et pour laquelle les changements climatiques à venir vont très certainement entraîner un changement massif dans son aire de distribution, avec notamment une remontée de cette espèce vers le nord (Rebello et al. 2010). Mais quelle place y-a-t-il pour le Petit rhinolophe plus au nord ? Dans le cas de la France, la diversité génétique des populations les plus nordiques semble suffisante pour éviter l'extinction des populations à long terme. Cependant, les forêts situées au nord de la limite de de distribution actuelle du Petit rhinolophe en France sont peu nombreuses et très éparées (Figure 21), fournissant très peu d'opportunités de recolonisation pour cette espèce dépendante des forêts et avec une dispersion limitée. Ceci explique très certainement, au moins en partie, le fait qu'aucune preuve de recolonisation n'ait été observée en France, alors que le Petit rhinolophe commence à recoloniser certaines régions allemandes, plus boisées (Biedermann et al. 2012). Toute recolonisation du milieu ne pourra se faire que de manière très progressive, et ce pour différentes raisons. Le Petit rhinolophe présente des distances de

dispersion très réduites, et aura donc des difficultés à coloniser de lui-même des patches forestiers trop éloignés (Nichols and Hewitt 1994). La présence d'un effet Allee implique également qu'un nombre suffisant d'individus sera nécessaire dès l'établissement de nouvelles colonies, afin d'éviter l'extinction rapide des populations (Stephens and Sutherland 1999). La colonisation d'un milieu particulièrement isolé du reste des colonies est donc peu probable, mais pas impossible, et la présence de telles colonies a été observée lors de notre échantillonnage effectué à l'échelle européenne, notamment en Belgique et en Allemagne. Il s'agit cependant des colonies avec les plus faibles diversités génétiques que nous ayons observées, à tel point que plusieurs cas d'albinisme, signe de consanguinité dans les populations sauvages (Bensch et al. 2000), ont été avérés dans au moins une de ces populations (Nyssen P. – communication personnelle), ce qui ne facilitera certainement pas leur conservation à long terme. De futurs plans de conservation devront donc porter une attention toute particulière pour assurer une connectivité suffisante entre les colonies.



[Figure 21 : Carte des forêts européennes incluant la limite de la distribution du Petit rhinolophe en Europe en 2000 \(ligne pleine\) et en 1939 \(ligne pointillée\), d'après Bontadina et al. \(2000\). Fond de carte : European Forest Institute.](#)

Les résultats observés pendant cette thèse concernant l'impact de l'environnement sur la dynamique des populations du Petit rhinolophe nous fournissent un cadre permettant de

favoriser la présence de populations de grande taille ainsi que des taux de croissance suffisants. Favoriser la présence de gîtes dans un environnement de qualité est une méthode de conservation des chauves-souris forestières reconnue, mais s'axe généralement sur les cavités naturelles présentes dans les arbres, qui servent de gîtes à de nombreuses espèces de chauves-souris forestières, ou sur la pose de nichoirs spéciales destinées à accueillir ces chauves-souris (Boye and Dietz 2005). Dans le cas du Petit rhinolophe, les gîtes de maternité nécessitent la présence d'un bâtiment pour lesquelles une pièce, typiquement greniers ou combles, offre un accès en vol vers l'extérieur. Ce type de gîte ne s'aménage donc pas aussi facilement qu'un nichoir, et connaître l'environnement qui favorise la taille et la dynamique des colonies permet de prioriser les actions d'aménagement de ces sites et d'éviter de gaspiller des ressources à aménager des gîtes dans des lieux qui n'ont qu'un faible potentiel. Nos résultats montrent donc que les sites les plus propices à accueillir de grandes populations croissantes sont des gîtes proches de forêts de feuillus denses et de berges de rivières ou de lacs, et avec un minimum de terres cultivées et de milieux artificiels dans un rayon de 500 mètres.

Des actions plus directes sur les gîtes déjà existants peuvent également favoriser la conservation de cette espèce. Nous avons associé l'effet négatif de la présence des terres cultivées sur la survie des juvéniles au manque de proies dans ces milieux mais aussi à une action directe des pesticides. Les petits rhinolophes sont particulièrement contaminés par les pesticides organochlorés, qui se transmettent aux juvéniles avant la naissance par le placenta et après la naissance via l'allaitement (Afonso et al. 2016). La contamination des petits rhinolophes par des pesticides et autre polluants peut être étudié de manière non-invasive grâce aux traces présentes dans le guano des chauves-souris (Afonso et al. 2016), et une étude plus approfondie dans ce sens pourrait permettre à l'avenir de faire le lien entre ces contaminations et la survie des petits rhinolophes. En effet, si cet effet est avéré, des mesures plus concrètes consisteraient à limiter l'utilisation de pesticides dans les alentours des colonies de maternité, et ceci impliquerait autant les terres cultivées que les pesticides utilisés en sylviculture et pour le traitement des surfaces en bois des bâtiments (Boye and Dietz 2005; Afonso et al. 2016). La gestion forestière est susceptible d'avoir un fort impact sur la dynamique des chauves-souris (Boye and Dietz 2005), et nous avons donc testé l'impact de la diversité spécifique, de la proportion de futaie régulière, et du diamètre des arbres. La diversité spécifique des arbres impacte fortement celles des proies du Petit rhinolophe, les insectes (Sobek et al. 2009), mais n'a pas montré d'effet sur nos colonies : la composition spécifique joue cependant un rôle important, car la taille des colonies est impactée par la proportion d'arbres feuillus, comme

attendu chez le Petit rhinolophe et d'autres espèces (Bontadina et al. 2002; Boye and Dietz 2005). La proportion de futaie régulière autour de la colonie n'a montré aucun impact significatif dans notre étude. Le diamètre des arbres a quant à lui montré un impact positif sur la taille des colonies et la survie des juvéniles. Les arbres les plus larges, qui sont aussi, pour la plupart, les plus vieux, sont les hôtes d'une plus grande diversité et d'une plus grande abondance d'insectes, faisant des arbres les plus larges un terrain de chasse de choix pour les petits rhinolophes (Holzhaidner et al. 2002; Smith and Racey 2008). Nos résultats suggèrent donc qu'adapter la gestion forestière en favorisant la présence d'arbre de grandes tailles autour des colonies de maternité serait une mesure de conservation efficace pour améliorer la taille des populations et la survie des juvéniles.

Perspectives pour la biologie de la conservation

Dans le contexte actuel d'une crise de la biodiversité globale, la biologie de la conservation est une science particulièrement cruciale pour le maintien des écosystèmes dans lesquelles nous évoluons (Singh 2002; Olson et al. 2002). Ces études concernent souvent des espèces menacées d'extinction et très fragiles, et il est parfois difficile de juger du niveau de perturbation causé par la présence d'observateurs humain et la manipulation des individus. Mieux comprendre le fonctionnement de ces populations ne doit pas se faire au prix de perturbation sur les populations sauvages (Powell and Proulx 2003). Les scientifiques sont conscients de ces enjeux, et encouragent un développement des technologies dédiées à la collecte de données permettant de diminuer l'impact du marquage ou des balises de suivi sur les individus, particulièrement pour l'étude d'espèces de taille réduite (Wikelski et al. 2007). Le développement de protocoles adaptés aux échantillons de génétique non-invasive remplit également cet objectif, en assurant un dérangement minimal et un impact nul sur les individus. La génétique non-invasive peut également s'avérer très intéressante lorsque la collecte d'échantillons non-invasifs est plus facile que le marquage et l'observation directe des individus, comme c'est le cas d'espèces discrètes, pour lesquelles la localisation, la capture et le suivi impliquent une méthodologie complexe et souvent peu efficace (Horváth et al. 2005; Waits and Paetkau 2005).

Nous avons développé plus tôt les avantages et contraintes de la génétique non-invasive, et sommes convaincus que cette méthode offre de vastes opportunités pour la biologie de la conservation, et ce quelle que soit l'espèce étudiée. Un échantillonnage non-invasif peut être utilisé pour suivre les individus comme les fréquences alléliques des populations, et permet d'effectuer des analyses pertinentes à court terme (Galaverni et al. 2012; Morin et al. 2016;

Palomares et al. 2017), mais aussi en considérant de plus grandes échelles spatiales et/ou temporelles (Sharma et al. 2013; Morehouse and Boyce 2016; Steyer et al. 2016). Par la diversité des informations fournies, un échantillonnage non-invasif bien réfléchi en amont peut répondre à de nombreuses questions de conservation. Cette diversité d'informations peut aussi être combinée pour répondre à une seule question avec une plus grande précision, comme l'illustre l'utilisation de l'estimation de la taille de la population, des données de CMR et des informations issues de l'assignation de parenté dans un seul et même modèle. Les modèles de population intégrés semblent être un outil particulièrement idéal pour ce genre d'analyse, mais il s'agit, à notre connaissance, de la première fois que ce type de modèles inclut des données issues d'un échantillonnage génétique.

La CMR par échantillons de génétique non-invasifs fut utilisée pour la première fois en 1996, et le nombre d'études traitant du sujet a depuis lentement augmenté (Lukacs and Burnham 2005). De nos jours, une vingtaine d'études seulement utilisant cette méthode sortent chaque année (webofknowledge.com). Les porteurs des projets de biologie de conservation sont peut-être freinés par les erreurs de génotypage communément admises avec ce genre de données (Broquet et al. 2007) ou encore par les protocoles d'extraction et de génotypages très lourds qui permettent de limiter ces erreurs (Lampa et al. 2013) mais qui implique de fait un coût plus grand pour chaque échantillon. Le taux d'erreurs de génotypage est variable selon les sources d'ADN et les espèces, mais il est possible de développer un protocole solide, sans pour autant être extrêmement lourd, qui permet de réduire le coût par échantillon tout en procurant des données de qualité (Puechmaille et al. 2007). Il est également possible de prendre en compte les erreurs de génotypage dans les modèles analysant ces données, et de différencier de manière efficace les individus même à partir de génotypes incomplets (Lukacs and Burnham 2005; Wright et al. 2009; Augustine et al. 2017). Nous espérons que les résultats obtenus durant cette thèse encourageront les initiateurs des études de biologie de la conservation à promouvoir la collecte d'échantillons non-invasifs dans leurs études.

Bibliographic

- Abadi F, Botha A, Altwegg R (2013) Revisiting the effect of capture heterogeneity on survival estimates in capture-mark-recapture studies: does it matter? *Plos One* 8:UNSP e62636.
- Adams RA (2010) Bat reproduction declines when conditions mimic climate change projections for western North America. *Ecology* 91:2437–2445.
- Adams RA, Hayes MA (2008) Water availability and successful lactation by bats as related to climate change in arid regions of western North America. *J Anim Ecol* 77:1115–1121.
- Afonso E, Tournant P, Foltête J-C, et al (2016) Is the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) exposed to causes that may have contributed to its decline? A non-invasive approach. *Glob Ecol Conserv* 8:123–137.
- Aho K, Derryberry D, Peterson T (2014) Model selection for ecologists: the worldviews of AIC and BIC. *Ecology* 95:631–636.
- Akesson S (2016) Flying with the winds: differential migration strategies in relation to winds in moth and songbirds. *J Anim Ecol* 85:1–4.
- Allendorf FW, Luikart G (2009) Conservation and the genetics of populations. *John Wiley & Sons*.
- Amorim F, Mata VA, Beja P, Rebelo H (2015) Effects of a drought episode on the reproductive success of European free-tailed bats (*Tadarida teniotis*). *Mamm Biol* 80:228–236.
- Amorim F, Rebelo H, Rodrigues L (2012) Factors influencing bat activity and mortality at a wind farm in the mediterranean region. *Acta Chiropterologica* 14:439–457.
- Amorim ME, De Marco P (2011) Pollination of *Byrsonima coccolobifolia*: short-distance isolation and possible causes for low fruit production. *Braz J Biol* 71:709–717.
- Andrews MM, Hodnett AM, Andrews PT (2017) Social activity of lesser horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*) at nursery roosts and a hibernaculum in North Wales, U.K. *Acta Chiropterologica* 19:161–174.
- Angulo E, Luque G, Gregory S d., et al (2017) Allee effects in social species. *J Anim Ecol*.
- Angulo E, Roemer GW, Berec L, et al (2007) Double Allee effects and extinction in the island Fox. *Conserv Biol* 21:1082–1091.
- Arandjelovic M, Head J, Rabanal LI, et al (2011) Non-Invasive Genetic Monitoring of Wild Central Chimpanzees. *Plos One* 6:e14761.
- Aresco MJ (2005) The effect of sex-specific terrestrial movements and roads on the sex ratio of freshwater turtles. *Biol Conserv* 123:37–44.
- Arlettaz R, Godat S, Meyer H (2000) Competition for food by expanding pipistrelle bat populations (*Pipistrellus pipistrellus*) might contribute to the decline of lesser horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*). *Biol Conserv* 93:55–60.
- Armbruster P, Reed D (2005) Inbreeding depression in benign and stressful environments. *Heredity*. 95(3), 235-242.
- Arnold TW (2010) Uninformative parameters and model selection using Akaike's information criterion. *J Wildl Manag* 74:1175–1178.
- Asher J, Fox R, Warren MS (2011) British butterfly distributions and the 2010 target. *J Insect Conserv* 15:291–299.
- Augustine B, Royle JA, Kelly M, et al (2017) Spatial capture-recapture with partial identity: an application to camera traps. *bioRxiv* 056804.
- Avise JC (2008) The history, purview, and future of conservation genetics. In: *Conservation biology: evolution in action*. Oxford University Press, New York, 5-15.
- Bailey AM, McCleery RA, Ober HK, Pine WE (2017) First demographic estimates for endangered Florida bonneted bats suggest year-round recruitment and low apparent survival. *J Mammal* 98:551–559.

- Banks SC, Piggott MP, Stow AJ, Taylor AC (2007) Sex and sociality in a disconnected world: a review of the impacts of habitat fragmentation on animal social interactions *Can J Zool* 85:1065–1079.
- Barbet-Massin M, Jetz W (2014) A 40-year, continent-wide, multispecies assessment of relevant climate predictors for species distribution modelling. *Divers Distrib* 20:1285–1295.
- Barbraud C, Weimerskirch H (2001) Emperor penguins and climate change. *Nature* 411:183–186.
- Barr GE, Babbitt KJ (2002) Effects of biotic and abiotic factors on the distribution and abundance of larval two-lined salamanders (*Eurycea bislineata*) across spatial scales. *Oecologia* 133:176–185.
- Bateman BL, Abell-Davis SE, Johnson CN (2011) Climate-driven variation in food availability between the core and range edge of the endangered northern bettong (*Bettongia tropica*). *Aust J Zool* 59:177–185.
- Bayat S, Geiser F, Kristiansen P, Wilson SC (2014) Organic contaminants in bats: trends and new issues. *Environ Int* 63:40–52.
- Beaumont MA (1999) Detecting population expansion and decline using microsatellites. *Genetics* 153:2013.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, et al (1996) GENETIX 4.05, Logiciel sous windows pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions. CNRS UMR 5000 Université de Montpellier II, Montpellier.
- Beltramino AA, Vogler RE, Gutiérrez Gregoric DE, Rumi A (2015) Impact of climate change on the distribution of a giant land snail from South America: predicting future trends for setting conservation priorities on native malacofauna. *Clim Change* 131:621–633.
- Bensch S, Hansson B, Hasselquist D, Nielsen B (2000) Partial albinism in a semi-isolated population of great reed warblers. *Hereditas* 133:167–170.
- Benton TG, Bryant DM, Cole L, Crick HQ (2002) Linking agricultural practice to insect and bird populations: a historical study over three decades. *J Appl Ecol* 39:673–687.
- Benton TG, Plaistow SJ, Coulson TN (2006) Complex population dynamics and complex causation: devils, details and demography. *Proc R Soc B Biol Sci* 273:1173–1181.
- Berezina NA (2005) Seasonal dynamics of structure and fecundity of the Baikalian Amphipod (*Gmelinoides Fasciatus*, Amphipoda, Crustacea) population in reedbeds of the Neva Bay. *Zool Zhurnal* 84:411–419.
- Bezem JJ, Sluiter JW, Van Heerdt PF (1960) Population statistics of five species of the bat genus *Myotis* and one of the genus *Rhinolophus*, hibernating in the caves of S. Limburg. *Arch Néerl Zool* 13:511–539.
- Biedermann M, Karst I, Schorcht W (2012) Kleine Hufeisennase *Rhinolophus hipposideros*. In: Tress J, Biedermann M, Geiger H, et al. (eds) *Fledermäuse in Thüringen*. pp 245–266.
- Biedermann M, Meyer I, Schorcht W, Bontadina F (2004) Sonderuntersuchung zur Wochenstube der Kleinen Hufeisennase in Friedrichswalde-Ottendorf/Sachsen. *Urban Ecol Wildl Res Zurich* 58.
- Bleho BI, Koper N, Borkowsky CL, Hamel CD (2015) Effects of weather and land management on the western prairie fringed-orchid (*Platanthera praeclara*) at the Northern Limit of its Range in Manitoba, Canada. *Am Midl Nat* 174:191–203.
- Bleu J, Herfindal I, Loison A, et al (2015) Age-specific survival and annual variation in survival of female chamois differ between populations. *Oecologia* 179:1091–1098.
- Bobretsov AV, Lukyanova LE, Bykhovets NM, Petrov AN (2017) Impact of climate change on population dynamics of forest voles (*Myodes*) in northern Pre-Urals: The role of landscape effects. *Contemp Probl Ecol* 10:215–223.
- Bohrer G, Nathan R, Volis S (2005) Effects of long-distance dispersal for metapopulation survival and genetic structure at ecological time and spatial scales. *J Ecol* 93:1029–1040.
- Bolnick DI, Svanback R, Fordyce JA, et al (2003) The ecology of individuals: Incidence and implications of individual specialization. *Am Nat* 161:1–28.

- Bontadina F, Arlettaz R, Fankhauser T, et al (2000) The lesser horseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* in Switzerland: present status and research recommendations. *Le Rhinolophe* 14:69–83.
- Bontadina F, Hotz T, Märki K (2006) Die Kleine Hufeisennase im Aufwind. Ursachen der Bedrohung, Lebensraumansprüche und Förderung einer Fledermausart. *Haupt*.
- Bontadina F, Schmied SF, Beck A, Arlettaz R (2008) Changes in prey abundance unlikely to explain the demography of a critically endangered Central European bat. *J Appl Ecol* 45:641–648.
- Bontadina F, Schofield H, Naef-Daenzer B (2002) Radio-tracking reveals that lesser horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*) forage in woodland. *J Zool Lond* 258:281–290.
- Bontadina F, Schofield HW, Naef-Daenzer B (1999) Habitat preference in lesser horseshoe bats as revealed by radio-tracking. *Bat Res News* 40:110–111.
- Boyce MS (1992) Population viability analysis. *Annu Rev Ecol Syst* 23:481–506.
- Boye P, Dietz M (2005) Development of good practice guidelines for woodland management for bats. *English Nature Research Reports* 661.
- Broadmeadow S, Nisbet TR (2004) The effects of riparian forest management on the freshwater environment: a literature review of best management practice. *Hydrol Earth Syst Sci Discuss* 8:286–305.
- Brooks SP, Gelman A (1998) General methods for monitoring convergence of iterative simulations. *J Comput Graph Stat* 7:434–455.
- Broquet T, Angelone S, Jaquierey J, et al (2010) Genetic Bottlenecks Driven by Population Disconnection. *Conserv Biol* 24:1596–1605.
- Broquet T, Ménard N, Petit E (2007) Noninvasive population genetics: a review of sample source, diet, fragment length and microsatellite motif effects on amplification success and genotyping error rates. *Conserv Genet* 8:249–260.
- Broquet T, Ray N, Petit E, et al (2006) Genetic isolation by distance and landscape connectivity in the American marten (*Martes americana*). *Landsc Ecol* 21:877–889.
- Bruggeman JE, Swem T, Andersen DE, et al (2015) Dynamics of a recovering Arctic bird population: the importance of climate, density dependence, and site quality. *Ecol Appl* 25:1932–1943.
- Bunn SE, Arthington AH (2002) Basic principles and ecological consequences of altered flow regimes for aquatic biodiversity. *Environ Manage* 30:492–507.
- Burgess RL, Sharpe DM, Bruner MC (1981) Forest island dynamics in man-dominated landscapes. Springer-Verlag New York.
- Burles DW, Brigham RM, Ring RA, Reimchen TE (2009) Influence of weather on two insectivorous bats in a temperate Pacific Northwest rainforest. *Can J Zool* 87:132–138.
- Burnham KP, Anderson DR (2002) Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer Science & Business Media.
- Burnham KP, Anderson DR, Huyvaert KP (2011) AIC model selection and multimodel inference in behavioral ecology: some background, observations, and comparisons. *Behav Ecol Sociobiol* 65:23–35.
- Calcagno V, de Mazancourt C et al (2010) glmulti: an R package for easy automated model selection with (generalized) linear models. *J Stat Softw* 34:1–29.
- Cao Y, Hinz L, Metzke B, et al (2016) Modeling and mapping fish abundance across wadeable streams of Illinois, USA, based on landscape-level environmental variables. *Can J Fish Aquat Sci* 73:1031–1046.
- Carroll EL, Brooks L, Baker CS, et al (2015) Assessing the design and power of capture-recapture studies to estimate demographic parameters for the endangered oceanic humpback whale population. *Endanger Species Res* 28:147–162.
- Carlslake D, Townley S, Hodgson DJ (2009) Patterns and rules for sensitivity and elasticity in population projection matrices. *Ecology* 90:3258–3267.

- Carvalho P, Thomaz SM, Bini LM (2003) Effects of water level, abiotic and biotic factors on bacterioplankton abundance in lagoons of a tropical floodplain (Paraná River, Brazil). *Hydrobiologia* 510:67–74.
- Ceglar A, Toreti A, Lecerf R, et al (2016) Impact of meteorological drivers on regional inter-annual crop yield variability in France. *Agric For Meteorol* 216:58–67.
- Celik T, Braeu M, Bonelli S, et al (2015) Winter-green host-plants, litter quantity and vegetation structure are key determinants of habitat quality for *Coenonympha oedippus* in Europe. *J Insect Conserv* 19:359–375.
- Celis-Murillo A, Deppe JL, Allen MF (2009) Using soundscape recordings to estimate bird species abundance, richness, and composition. *J Field Ornithol* 80:64–78.
- Chao A (1987) Estimating the Population Size for Capture-Recapture Data with Unequal Catchability. *Biometrics* 43:783–791.
- Chao A, Lee S-M, Jeng S-L (1992) Estimating population size for capture-recapture data when capture probabilities vary by time and individual animal. *Biometrics* 48:201–216.
- Chikhi L, Sousa VC, Luisi P, et al (2010) The confounding effects of population structure, genetic diversity and the sampling scheme on the detection and quantification of population size changes. *Genetics* 186:983–995.
- Christianson D, Creel S (2008) Risk effects in elk: sex-specific responses in grazing and browsing due to predation risk from wolves. *Behav Ecol* 19:1258–1266.
- Ciechanowski M, Zajac T, Bilas A, Dunajski R (2007) Spatiotemporal variation in activity of bat species differing in hunting tactics: effects of weather, moonlight, food abundance, and structural clutter. *Can J Zool* 85:1249–1263.
- Ciuti S, Jensen WF, Nielsen SE, Boyce MS (2015) Predicting mule deer recruitment from climate oscillations for harvest management on the northern Great Plains: Predicting deer recruitment from climate indices. *J Wildl Manag* 79:1226–1238.
- Cleary KA, Waits LP, Finegan B (2016) Agricultural intensification alters bat assemblage composition and abundance in a dynamic Neotropical landscape. *Biotropica* 48:667–676.
- Clutton-Brock T, Sheldon BC (2010) Individuals and populations: the role of long-term, individual-based studies of animals in ecology and evolutionary biology. *Trends Ecol Evol* 25:562–573.
- Collinge SK, Forman RT (1998) A conceptual model of land conversion processes: predictions and evidence from a microlandscape experiment with grassland insects. *Oikos* 82:66–84.
- Conroy MJ, Runge JP, Barker RJ, et al (2008) Efficient estimation of abundance for patchily distributed populations via two-phase, adaptive sampling. *Ecology* 89:3362–3370.
- Conte A, Goffredo M, Ippoliti C, Meiswinkel R (2007) Influence of biotic and abiotic factors on the distribution and abundance of *Culicoides imicola* and the *Obsoletus* Complex in Italy. *Vet Parasitol* 150:333–344.
- Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001.
- Courchamp F, Berec L, Gascoigne J (2008) Allee effects in ecology and conservation. Oxford University Press.
- Courchamp F, Clutton-Brock T, Grenfell B (1999) Inverse density dependence and the Allee effect. *Trends Ecol Evol* 14:405–410.
- Cowan P, Forrester G, Warburton B (2013) Short-term welfare implications of capture-mark-recapture trapping of medium-sized mammals: the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*) as a case study. *Anim Welf* 22:423–428.
- Crespin L, Choquet R, Lima M, et al (2008) Is heterogeneity of catchability in capture–recapture studies a mere sampling artifact or a biologically relevant feature of the population? *Popul Ecol* 50:247–256.
- Crouse DT, Crowder LB, Caswell H (1987) A stage-based population model for loggerhead sea turtles and implications for Conservation. *Ecology* 68:1412–1423.

- Daly GL, Lei YD, Teixeira C, et al (2007) Accumulation of current-use pesticides in neotropical montane forests. *Environ Sci Technol* 41:1118–1123.
- Davison SP, Thomas RJ (2017) Apparent spring swarming behaviour of lesser horseshoe bats (*Rhinolophus hipposideros*). *Barbastella J Bat Res*.
- Dechmann DKN, Kranstauber B, Gibbs D, Wikelski M (2010) Group hunting — a reason for sociality in molossid bats? *Plos One* 5:e9012.
- Del Toro I, Silva RR, Ellison AM (2015) Predicted impacts of climatic change on ant functional diversity and distributions in eastern North American forests. *Divers Distrib* 21:781–791.
- Delignette-Muller ML, Dutang C (2014) fitdistrplus: An R package for fitting distributions. *J Stat Softw* 64:1–34.
- Devictor V, Julliard R, Jiguet F (2008) Distribution of specialist and generalist species along spatial gradients of habitat disturbance and fragmentation. *Oikos* 117:507–514.
- Di Pierro E, Bertolino S, Martinoli A, et al (2010) Estimating offspring production using capture-mark-recapture and genetic methods in red squirrels. *Ecol Res* 25:395–402.
- Dietz C, Dietz I, Ivanova T, Siemers BM (2006) Effects of forearm bands on horseshoe bats (*Chiroptera: Rhinolophidae*). *Acta Chiropterologica* 8:523–535.
- Dietz C, Nill D, Von Helversen Otto (2016) Handbuch der Fledermäuse. Europa und Nordwestafrika, 2nd edn. Kosmos.
- Dool SE, Puechmaille SJ, Dietz C, et al (2013) Phylogeography and postglacial recolonization of Europe by *Rhinolophus hipposideros*: evidence from multiple genetic markers. *Mol Ecol* 22:4055–4070.
- Dool SE, Puechmaille SJ, Kelleher C, et al (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.
- Dostal P (2007) Population dynamics of annuals in perennial grassland controlled by ants and environmental stochasticity. *J Veg Sci* 18:91–102.
- Downs NC, Cresswell WJ, Reason P, et al (2016a) Sex-specific habitat preferences of foraging and commuting lesser horseshoe bats *Rhinolophus hipposideros* (Borkhausen, 1797) in lowland England. *Acta Chiropterologica* 18:451–465.
- Downs NC, Cresswell WJ, Reason P, et al (2016b) Activity patterns and use of night roosts by lesser horseshoe bats *Rhinolophus hipposideros* (Borkhausen, 1797). *Acta Chiropterologica* 18:223–237.
- Downs NC, Racey PA (2006) The use by bats of habitat features in mixed farmland in Scotland. *Acta Chiropterologica* 8:169–185.
- Dugger KM, Forsman ED, Franklin AB, et al (2016) The effects of habitat, climate, and Barred Owls on long-term demography of Northern Spotted Owls. *Condor* 118:57–116.
- Eccard JA, Klemme I (2013) Reducing mortality of shrews in rodent live trapping - a method increasing live-trap selectivity with shrew exits. *Ann Zool Fenn* 50:371–376.
- Ecke F, Löfgren O, Sörlin D (2002) Population dynamics of small mammals in relation to forest age and structural habitat factors in northern Sweden. *J Appl Ecol* 39:781–792.
- Eggers U, Arens M, Firla M, Wallschlaeger D (2015) To fledge or not to fledge: factors influencing the number of eggs and the eggs-to-fledglings rate in White Storks *Ciconia ciconia* in an agricultural environment. *J Ornithol* 156:711–723.
- Ehrlen J, Morris WF, von Euler T, Dahlgren JP (2016) Advancing environmentally explicit structured population models of plants. *J Ecol* 104:292–305.
- Ellegren H, Galtier N (2016) Determinants of genetic diversity. *Nat Rev Gen* 17:422–433.
- Ewers RM, Didham RK (2006) Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. *Biol Rev* 81:117–142.
- Excoffier L, Dupanloup I, Huerta-Sánchez E, et al (2013) Robust demographic inference from genomic and SNP data. *PLoS Genet* 9:e1003905.

- Fagan WF, Holmes EE (2006) Quantifying the extinction vortex. *Ecol Lett* 9:51–60.
- Fahrig L (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34:487–515.
- Fairon J (1967) Vingt-cinq années de baguage des Cheiroptères en Belgique. *Bull L'Institut R Sci Nat Belg* 43:1–37.
- Falconer DS, Mackay TFC (1996) Introduction to quantitative genetics, 4th edn. Longman, Burnt Mill, Harlow, UK.
- Farcy O, Le Rouxel A, Queau S (2009) Activité et terrains de chasse du Petit rhinolophe (*Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800) en Bretagne, France. *Arvicola* 19:12–20.
- Fensome AG, 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.
- Fernandez-Vega J, Covey KR, Ashton MS (2017) Tamm Review: Large-scale infrequent disturbances and their role in regenerating shade-intolerant tree species in Mesoamerican rainforests: Implications for sustainable forest management. *For Ecol Manag* 395:48–68.
- Ferris H, Wilson LT (1987) Concepts and principles of population dynamics. *Vistas Nematol Commemoration Twenty-Fifth Anniv Soc Nematol* 372–376.
- Fischer J, Lindenmayer DB (2007) Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. *Glob Ecol Biogeogr* 16:265–280.
- Fischer J, Stott J, Law BS (2010) The disproportionate value of scattered trees. *Biol Conserv* 143:1564–1567.
- Fleischer T, Gampe J, Scheuerlein A, Kerth G (2017) Rare catastrophic events drive population dynamics in a bat species with negligible senescence. *Sci Rep* 7:7370.
- Flesch EP, Belt JJ (2017) Comparing citizen science and professional data to evaluate extrapolated mountain goat distribution models. *Ecosphere* 8:e01638.
- Flory SL, Clay K (2009) Invasive plant removal method determines native plant community responses. *J Appl Ecol* 46:434–442.
- Forman RTT (1995) Land mosaics. *Cambridge University presses*.
- Forrester TD, Wittmer HU (2013) A review of the population dynamics of mule deer and black-tailed deer *Odocoileus hemionus* in North America. *Mammal Rev* 43:292–308.
- Forsman A (2014) Effects of genotypic and phenotypic variation on establishment are important for conservation, invasion, and infection biology. *Proc Natl Acad Sci* 111:302–307.
- Forstmeier W, Schielzeth H (2011) Cryptic multiple hypotheses testing in linear models: overestimated effect sizes and the winner's curse. *Behav Ecol Sociobiol* 65:47–55.
- Forstmeier W, Wagenmakers E-J, Parker TH (2016) Detecting and avoiding likely false-positive findings – a practical guide. *Biol Rev* 92:1941–1968.
- Frankel OH, Soulé ME (1981) Conservation and Evolution. Cambridge University Press.
- Frankham R (2005) Genetics and extinction. *Biol Conserv* 126:131–140.
- Frankham R (1996) Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conserv Biol* 10:1500–1508.
- Frankham R (2015) Genetic rescue of small inbred populations: meta-analysis reveals large and consistent benefits of gene flow. *Mol Ecol* 24:2610–2618.
- Frankham R (2007) Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review. *Genet Res* 89:491–503.
- Frankham R, Briscoe DA, Ballou JD (2002) Introduction to conservation genetics. Cambridge university press.
- Frederiksen M, Lebreton J-D, Pradel R, et al (2014) Identifying links between vital rates and environment: a toolbox for the applied ecologist. *J Appl Ecol* 51:71–81.
- Frick WF, Rainey WE, Pierson ED (2007) Potential effects of environmental contamination on *Yuma Myotis* demography and population growth. *Ecol Appl* 17:1213–1222.

- Frick WF, Reynolds DS, Kunz TH (2010) Influence of climate and reproductive timing on demography of little brown myotis *Myotis lucifugus*. *J Anim Ecol* 79:128–136.
- Frick WF, Stepanian PM, Kelly JF, et al (2012) Climate and weather impact timing of emergence of bats. *PLoS ONE* 7:e42737.
- Froidevaux JSP, Boughey KL, Barlow KE, Jones G (2017) Factors driving population recovery of the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) in the UK: implications for conservation. *Biodivers Conserv* 26:1601–1621.
- Frost M, Bayliss-Brown G, Buckley P, et al (2016) A review of climate change and the implementation of marine biodiversity legislation in the United Kingdom. *Aquat Conserv-Mar Freshw Ecosyst* 26:576–595.
- Fuller AK, Sutherland CS, Royle JA, Hare MP (2016) Estimating population density and connectivity of American mink using spatial capture-recapture. *Ecol Appl* 26:1125–1135.
- Gaillard J-M, Festa-Bianchet M, Yoccoz NG, et al (2000) Temporal variation in fitness components and population dynamics of large herbivores. *Annu Rev Ecol Syst* 31:367–393.
- Gaisler J (1966) Reproduction in the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros hipposideros* Bechstein, 1800). *Bijdr Tot Dierkd* 36:45–62.
- Galaverni M, Palumbo D, Fabbri E, et al (2012) Monitoring wolves (*Canis lupus*) by non-invasive genetics and camera trapping: a small-scale pilot study. *Eur J Wildl Res* 58:47–58.
- Gaston KJ, Bennie J, Davies TW, Hopkins J (2013) The ecological impacts of nighttime light pollution: a mechanistic appraisal. *Biol Rev* 88:912–927.
- Geber MA (2008) To the edge: studies of species' range limits. *New Phytol* 178:228–230.
- Gedir JV, Cain JW, Harris G, Turnbull TT (2015) Effects of climate change on long-term population growth of pronghorn in an arid environment. *Ecosphere* 6:art189.
- Gervasi V, Boitani L, Paetkau D, et al (2017) Estimating survival in the Apennine brown bear accounting for uncertainty in age classification. *Popul Ecol* 59:119–130.
- Gervasi V, Broseth H, Gimenez O, et al (2016) Sharing data improves monitoring of trans-boundary populations: the case of wolverines in central Scandinavia. *Wildl Biol* 22:95–106.
- Giam X, Olden JD (2016) Quantifying variable importance in a multimodel inference framework. *Methods Ecol Evol* 7:388–397.
- Gilpin ME, Soule ME (1986) Minimum viable populations: processes of species extinction. In: Soule ME (ed) *Conservation biology: the science of scarcity and diversity*. Sinauer Associates Inc.
- Ginsberg JR, Milner-Gulland EJ (1994) Sex-biased harvesting and population dynamics in ungulates: implications for conservation and sustainable use. *Conserv Biol* 8:157–166.
- Girod C, Vitalis R, Leblois R, Fréville H (2011) Inferring population decline and expansion from microsatellite data: A simulation-based evaluation of the Msvr method. *Genetics* 188:165–179.
- Goiti U, Aihartza JR, Garin I (2004) Diet and prey selection in the Mediterranean horseshoe bat *Rhinolophus euryale* (*Chiroptera*, *Rhinolophidae*) during the pre-breeding season. *Mamm Mamm* 68:397–402.
- González-Suárez M, Revilla E (2013) Variability in life-history and ecological traits is a buffer against extinction in mammals. *Ecol Lett* 16:242–251.
- Goudet J (2005) hierfstat, a package for r to compute and test hierarchical F-statistics. *Mol Ecol Notes* 5:184–186.
- Gregory SD, Jones G (2010) Bats and Allee effects: When social behaviours go batty. *Biologist* 57:195–205.
- Griffin DR (1971) The importance of atmospheric attenuation for the echolocation of bats (*Chiroptera*). *Anim Behav* 19:55–61.
- Grindal SD, Collard TS, Brigham RM, Barclay RM (1992) The influence of precipitation on reproduction by *Myotis* bats in British Columbia. *Am Midl Nat* 128:339–344.

- Grouios CP, Manne LL (2009) Utility of measuring abundance versus consistent occupancy in predicting biodiversity persistence. *Conserv Biol* 23:1260–1269.
- Gunnell GF, Simmons NB (2012) Evolutionary history of bats: fossils, molecules and morphology. Cambridge University Press.
- Gunton RM, Marsh CJ, Moulherat S, et al (2017) Multicriterion trade-offs and synergies for spatial conservation planning. *J Appl Ecol* 54:903–913.
- Haddad NM, Brudvig LA, Clobert J, et al (2015) Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Sci Adv* 1:e1500052.
- Hakkarainen H, Mykra S, Kurki S, et al (2003) Habitat composition as a determinant of reproductive success of Tengmalm's owls under fluctuating food conditions. *Oikos* 100:162–171.
- Hall LS, Krausman PR, Morrison ML (1997) The habitat concept and a plea for standard terminology. *Wildl Soc Bull* 25:173–182.
- Hallmann CA, Sorg M, Jongejans E, et al (2017) More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *Plos One* 12:e0185809.
- Halpern BS, Pyke CR, Fox HE, et al (2006) Gaps and mismatches between global conservation priorities and spending. *Conserv Biol* 20:56–64.
- Hansen MM, Nielsen EE, Mensberg K-LD (2006) Underwater but not out of sight: genetic monitoring of effective population size in the endangered North Sea houting (*Coregonus oxyrhynchus*). *Can J Fish Aquat Sci* 63:780–787.
- Hanski I, Gilpin M (eds) (1996) Metapopulation dynamics, ecology, genetics, and evolution. Academic Press. New York.
- Harrington R, Clark SJ, Welham SJ, et al (2007) Environmental change and the phenology of European aphids. *Glob Change Biol* 13:1550–1564.
- Hartl DL, Clark AG, et al (1997) Principles of population genetics. Sinauer associates Sunderland.
- Hasan F, Ansari MS (2016) Temperature-dependent development and demography of *Zygogramma bicolorata* (Coleoptera: Chrysomelidae) on *Parthenium hysterophorus*. *Ann Appl Biol* 168:81–92.
- Hassell MP (1975) Density-dependence in single-species populations. *J Anim Ecol* 283–295.
- Haysom K, Dekker J, Russ J, et al (2013) European bat population trends: a prototype biodiversity indicator. Publications Office, Luxembourg.
- Hazelton PD, Grossman GD (2009) The effects of turbidity and an invasive species on foraging success of rosyside dace (*Clinostomus funduloides*). *Freshw Biol* 54:1977–1989.
- Heinänen S, Ronka M, von Numers M (2008) Modelling the occurrence and abundance of a colonial species, the arctic tern *Sterna paradisaea* in the archipelago of SW Finland. *Ecography* 31:601–611.
- Heinrichs JA, Bender DJ, Schumaker NH (2016) Habitat degradation and loss as key drivers of regional population extinction. *Ecol Model* 335:64–73.
- Herfindal I, van de Pol M, Nielsen JT, et al (2015) Climatic conditions cause complex patterns of covariation between demographic traits in a long-lived raptor. *J Anim Ecol* 84:702–711.
- Herrando S, Anton M, Sarda-Palomera F, et al (2014) Indicators of the impact of land use changes using large-scale bird surveys: Land abandonment in a Mediterranean region. *Ecol Indic* 45:235–244.
- Hinch SG, Collins NC, Harvey HH (1991) Relative abundance of littoral zone fishes: biotic interactions, abiotic factors, and postglacial colonization. *Ecology* 72:1314–1324.
- Hochachka WM, Dhondt AA (2000) Density-dependent decline of host abundance resulting from a new infectious disease. *Proc Natl Acad Sci* 97:5303–5306.
- Holland A, van der Merwe J (2016) Do river otters conform to habitat suitability assessments? *J Contemp Water Res Educ* 157:3–13.

- Holzhaider J, Kriner EH, Bernd-Ulric R, Zahn A (2002) Radio-tracking a Lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) in Bavaria: an experiment to locate roosts and foraging sites. *Myotis* 40:47–54.
- Horswill C, Matthiopoulos J, Green JA, et al (2014) Survival in macaroni penguins and the relative importance of different drivers: individual traits, predation pressure and environmental variability. *J Anim Ecol* 83:1057–1067.
- Horváth MB, Martínez-Cruz B, Negro JJ, et al (2005) An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. *J Avian Biol* 36:84–88.
- Hoying KM, Kunz TH (1998) Variation in size at birth and post-natal growth in the insectivorous bat *Pipistrellus subflavus* (Chiroptera: Vespertilionidae). *J Zool* 245:15–27.
- Hoyle SD, Pople AR, Toop GJ (2001) Mark–recapture may reveal more about ecology than about population trends: demography of a threatened ghost bat (*Macroderma gigas*) population. *Austral Ecol* 26:80–92.
- Hsiao C-J, Lin C-L, Lin T-Y, et al (2016) Imidacloprid toxicity impairs spatial memory of echolocation bats through neural apoptosis in hippocampal CA1 and medial entorhinal cortex areas. *NeuroReport* 27:462–468.
- Hughes AC, Satasook C, Bates PJJ, et al (2012) The projected effects of climatic and vegetation changes on the distribution and diversity of Southeast Asian bats. *Glob Change Biol* 18:1854–1865.
- Hughes AR, Inouye BD, Johnson MTJ, et al (2008) Ecological consequences of genetic diversity. *Ecol Lett* 11:609–623.
- Hunt TN, Bejder L, Allen SJ, et al (2017) Demographic characteristics of Australian humpback dolphins reveal important habitat toward the southwestern limit of their range. *Endanger Species Res* 32:71–88.
- Hunter Jr ML (1990) Wildlife, forests, and forestry. Principles of managing forests for biological diversity. Prentice Hall.
- Hunter Jr ML (1999) Maintaining biodiversity in forest ecosystems. Cambridge university press.
- Hunter Jr ML, Gibbs JP (2006) Fundamentals of conservation biology. John Wiley & Sons.
- Hutchinson G (1957) Concluding Remarks. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 22:415–427.
- Hutterer R, Ivanova T, Meyer-Cords CH, Rodrigues L (2005) Bat migration in Europe. A review of banding data and literature. Federal Agency for Nature Conservation, Bonn.
- Jan P-L, Farcy O, Boireau J, et al (2017) Which temporal resolution to consider when investigating the impact of climatic data on population dynamics? The case of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*). *Oecologia* 184:749–761.
- Jan P-L, Zarzoso-Lacoste D, Fourcy D, et al (in prep.) Do studies on population-level sensitivity to landscape variables provide similar results to individual-based habitat selection surveys? A case study with a woodland bat species.
- Jaquière J, Guillaume F, Perrin N (2009) Predicting the deleterious effects of mutation load in fragmented populations. *Conserv Biol* 23:207–218.
- Järvinen O, Ranta E (1987) Patterns and processes in species assemblages on Northern Baltic islands. In: *Annales Zoologici Fennici*. JSTOR.
- Jeffreys H (2000) Theory of Probability, 3rd edn. Oxford Classic Texts in the Physical Sciences.
- Jombart T (2008) ADEGENET: A R Package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24:1403–1405.
- Jones G, Jacobs DS, Kunz TH, et al (2009) Carpe noctem: the importance of bats as bioindicators. *Endanger Species Res* 8:93–115.
- Jones JPG (2011) Monitoring species abundance and distribution at the landscape scale. *J Appl Ecol* 48:9–13.
- Jongman RHG, Bouwma IM, Griffioen A, et al (2011) The Pan European Ecological Network: PEEN. *Landsc Ecol* 26:311–326.

- Jonzén N, Lundberg P, Ranta E, Kaitala V (2002) The irreducible uncertainty of the demography–environment interaction in ecology. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 269:221–225.
- Josserand R, Dupoue A, Agostini S, et al (2017) Habitat degradation increases stress-hormone levels during the breeding season, and decreases survival and reproduction in adult common lizards. *Oecologia* 184:75–86.
- Kanno Y, Pregler KC, Hitt NP, et al (2016) Seasonal temperature and precipitation regulate brook trout young-of-the-year abundance and population dynamics. *Freshw Biol* 61:88–99.
- Kawecki TJ (2008) Adaptation to marginal habitats. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 39:321–342.
- Kay GM, Barton PS, Driscoll DA, et al (2016) Incorporating regional-scale ecological knowledge to improve the effectiveness of large-scale conservation programmes. *Anim Conserv* 19:515–525.
- Kayikcioglu A, Zahn A (2004) High temperatures and the use of satellite roosts in *Rhinolophus hipposideros*. *Mamm Biol* 69:337–341.
- Kays RW, Gompper ME, Ray JC (2008) Landscape ecology of eastern coyotes based on large-scale estimates of abundance. *Ecol Appl* 18:1014–1027.
- Kearney M, Porter W (2009) Mechanistic niche modelling: combining physiological and spatial data to predict species' ranges. *Ecol Lett* 12:334–350.
- Kearney MR, Matzelle A, Helmuth B (2012) Biomechanics meets the ecological niche: the importance of temporal data resolution. *J Exp Biol* 215:1422–1424.
- Kelly BC, Ikonomou MG, Blair JD, et al (2007) Food web–specific biomagnification of persistent organic pollutants. *Science* 317:236–239.
- Kendall BE, Fox GA (2002) Variation among individuals and reduced demographic stochasticity. *Conserv Biol* 16:109–116.
- Kerbiriou C, Julien JF, Monsarrat S, et al (2015) Information on population trends and biological constraints from bat counts in roost cavities: a 22-year case study of a pipistrelle bats (*Pipistrellus pipistrellus* Schreber) hibernaculum. *Wildl Res* 42:35–43.
- Kerth G, Morf L (2004) Behavioural and genetic data suggest that Bechstein's bats predominantly mate outside the breeding habitat. *Ethology* 110:987–999.
- Kerth G, Petit E (2005) Colonization and dispersal in a social species, the Bechstein's bat (*Myotis bechsteinii*). *Mol Ecol* 14:3943–3950.
- Killilea ME, Swei A, Lane RS, et al (2008) Spatial dynamics of Lyme disease: a review. *EcoHealth* 5:167–195.
- King R, Brooks SP (2008) On the bayesian estimation of a closed population size in the presence of heterogeneity and model uncertainty. *Biometrics* 64:816–824.
- Kingsolver JG (1989) Weather and the population dynamics of insects: integrating physiological and population ecology. *Physiol Zool* 62:314–334.
- Korpimäki E (1993) Regulation of multiannual vole cycles by density-dependent avian and mammalian predation? *Oikos* 66:359–363.
- Krief S, Berny P, Gumisiriza F, et al (2017) Agricultural expansion as risk to endangered wildlife: Pesticide exposure in wild chimpanzees and baboons displaying facial dysplasia. *Sci Total Environ* 598:647–656.
- Kunz TH (1982) Roosting ecology of bats. In: *Ecology of bats*. Springer, Boston, MA.
- Kunz TH, Braun de Torrez E, Bauer D, et al (2011) Ecosystem services provided by bats. *Ann NY Acad Sci* 1223:1–38.
- Kuussaari M, Bommarco R, Heikkinen RK, et al (2009) Extinction debt: a challenge for biodiversity conservation. *Trends Ecol Evol* 24:564–571.
- Lampa S, Henle K, Klenke R, et al (2013) How to overcome genotyping errors in non-invasive genetic mark-recapture population size estimation—a review of available methods illustrated by a case study. *J Wildl Manag* 77:1490–1511.

- Lamy C, Dubreuil V (2010) Impact des sécheresses en Bretagne sur le bilan hydrique : modélisation à partir du climat d'années passées. In: *Risques et changement climatique*. AIC-COS.
- Lande R (1988) Genetics and demography in biological conservation. *Science* 241:1455-1460.
- Lande R (1993) Risks of population extinction from demographic and environmental stochasticity and random catastrophes. *Am Nat* 142:911-927.
- Lankinen A, Smith HG, Andersson S, Madjidian JA (2016) Selection on pollen and pistil traits during pollen competition is affected by both sexual conflict and mixed mating in a self-compatible herb. *Am J Bot* 103:541-552.
- Laurance WF, Useche DC (2009) Environmental synergisms and extinctions of tropical species. *Conserv Biol* 23:1427-1437.
- Le Rest K, Pinaud D, Bretagnolle V (2015) Volunteer-based surveys offer enhanced opportunities for biodiversity monitoring across broad spatial extent. *Ecol Inform* 30:313-317.
- Le Roux ML, Redon M, Archaux F, et al (2017) Conservation planning with spatially explicit models: a case for horseshoe bats in complex mountain landscapes. *Landsc Ecol* 32:1005-1021.
- Leigh C, Bush A, Harrison ET, et al (2015) Ecological effects of extreme climatic events on riverine ecosystems: insights from Australia. *Freshw Biol* 60:2620-2638.
- Leite M de S, Tambosi LR, Romitelli I, Metzger JP (2013) Landscape ecology perspective in restoration projects for biodiversity conservation: a review. *Nat Conserv* 11:108-118.
- Letcher BH, Schueller P, Bassar RD, et al (2015) Robust estimates of environmental effects on population vital rates: an integrated capture-recapture model of seasonal brook trout growth, survival and movement in a stream network. *J Anim Ecol* 84:337-352.
- Lettink M, Armstrong DP (2003) An introduction to using mark-recapture analysis for monitoring threatened species. *Dep Conserv Tech Ser A* 28:5-32.
- Lewis SL, Edwards DP, Galbraith D (2015) Increasing human dominance of tropical forests. *Science* 349:827-832.
- Lindenmayer DB (1999) Future directions for biodiversity conservation in managed forests: indicator species, impact studies and monitoring programs. *For Ecol Manag* 115:277-287.
- Lindenmayer DB, Clark TW, Lacy RC, Thomas VC (1993) Population viability analysis as a tool in wildlife conservation policy: with reference to Australia. *Environ Manage* 17:745-758.
- Link WA, Barker RJ (2006) Model weights and the foundations of multimodel inference. *Ecology* 87:2626-2635.
- Lino A, Fonseca C, Goiti U, Pereira MJR (2014) Prey selection by *Rhinolophus hipposideros* (Chiroptera, Rhinolophidae) in a modified forest in Southwest Europe. *Acta Chiropterologica* 16:75-83.
- López-Roig M, Serra-Cobo J (2014) Impact of human disturbance, density, and environmental conditions on the survival probabilities of pipistrelle bat (*Pipistrellus pipistrellus*). *Popul Ecol* 56:471-480.
- Lowe W H, Allendorf FW (2010) What can genetics tell us about population connectivity? *Mol Ecol* 19:3038-3051.
- Lučan RK, Weiser M, Hanák V (2013) Contrasting effects of climate change on the timing of reproduction and reproductive success of a temperate insectivorous bat: Climate change and reproduction of a temperate bat. *J Zool* 290:151-159.
- Luftl S, Freitag B, Deutz A, et al (2005) Concentrations of organochlorine pesticides and PCBs in the liver of European bats (*Microchiroptera*). *Fresenius Environ Bull* 14:167-172.
- Luikart G, Allendorf FW, Cornuet JM, Sherwin WB (1998) Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *J Hered* 89:238-247.
- Lukacs PM, Burnham KP (2005) Research notes: Estimating population size from DNA-based closed capture-recapture data incorporating genotyping error. *J Wildl Manag* 69:396-403.
- Lukacs PM, Burnham KP, Anderson DR (2010) Model selection bias and Freedman's paradox. *Ann Inst Stat Math* 62:117-125.

- Lumsden LF, Bennett AF (2005) Scattered trees in rural landscapes: foraging habitat for insectivorous bats in south-eastern Australia. *Biol Conserv* 122:205–222.
- Lynch M, Conery J, Burger R (1995) Mutation accumulation and the extinction of small populations. *Am Nat* 146:489–518.
- Lyons JE, Collazo JA, Herring G (2016) Testing assumptions for conservation of migratory shorebirds and coastal managed wetlands. *Wetl Ecol Manag* 24:507–520.
- MacNearney D, Pigeon K, Stenhouse G, et al (2016) Heading for the hills? Evaluating spatial distribution of woodland caribou in response to a growing anthropogenic disturbance footprint. *Ecol Evol* 6:6484–6509.
- Mair L, Harrison PJ, Jonsson M, et al (2017) Evaluating citizen science data for forecasting species responses to national forest management. *Ecol Evol* 7:368–378.
- Makelainen S, Schrader M, Hanski IK (2015) Factors explaining the occurrence of the Siberian flying squirrel in urban forest landscape. *Urban Ecosyst* 18:223–238.
- Mance G (2012) Pollution threat of heavy metals in aquatic environments. Springer Science & Business Media.
- Marescot L, Forrester TD, Casady DS, Wittmer HU (2015) Using multistate capture-mark-recapture models to quantify effects of predation on age-specific survival and population growth in black-tailed deer. *Popul Ecol* 57:185–197.
- Markert JA, Champlin DM, Gutjahr-Gobell R, et al (2010) Population genetic diversity and fitness in multiple environments. *BMC Evol Biol* 10:205.
- Martin J, Tolon V, Van Moorter B, et al (2009) On the use of telemetry in habitat selection studies. Nova Science Publishers, Inc, Hauppauge.
- Martinez JA, Martinez JE, Zuberogoitia I, et al (2003) Environmental impact assessment on raptor populations: difficulties in implementation and a search for solutions. *Ardeola* 50:85–102.
- Marucco F, Boitani L, Pletscher DH, Schwartz MK (2011) Bridging the gaps between non-invasive genetic sampling and population parameter estimation. *Eur J Wildl Res* 57:1–13.
- Marucco F, Vucetich LM, Peterson RO, et al (2012) Evaluating the efficacy of non-invasive genetic methods and estimating wolf survival during a ten-year period. *Conserv Genet* 13:1611–1622.
- Masciocchi M, Pereira AJ, Corley JC (2016) Local dynamics of worker activity of the invasive *Vespula germanica* and *V. vulgaris* (Hymenoptera: Vespidae) wasps in Argentina: Activity fluctuations of *Vespula* spp. in Argentina. *Ecol Entomol* 41:105–111.
- Matondo BN, Benitez JP, Dierckx A, et al (2017) Assessment of the Entering Stock, Migration Dynamics and Fish Pass Fidelity of European Eel in the Belgian Meuse River. *River Res Appl* 33:292–301.
- McComb W, Lindenmayer D (1999) Dying, dead, and down trees. In: *Maint Biodivers For Ecosyst*.
- McCormick MI, Chivers DP, Allan BJM, Ferrari MCO (2017) Habitat degradation disrupts neophobia in juvenile coral reef fish. *Glob Change Biol* 23:719–727.
- McCormick MI, Lonnstedt OM (2016) Disrupted learning: habitat degradation impairs crucial antipredator responses in naive prey. *Proc R Soc B-Biol Sci* 283:20160441.
- McDonald TL, Amstrup SC, Manly BFJ (2003) Tag loss can bias Jolly-Seber capture-recapture estimates. *Wildl Soc Bull* 31:814–822.
- McLean N, Lawson CR, Leech DI, van de Pol M (2016) Predicting when climate-driven phenotypic change affects population dynamics. *Ecol Lett*. 19:595–608.
- Metcalfe JD, Le Quesne WJF, Cheung WWL, Righton DA (2012) Conservation physiology for applied management of marine fish: an overview with perspectives on the role and value of telemetry. *Philos Trans R Soc B-Biol Sci* 367:1746–1756.
- Metz J, Tielboerger K (2016) Spatial and temporal aridity gradients provide poor proxies for plant-plant interactions under climate change: a large-scale experiment. *Funct Ecol* 30:20–29.
- Meyer S, Robertson BC, Chilvers BL, Krkosek M (2015) Population dynamics reveal conservation priorities of the threatened New Zealand sea lion *Phocarcos hookeri*. *Mar Biol* 162:1587–1596.

- Millennium Ecosystem Assessment (2005) Ecosystems and human well-being: synthesis. Island Press, Washington, DC.
- Miller CR, Waits LP (2003) The history of effective population size and genetic diversity in the Yellowstone grizzly (*Ursus arctos*): Implications for conservation. *Proc Natl Acad Sci* 100:4334–4339.
- Miller GT, Spoolman S (2011) Essentials of ecology. Cengage Learning.
- Moilanen A, Nieminen M (2002) Simple connectivity measures in spatial ecology. *Ecology*. 83:1131–1145.
- Møller AP, Jennions MD (2002) How much variance can be explained by ecologists and evolutionary biologists? *Oecologia* 132:492–500.
- Moore PG (2002) Mammals in intertidal and maritime ecosystems: Interactions, impacts and implications. *Oceanogr Mar Biol* 40:491–608.
- Morehouse AT, Boyce MS (2016) Grizzly bears without borders: Spatially explicit capture-recapture in southwestern Alberta. *J Wildl Manag* 80:1152–1166.
- Mori AS, Lertzman KP, Gustafsson L (2017) Biodiversity and ecosystem services in forest ecosystems: a research agenda for applied forest ecology. *J Appl Ecol* 54:12–27.
- Morin DJ, Kelly MJ, Waits LP (2016) Monitoring coyote population dynamics with fecal DNA and Spatial Capture-Recapture. *J Wildl Manag* 80:824–836.
- Motte G, Libois R (2002) Conservation of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros* Bechstein, 1800) (*Mammalia: Chiroptera*) in Belgium. A case study of feeding habitat requirements. *Belgian Journal of Zoology*. 132:49-54.
- Muneza AB, Linden DW, Montgomery RA, et al (2017) Examining disease prevalence for species of conservation concern using non-invasive spatial capture-recapture techniques. *J Appl Ecol* 54:709–717.
- Muratet A, Fontaine B (2015) Contrasting impacts of pesticides on butterflies and bumblebees in private gardens in France. *Biol Conserv* 182:148–154.
- Nakagawa S, Schielzeth H (2013) A general and simple method for obtaining R^2 from generalized linear mixed-effects models. *Methods Ecol Evol* 4:133–142.
- Nathan R, Klein EK, Robledo-Arnuncio JJ, Revilla E (2012) Dispersal kernels. In: *Dispersal Ecology and Evolution* 187–210.
- Neaves LE, Eales J, Whitlock R, et al (2015) The fitness consequences of inbreeding in natural populations and their implications for species conservation – a systematic map. *Environ Evid* 4:5.
- Nichols JD (1992) Capture-recapture models. *BioScience* 42:94–102.
- Nichols RA, Hewitt GM (1994) The genetic consequences of long distance dispersal during colonization. *Heredity* 72:312–317.
- Nilsson C, Berggren K (2000) Alterations of riparian ecosystems caused by river regulation: Dam operations have caused global-scale ecological changes in riparian ecosystems. *BioScience* 50:783–792.
- Norquay KJO, Martinez-Nuñez F, Dubois JE, et al (2013) Long-distance movements of little brown bats (*Myotis lucifugus*). *J Mammal* 94:506–515.
- Nouvellet P, Newman C, Buesching CD, Macdonald DW (2013) A multi-metric approach to investigate the effects of weather conditions on the demographic of a terrestrial mammal, the european badger (*Meles meles*). *PLoS ONE* 8:e68116.
- Ocana FA, de Jesus-Navarrete A, de Jesus-Carrillo RM, Oliva-Rivera JJ (2016) Effects of human disturbance on the population dynamics of *Ocypode quadrata* (*Decapoda: Ocypodidae*) in beaches of the Mexican Caribbean. *Rev Biol Trop* 64:1625–1641.
- Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Kloas W, et al (2009) A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 364:2047–2062.

- O'Grady JJ, Brook BW, Reed DH, et al (2006) Realistic levels of inbreeding depression strongly affect extinction risk in wild populations. *Biol Conserv* 133:42-51.
- O'Hara RB, Kotze DJ (2010) Do not log-transform count data. *Methods Ecol Evol* 1:118-122.
- Ohlendorf B (1997) Zur Situation der Hufeisennasen in Europa. IFA, Berlin.
- Oli MK, Dobson FS (2003) The relative importance of life-history variables to population growth rate in mammals: Cole's prediction revisited. *Am Nat* 161:422-440.
- Olivier F, Wotherspoon SJ (2006) Modelling habitat selection using presence-only data: Case study of a colonial hollow nesting bird, the snow petrel. *Ecol Model* 195:187-204.
- Olson DM, Dinerstein E, Powell GVN, Wikramanayake ED (2002) Conservation biology for the biodiversity crisis. *Conserv Biol* 16:1-3.
- O'Shea TJ, Cryan PM, Hayman DT, et al (2016) Multiple mortality events in bats: a global review. *Mammal Rev* 46:175-190.
- O'Shea TJ, Ellison LE, Stanley TR (2004) Survival estimation in bats: historical overview, critical appraisal, and suggestions for new approaches. In: *Sampling rare or elusive species: concepts, designs, and techniques for estimating population parameters*. Island Press, Washington.
- O'Shea TJ, Ellison LE, Stanley TR (2011) Adult survival and population growth rate in Colorado big brown bats (*Eptesicus fuscus*). *J Mammal* 92:433-443.
- Otis DL, Burnham KP, White GC, Anderson DR (1978) Statistical inference from capture data on closed animal populations. *Wildl Monogr* 62:3-135.
- Ovaskainen O, Meerson B (2010) Stochastic models of population extinction. *Trends Ecol Evol* 25:643-652.
- Palomares F, Adrados B, Zanin M, et al (2017) A non-invasive faecal survey for the study of spatial ecology and kinship of solitary felids in the Virua National Park, Amazon Basin. *Mammal Res* 62:241-249.
- Palstra FP, Ruzzante DE (2008) Genetic estimates of contemporary effective population size: what can they tell us about the importance of genetic stochasticity for wild population persistence? *Mol Ecol* 17:3428-3447.
- Parent CJ, Hernández F, Brennan LA, et al (2016) Northern bobwhite abundance in relation to precipitation and landscape structure: Mapping Northern Bobwhite. *J Wildl Manag* 80:7-18.
- Parsons KN, Jones G (2003) Dispersion and habitat use by *Myotis daubentonii* and *Myotis nattereri* during the swarming season: implications for conservation. *Anim Conserv* 6:283-290.
- Pebesma EJ (2004) Multivariable geostatistics in S: the gstat package. *Comput Geosci* 30:683-691.
- Pe'er G, Saltz D, Thulke HH, Motro U (2004) Response to topography in a hilltopping butterfly and implications for modelling nonrandom dispersal. *Anim Behav* 68:825-839.
- Peery MZ, Kirby R, Reid BN, et al (2012) Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines. *Mol Ecol* 21:3403-3418.
- Peron G, Gaillard J-M, Barbraud C, et al (2016) Evidence of reduced individual heterogeneity in adult survival of long-lived species. *Evolution* 70:2909-2914.
- Perrier C, Ferchaud A-L, Sirois P, et al (2017) Do genetic drift and accumulation of deleterious mutations preclude adaptation? Empirical investigation using RADseq in a northern lacustrine fish. *Mol Ecol*.
- Perrimond B (2015) Les variations climatiques régionales observées et potentielles à l'échelle de 2 zones ateliers: Alpes et Armorique. Ph.D, Communauté d'universités et d'établissements Université Grenoble Alpes.
- Peterman WE, Semlitsch RD (2014) Spatial variation in water loss predicts terrestrial salamander distribution and population dynamics. *Oecologia* 176:357-369.
- Petit E, Le Texier E, Farcy O (2014) Suivi démographique de quatre espèces patrimoniales en Bretagne : analyse statistique de 11 années de comptage. *Symbioses* 32:63-67.

- Petit E, Valiere N (2006) Contributed papers: estimating population size with noninvasive capture-mark-recapture data. *Conserv Biol* 20:1062–1073.
- Pisa LW, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, et al (2015) Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environ Sci Pollut Res* 22:68–102.
- Plummer M et al (2003) JAGS: A program for analysis of Bayesian graphical models using Gibbs sampling. In: *Proceedings of the 3rd international workshop on distributed statistical computing*. Vienna, Austria, p 125.
- Pollock KH (1976) Building models of capture-recapture experiments. *J R Stat Soc Ser Stat* 25:253–259.
- Powell RA, Proulx G (2003) Trapping and marking terrestrial mammals for research: integrating ethics, performance criteria, techniques, and common sense. *Illar J* 44:259–276.
- Pradel R (1996) Utilization of capture-mark-recapture for the study of recruitment and population growth rate. *Biometrics* 52:703–709.
- Pradel R (2005) Multievent: an extension of multistate capture-recapture models to uncertain states. *Biometrics* 61:442–447.
- Pradel R, Choquet R, Lima MA, et al (2010) Estimating population growth rate from capture–recapture data in presence of capture heterogeneity. *J Agric Biol Environ Stat* 15:248–258.
- Primack RB (2006) Essentials of conservation biology. Sinauer Associates.
- Proctor MF, McLellan BN, Strobeck C (2002) Population fragmentation of grizzly bears in southeastern British Columbia, Canada. *Ursus* 13:153–160.
- Puechmaille S, Mathy G, Petit E (2005) Characterization of 14 polymorphic microsatellite loci for the lesser horseshoe bat, *Rhinolophus hipposideros* (Rhinolophidae, Chiroptera). *Mol Ecol Notes* 5:941–944.
- Puechmaille SJ, Mathy G, Petit EJ (2007) Good DNA from bat droppings. *Acta Chiropterologica* 9:269–276.
- Puechmaille SJ, Petit EJ (2007) Empirical evaluation of non-invasive capture-mark-recapture estimation of population size based on a single sampling session: Non-invasive capture-mark-recapture. *J Appl Ecol* 44:843–852.
- R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria
- Radchuk V, Johst K, Groeneveld J, et al (2014) Appropriate resolution in time and model structure for population viability analysis: Insights from a butterfly metapopulation. *Biol Conserv* 169:345–354.
- Rainho A, Palmeirim JM (2011) The importance of distance to resources in the spatial modelling of bat foraging habitat. *PLoS One* 6:e19227.
- Ray D, Behera MD, Jacob J (2016) Predicting the distribution of rubber trees (*Hevea brasiliensis*) through ecological niche modelling with climate, soil, topography and socioeconomic factors. *Ecol Res* 31:75–91.
- Rebelo H, Tarroso P, Jones G (2010) Predicted impact of climate change on European bats in relation to their biogeographic patterns. *Glob Change Biol* 16:561–576.
- Reed DH (2005) Relationship between population size and fitness. *Conserv Biol* 19:563–568.
- Reed DH, Frankham R (2003) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conserv Biol* 17:230–237.
- Reiter G (2007) The importance of woodland for *Rhinolophus hipposideros* (Chiroptera, Rhinolophidae) in Austria. *Mamm Mamm* 68:403–410.
- Reiter G (2004a) Postnatal growth and reproductive biology of *Rhinolophus hipposideros* (Chiroptera: Rhinolophidae). *J Zool* 262:231–241.
- Reiter G (2004b) The importance of woodland for *Rhinolophus hipposideros* (Chiroptera, Rhinolophidae) in Austria. *Mamm Mamm* 68:403–410.

- Reiter G, Pölzer E, Mixanig H, et al (2013) Impact of landscape fragmentation on a specialised woodland bat, *Rhinolophus hipposideros*. *Mamm Biol* 78:283–289.
- Reusch TBH, Ehlers A, Hämmerli A, Worm B (2005) Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:2826–2831.
- Rich TCG (2006) Floristic changes in vascular plants in the British Isles: geographical and temporal variation in botanical activity. *Bot J Linn Soc* 152:303–330.
- Richardson DM (1998) Forestry Trees as Invasive Aliens. *Conserv Biol* 12:18–26.
- Ries L, Fletcher Jr RJ, Battin J, Sisk TD (2004) Ecological responses to habitat edges: mechanisms, models, and variability explained. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 35:491–522.
- Roberts JH, Anderson GB, Angermeier PL (2016) A long-term study of ecological impacts of river channelization on the population of an endangered fish: lessons learned for assessment and restoration. *Water* 8:240.
- Romiti F, Bissattini AM, Buono V, et al (2017) Photographic identification method (PIM) using natural body marks: A simple tool to make a long story short. *Zool Anz* 266:136–147.
- Rossiter SJ, Jones G, Ransome RD, Barratt EM (2001) Outbreeding increases offspring survival in wild greater horseshoe bats (*Rhinolophus ferrumequinum*). *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 268:1055–1061.
- Rossiter SJ, Jones G, Ransome RD, Barratt EM (2002) Relatedness structure and kin-biased foraging in the greater horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*). *Behav Ecol Sociobiol* 51:510–518.
- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* 145:1219–1228.
- Royle JA, Nichols JD (2003) Estimating abundance from repeated presence–absence data or point counts. *Ecology* 84:777–790.
- Russo D, Cistrone L, Garonna AP, Jones G (2010) Reconsidering the importance of harvested forests for the conservation of tree-dwelling bats. *Biodivers Conserv* 19:2501–2515.
- Ryan TP (1997) Modern regression methods. Wiley.
- Saccheri I, Kuussaari M, Kankare M, et al (1998) Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature* 392:491–494.
- Sæther B-E (1997) Environmental stochasticity and population dynamics of large herbivores: a search for mechanisms. *Trends Ecol Evol* 12:143–149.
- Sæther BE, Sutherland WJ, Engen S (2004) Climate influences on avian population dynamics. In: Moller AP, Fielder W, Berthold P (eds) *Birds and Climate Change*. Academic Press Ltd-Elsevier Science Ltd, London, pp 185–209.
- Sæther B-E, Tufto J, Engen S, et al (2000) Population dynamical consequences of climate change for a small temperate songbird. *Science* 287:854–856.
- Sagarin R, Pauchard A (2010) Observational approaches in ecology open new ground in a changing world. *Front Ecol Environ* 8:379–386.
- Salz A, Fartmann T (2017) Larval habitat preferences of a threatened butterfly species in heavy-metal grasslands. *J Insect Conserv* 21:129–136.
- Sanderson EW, Jaiteh M, Levy MA, et al (2002) The Human Footprint and the Last of the Wild. *BioScience* 52:891–904.
- Santini L, Boitani L, Maiorano L, Rondinini C (2016) Effectiveness of Protected Areas in Conserving Large Carnivores in Europe. In: *Protected Areas*. John Wiley & Sons, Ltd, pp 122–133.
- Satterthwaite WH, Kitaysky AS, Mangel M (2012) Linking climate variability, productivity and stress to demography in a long-lived seabird. *Mar Ecol Prog Ser* 454:221–235.
- Schaub M, Abadi F (2011) Integrated population models: a novel analysis framework for deeper insights into population dynamics. *J Ornithol* 152:227–237.

- Schaub M, Aebischer A, Gimenez O, et al (2010) Massive immigration balances high anthropogenic mortality in a stable eagle owl population: Lessons for conservation. *Biol Conserv* 143:1911–1918.
- Schaub M, Gimenez O, Sierro A, Arlettaz R (2007) Use of integrated modeling to enhance estimates of population dynamics obtained from limited data. *Conserv Biol J Soc* 21:945–955.
- Scheepens JF, Rauschkolb R, Ziegler R, et al (2017) Genotypic diversity and environmental variability affect the invasibility of experimental plant populations. *Oikos*.
- Schleuning M, Matthies D (2009) Habitat change and plant demography: assessing the extinction risk of a formerly common grassland perennial. *Conserv Biol* 23:174–183.
- Schofield H, Messenger J, Birks J, Jermyn D (2002) Foraging and roosting behaviour of lesser horseshoe bats at the Ciliau, Radnor. Vincent Wildlife Trust, Ledbury.
- Schofield HW (1996) The ecology and conservation biology of *Rhinolophus hipposideros*, the lesser horseshoe bat. Ph.D., University of Aberdeen.
- Schorcht W, Bontadina F, Schaub M (2009) Variation of adult survival drives population dynamics in a migrating forest bat. *J Anim Ecol* 78:1182–1190.
- Seckerdieck A, Walther B, Halle S (2005) Alternative use of two different roost types by a maternity colony of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*). *Mamm Biol* 70:201–209.
- Şekercioğlu ÇH, Primack RB, Wormworth J (2012) The effects of climate change on tropical birds. *Biol Conserv* 148:1–18.
- Sendor T, Simon M (2003) Population dynamics of the pipistrelle bat: effects of sex, age and winter weather on seasonal survival. *J Anim Ecol* 72:308–320.
- Sfenthourakis S, Triantis KA (2009) Habitat diversity, ecological requirements of species and the Small Island Effect. *Divers Distrib* 15:131–140.
- Shaffer ML (1981) Minimum population sizes for species conservation. *BioScience* 31:131–134.
- Sharma S, Dutta T, Maldonado JE, et al (2013) Forest corridors maintain historical gene flow in a tiger metapopulation in the highlands of central India. *Proc R Soc B* 280:20131506.
- Shirley MH, Austin JD (2017) Did late pleistocene climate change result in parallel genetic structure and demographic bottlenecks in sympatric Central African crocodiles, *Mecistops* and *Osteolaemus*? *Mol Ecol*.
- Shore RF, Rattner BA (2001) Ecotoxicology of wild mammals. In: *Society of Environmental Toxicology and Chemistry, annual meeting abstract book*. Wiley.
- Silver SC, Ostro LE, Marsh LK, et al (2004) The use of camera traps for estimating jaguar *Panthera onca* abundance and density using capture/recapture analysis. *Oryx* 38:148–154.
- Singh A, Agrawal M, et al (2007) Acid rain and its ecological consequences. *J Environ Biol* 29:15–24.
- Singh JS (2002) The biodiversity crisis: A multifaceted review. *Curr Sci* 82:638–647.
- Smith PG, Racey Pa (2008) Natterer's bats prefer foraging in broad-leaved woodlands and river corridors. *J Zool* 275:314–322.
- Smith VH, Schindler DW (2009) Eutrophication science: where do we go from here? *Trends Ecol Evol* 24:201–207.
- Sobek S, Goßner MM, Scherber C, et al (2009) Tree diversity drives abundance and spatiotemporal β -diversity of true bugs (*Heteroptera*). *Ecol Entomol* 34:772–782.
- Spielman D, Brook BW, Frankham R (2004) Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:15261–15264.
- Spiller DA, Schoener TW (2008) Climatic control of trophic interaction strength: the effect of lizards on spiders. *Oecologia* 154:763–771.
- Stanley TR, Royle JA, Vojta (2005) Estimating site occupancy and abundance using indirect detection indices. *J Wildl Manag* 69:874–883.
- Stephens PA, Sutherland WJ (1999) Consequences of the Allee effect for behaviour, ecology and conservation. *Trends Ecol Evol* 14:401–405.

- Stephens PA, Sutherland WJ, Freckleton RP (1999) What is the Allee effect? *Oikos* 87:185–190.
- Steyer K, Kraus RHS, Moelich T, et al (2016) Large-scale genetic census of an elusive carnivore, the European wildcat (*Felis s. silvestris*). *Conserv Genet* 17:1183–1199.
- Stokland JN, Siitonen J, Jonsson BG (2012) Biodiversity in dead wood. Cambridge University Press.
- Stone EL, Jones G, Harris S (2009) Street lighting disturbs commuting bats. *Curr Biol* 19:1123–1127.
- Storz JF, Beaumont MA (2002) Testing for genetic evidence of population expansion and contraction: an empirical analysis of microsatellite DNA variation using a hierarchical bayesian model. *Evolution* 56:154–166.
- Streit B, Winter S, Nagel A (1995) Bioaccumulation of selected organochlorines in Bats and Tits: Influence of chemistry and biology. *Environ Sci Pollut Res* 2:194–199.
- Struebig MJ, Kingston T, Petit EJ, et al (2011) Parallel declines in species and genetic diversity in tropical forest fragments. *Ecol Lett* 14:582–590.
- Stubben C, Milligan B, et al (2007) Estimating and analyzing demographic models using the popbio package in R. *J Stat Softw* 22:1–23.
- Szűcs M, Melbourne BA, Tuff T, et al (2017) Genetic and demographic founder effects have long-term fitness consequences for colonising populations. *Ecol Lett* 20:436–444.
- Taylor BL, Dizon AE (1999) First policy then science: why a management unit based solely on genetic criteria cannot work. *Mol Ecol* 8:S11–S16.
- Taylor HR, Colbourne RM, Robertson HA, et al (2017) Cryptic inbreeding depression in a growing population of a long-lived species. *Mol Ecol* 26:799–813.
- Taylor LR (1963) Analysis of the effect of temperature on insects in flight. *J Anim Ecol* 32:99–117.
- Taylor MD, Fairfax AV, Suthers IM (2013) The race for space: using acoustic telemetry to understand density-dependent emigration and habitat selection in a released predatory fish. *Rev Fish Sci* 21:276–285.
- Thiollay J m. (1989) Area requirements for the conservation of rain forest raptors and game birds in French Guiana. *Conserv Biol* 3:128–137.
- Thomas CD, Cameron A, Green RE, et al (2004) Extinction risk from climate change. *Nature* 427:145–148.
- Thomas JA, Moss D, Pollard E (1994) Increased fluctuations of butterfly populations towards the northern edges of species' ranges. *Ecography* 17:215–220.
- Thompson W (2013) Sampling rare or elusive species: concepts, designs, and techniques for estimating population parameters. Island Press.
- Thorup K, Korner-Nievergelt F, Cohen EB, Baillie SR (2014) Large-scale spatial analysis of ringing and re-encounter data to infer movement patterns: A review including methodological perspectives. *Methods Ecol Evol* 5:1337–1350.
- Tilman D, May RM, Lehman CL, Nowak MA (1994) Habitat destruction and the extinction debt. *Nature* 371:65–66.
- Tournant P (2013) Impact du paysage sur la distribution spatiale et génétique des colonies de petits rhinolophes. Ph.D., Université de Franche-Comté.
- Tournant P, Afonso E, Roué S, et al (2013) Evaluating the effect of habitat connectivity on the distribution of lesser horseshoe bat maternity roosts using landscape graphs. *Biol Conserv* 164:39–49.
- Townsend AK, Cooch EG, Sillett TS, et al (2016) The interacting effects of food, spring temperature, and global climate cycles on population dynamics of a migratory songbird. *Glob Change Biol* 22:544–555.
- Trakhtenbrot A, Nathan R, Perry G, Richardson DM (2005) The importance of long-distance dispersal in biodiversity conservation. *Divers Distrib* 11:173–181.
- Trathan PN, Garcia-Borboroglu P, Boersma D, et al (2015) Pollution, habitat loss, fishing, and climate change as critical threats to penguins. *Conserv Biol* 29:31–41.

- Turner MG, Dale VH, Gardner RH (1989) Predicting across scales: theory development and testing. *Landsc Ecol* 3:245–252.
- Tuttle MD (1976) Population ecology of the gray bat (*Myotis Grisescens*): Factors influencing growth and survival of newly volant young. *Ecology* 57:587–595.
- Uhrin M, Hüttmeir U, Kipson M, et al (2016) Status of Savi's pipistrelle *Hypsugo savii* (Chiroptera) and range expansion in central and south-eastern Europe: a review. *Mammal Rev* 46:1–16.
- Urban MC, Bocedi G, Hendry AP, et al (2016) Improving the forecast for biodiversity under climate change. *Science* 353:aad8466.
- Van de Pol M, Bailey LD, McLean N, et al (2016) Identifying the best climatic predictors in ecology and evolution. *Methods Ecol Evol* 7:1246–1257.
- Van de Pol M, Vindenes Y, Saether B-E, et al (2010) Effects of climate change and variability on population dynamics in a long-lived shorebird. *Ecology* 91:1192–1204.
- Van der Sluis T, Bloemmen M, Bouwma IM (2004) European corridors: Strategies for corridor development for target species. ECNC, Tilburg.
- Van Strien MJ, Gret-Regamey A (2016) How is habitat connectivity affected by settlement and road network configurations? Results from simulating coupled habitat and human networks. *Ecol Model* 342:186–198.
- Vandewoestijne S, Schtickzelle N, Baguette M (2008) Positive correlation between genetic diversity and fitness in a large, well-connected metapopulation. *BMC Biol* 6:46.
- Venter O, Brodeur NN, Nemiroff L, et al (2006) Threats to endangered species in Canada. *BioScience* 56:903–910.
- Voigt CC, Schneeberger K, Voigt-Heucke SL, Lewanzik D (2011) Rain increases the energy cost of bat flight. *Biol Lett* 7:793–795.
- Waits LP, Paetkau D (2005) Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: a review of applications and recommendations for accurate data collection. *J Wildl Manag* 69:1419–1433.
- Wang X, Blanchet FG, Koper N (2014) Measuring habitat fragmentation: an evaluation of landscape pattern metrics. *Methods Ecol Evol* 5:634–646.
- Warren RD, Waters DA, Altringham JD, Bullock DJ (2000) The distribution of Daubenton's bats (*Myotis daubentonii*) and pipistrelle bats (*Pipistrellus pipistrellus*) (*Vespertilionidae*) in relation to small-scale variation in riverine habitat. *Biol Conserv* 92:85–91.
- Wen Z, Nichols JD, Pollock KH, Waser PM (2014) A robust design capture-recapture model with multiple age classes augmented with population assignment data. *Environ Ecol Stat* 21:41–59.
- Westemeier R, Brawn J, Simpson S, et al (1998) Tracking the long-term decline and recovery of an isolated population. *Science*.
- White TCR (2008) The role of food, weather and climate in limiting the abundance of animals. *Biol Rev* 83:227–248.
- Whitlock MC (2002) Selection, load and inbreeding depression in a large metapopulation. *Genetics* 160:1191–1202.
- Wickramasinghe LP, Harris S, Jones G, Vaughan Jennings N (2004) Abundance and species richness of nocturnal insects on organic and conventional farms: effects of agricultural intensification on bat foraging. *Conserv Biol* 18:1283–1292.
- Wickramasinghe LP, Harris S, Jones G, Vaughan N (2003) Bat activity and species richness on organic and conventional farms: impact of agricultural intensification. *J Appl Ecol* 40:984–993.
- Wikelski M, Kays RW, Kasdin NJ, et al (2007) Going wild: what a global small-animal tracking system could do for experimental biologists. *J Exp Biol* 210:181–186.
- Wilcove DS, Rothstein D, Dubow J, et al (1998) Quantifying threats to imperiled species in the United States. *BioScience* 48:607–615.
- Wilkinson GS, Wenrick Boughman J (1998) Social calls coordinate foraging in greater spear-nosed bats. *Anim Behav* 55:337–350.

- Willi Y, Van Buskirk J, Hoffmann AA (2006) Limits to the adaptive potential of small populations. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 37:433–458.
- Williams CB (1951) Changes in insect populations in the field in relation to preceding weather conditions. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 138:130–156.
- Willis CKR, Brigham RM (2007) Social thermoregulation exerts more influence than microclimate on forest roost preferences by a cavity-dwelling bat. *Behav Ecol Sociobiol* 62:97–108.
- Willson JD, Winne CT, Todd BD (2011) Ecological and methodological factors affecting detectability and population estimation in elusive species. *J Wildl Manag* 75:36–45.
- Wittwer T, O'Hara RB, Caplat P, et al (2015) Long-term population dynamics of a migrant bird suggests interaction of climate change and competition with resident species. *Oikos* 124:1151–1159.
- Woodruff SP, Lukacs PM, Christianson D, Waits LP (2016) Estimating sonoran pronghorn abundance and survival with fecal DNA and capture-recapture methods. *Conserv Biol* 30:1102–1111.
- Wright JA, Barker RJ, Schofield MR, et al (2009) Incorporating genotype uncertainty into mark-recapture-type models for estimating abundance using DNA samples. *Biometrics* 65:833–840.
- Wright S (1931) Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16:97–159.
- Wu J (2016) Detection and attribution of the effects of climate change on bat distributions over the last 50 years. *Clim Change* 134:681–696.
- Xu T, Hutchinson MF (2013) New developments and applications in the ANUCLIM spatial climatic and bioclimatic modelling package. *Environ Model Softw* 40:267–279.
- Yashima AS, Innan H (2017) varver: a database of microsatellite variation in vertebrates. *Mol Ecol Resour* 17:824–833.
- Young TP (1994) Natural die-offs of large mammals: implications for conservation. *Conserv Biol* 8:410–418.
- Zahn A (1999) Reproductive success, colony size and roost temperature in attic-dwelling bat *Myotis myotis*. *J Zool* 247:275–280.
- Zahn A, Holzhaider J, Kriner E, et al (2008) Foraging activity of *Rhinolophus hipposideros* on the island of Herrenchiemsee, Upper Bavaria. *Mamm Biol* 73:222–229.
- Zarin DJ, Schulze MD, Vidal E, Lentini M (2007) Beyond reaping the first harvest: management objectives for timber production in the Brazilian Amazon. *Conserv Biol* 21:916–925.
- Zarzoso-Lacoste D, Jan P-L, Lehnen L, et al (2017) 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. *Mol Ecol*.
- Ziembicki MR, Woinarski JC, Webb JK, et al (2014) Stemming the tide: progress towards resolving the causes of decline and implementing management responses for the disappearing mammal fauna of northern Australia. *Therya* 6:169–225.
- Zisenis M (2017) Is the Natura 2000 network of the European Union the key land use policy tool for preserving Europe's biodiversity heritage? *Land Use Policy* 69:408–416.
- Zuur AF, Ieno EN, Walker NJ, et al (2009) Zero-truncated and zero-inflated models for count data. In: *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer New York, pp 261–293.

Liste des tableaux et figures

Tableaux

Tableau 1: Colony size as a function of average temperature, minimum temperature and precipitation at different temporal resolutions.	49
Tableau 2: Fecundity as a function of average temperature, minimum temperature and precipitation at different temporal resolutions.	50
Tableau 3: Impact of temperature and precipitation BIOCLIM variables on <i>Rhinolophus hipposideros</i> fecundity.	52
Tableau 4: AIC and ranks of models that included both minimum temperature and precipitation significant predictors for the different temporal resolutions of explanatory variables.	53
Tableau 5: Results of a model averaging of population dynamics parameters as a function of the proportion of land (%LAND) and Mean Shape Index (MSI) of different cover type, the mean patch size and SHEI (Shannon's evenness index).	68
Tableau 6: Degree of freedom (df), AICc and R ² of models that included land cover significant predictors for the two buffer scales.	69
Tableau 7: BIC and R ² of models testing the impact of forest management variables.	70
Tableau 8: Description, sources and amplification conditions of markers used this study and their respective measures of allelic drop-out rate (ADO), false allelic rate (FA), quality index (QI) and expected heterozygosity (Hs).	92
Tableau 9: Colonies' demographic and genetic characteristics.	93
Tableau 10: Number of adults sampled only before parturition vs in both sessions, depending on their sex and, for females, their assignment as a mother.	95
Tableau 11: Effect of colony size and landscape metrics (LM) on vital rates assessed by type II-Anovas performed on weighted least squares regression.	116
Tableau 12: BIC and R ² of weighted least squares regression testing the impact of forest management variables on adult survival (ϕ_a), juvenile survival (ϕ_j) and fecundity (F).	117
Tableau 13: Factors driving genetic diversity.	137
Tableau S. 1: Colony size as a function of average temperature, minimum temperature and precipitation at different temporal resolutions when considering a threshold of 7 Δ AIC for model averaging.	194
Tableau S. 2: Fecundity as a function of average temperature, minimum temperature and precipitation at different temporal resolutions when considering a threshold of 7 Δ AIC for model averaging.	195
Tableau S. 3 : Aggregation of 38 cover types in six-landscape class.	196
Tableau S. 4: Genotyping quality and genetic characteristics of lesser horseshoe bat maternity colonies.	197
Tableau S. 5: Summary of the parameter sets used to simulate disconnection and demographic crash scenarios	199

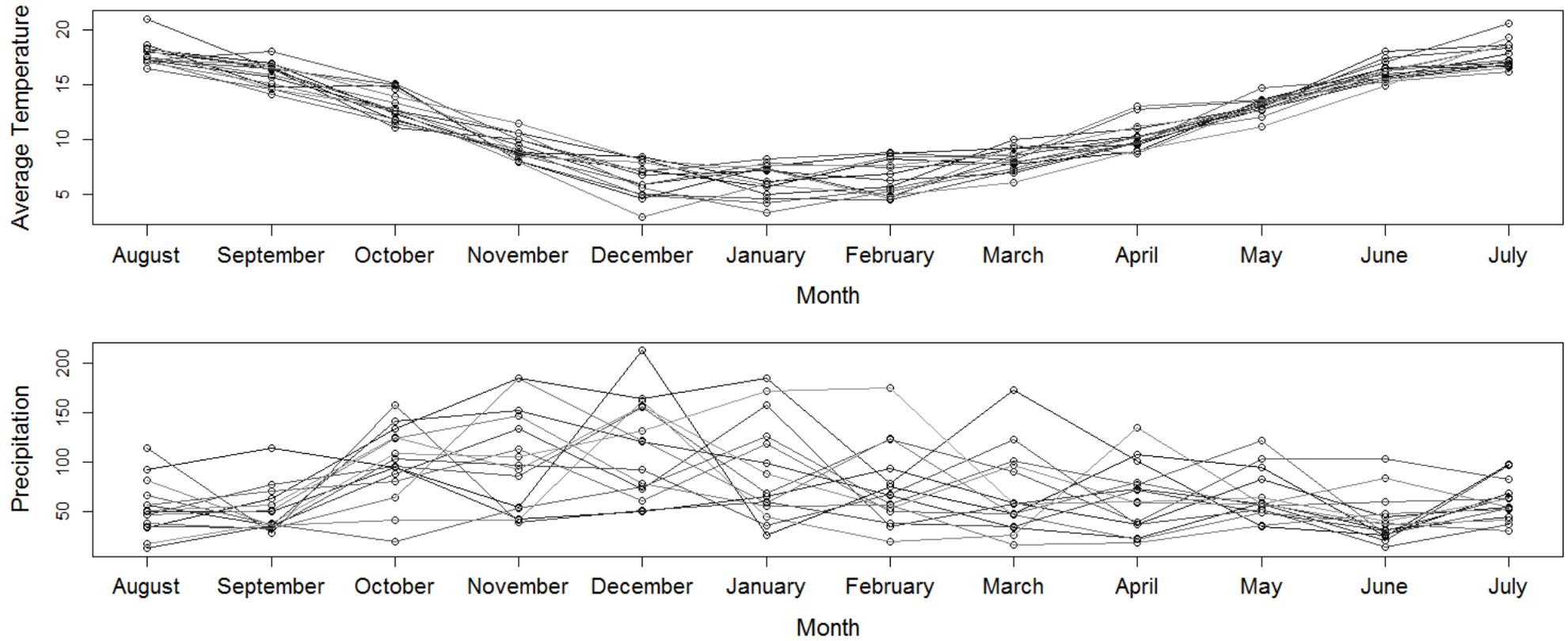
Figures

Figure 1: Etapes classiques de la destruction d'un habitat.	11
Figure 2: Représentation schématique de l'effet de la réduction des taille de population et de la fragmentation sur la diversité génétique des populations.	21
Figure 3: Carte présentant l'aire de distribution du Petit rhinolophe en Europe en 2000 et en 1939	31
Figure 4: Cycle de vie du Petit rhinolophe.	33
Figure 5: Map of the 94 colonies monitored in Brittany, France.	45
Figure 6: Map of the 94 colonies monitored in Brittany and the 11 colonies monitored in Picardy, France.	64
Figure 7: Location of the 19 monitored colonies (Picardie, France)	85
Figure 8: Colony sizes estimated by visual counts or CMR approach	95
Figure 9: Number of captures for males, non-mother females, and females assigned as mothers for both sampling sessions.	96
Figure 10: Map of the 18 colonies monitored in Picardy.	106
Figure 11: Relative bias, standard error (precision), and mean-square error (MSE, accuracy) of juvenile and adult survival probabilities, and of fecundity, estimated with three different models.	113
Figure 12: Survival and Fecundity estimated by an integrated population model in 18 <i>R. hipposideros</i> maternity colonies.	114
Figure 13: Regression of the asymptotic growth rate as a function of colony size, considering linear and quadratic terms.	115
Figure 14: Locations of sampled and counted <i>Rhinolophus hipposideros</i> colonies along the northern limit of its distribution range.	131
Figure 15: Relationship between genetic and geographic distances for non-bottlenecked colonies.	136
Figure 16: Relationship between genetic diversity (as measured by expected heterozygosity) and population connectivity.	138
Figure 17: Effect of demographic bottlenecks (size reduction factor: 10) on the slope of isolation-by-distance as a function of population size N , gene flow Nm , time since the bottleneck t , and the possibility for populations to regrow after a bottleneck or not.	139
Figure 18: Effect of disconnection bottlenecks on the slope of isolation-by-distance as a function of population size N , gene flow Nm , and time since the bottleneck.	140
Figure 19 : Taux de croissance annuel en fonction de la taille de la population dans les colonies bretonnes	153
Figure 20 : Sex-ratio des individus assignés comme juvéniles selon les années.	157
Figure 21 : Carte des forêts européennes incluant la limite de la distribution du Petit rhinolophe en Europe en 2000 et en 1939	162
Figure S. 1 Average temperature and precipitation for each month preceding counts.	191
Figure S. 2: Negative exponential dispersal kernel based on the effective dispersal distance of <i>Rhinolophus hipposideros</i>	192

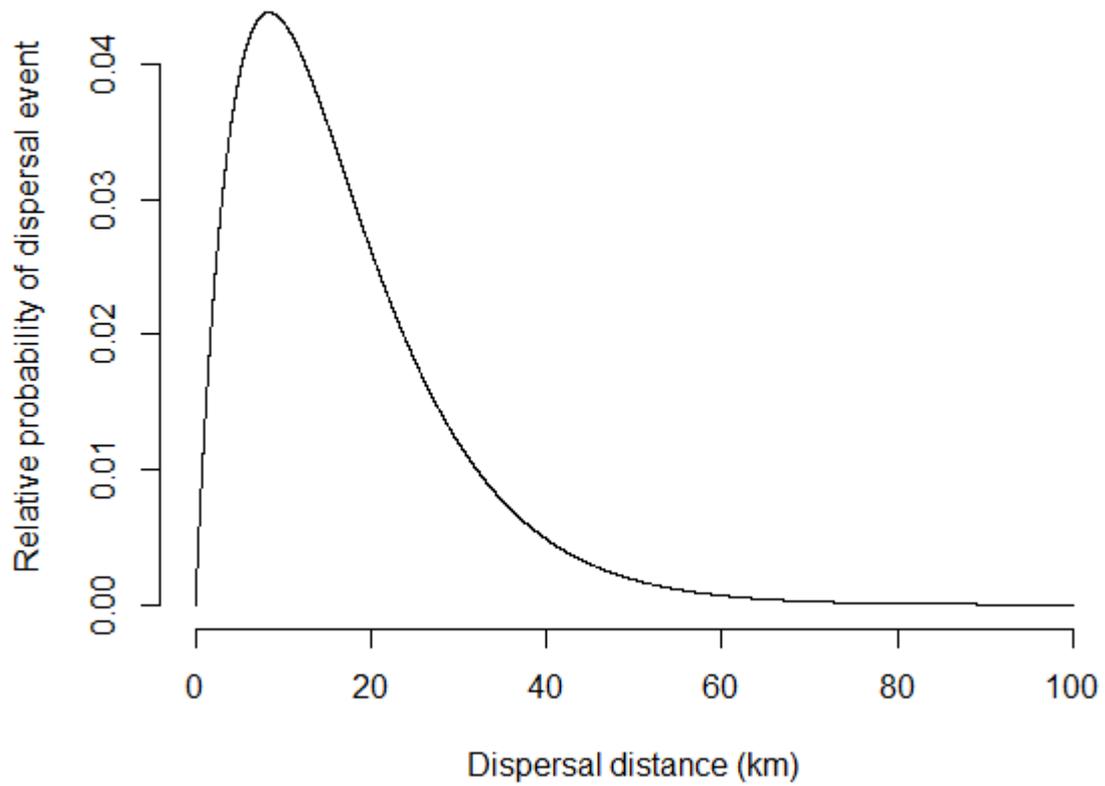
Figure S. 3: Effect of demographic bottlenecks (size reduction factor: 25) on the slope of isolation-by-distance as a function of population size N , gene flow Nm , time since the bottleneck t , and the possibility for populations to regrow after a bottleneck or not. _____ 193

Annexes

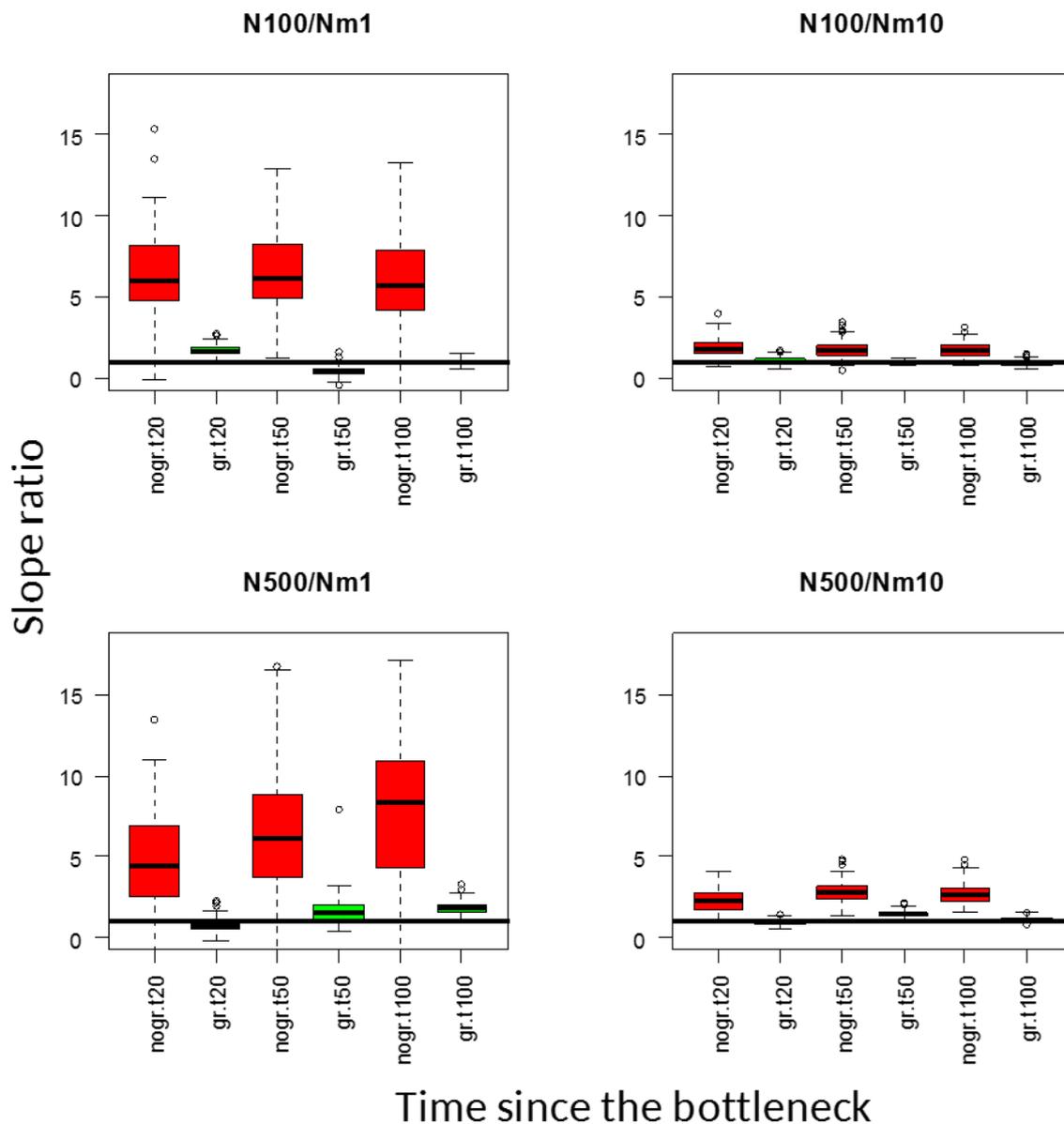
Supplementary Materials



[Figure S. 1 Average temperature and precipitation for each month preceding counts. Lines connect measurements from the same year \(August to July\)](#)



[Figure S. 2: Negative exponential dispersal kernel according to Nathan et al. 2012, based on the effective dispersal distance of *Rhinolophus hipposideros*](#)



[Figure S. 3: Effect of demographic bottlenecks \(size reduction factor: 25\) on the slope of isolation-by-distance as a function of population size \$N\$, gene flow \$Nm\$, time since the bottleneck \$t\$, and the possibility for populations to regrow after a bottleneck \(gr, green\) or not \(nogr, red\). See Figure 17 for more details.](#)

Table S. 1: Colony size as a function of average temperature, minimum temperature and precipitation at different temporal resolutions when considering a threshold of 7 Δ AIC for model averaging. Legend and format are identical to those of Tableau 1. Brackets mean that the predictor was nearly significant ($0.05 < p < 0.07$).

		Monthly models			Life cycle models			Yearly models		
		Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.	Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.	Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.
Mating	August	NS	NS	NS						
	September	NS	NS	NS						
	October	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	November	+	+	NS						
Hibernation	December	NS	NS	NS						
	January	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	February	NS	NS	NS						
Spring Transition	March	NS	NS	NS						
	April	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	May	NS	+	NS						
Parturition	June	NS	NS	+	NS	NS	(+)			
	July	NS	NS	NS						
AIC - Significant predictor (Rank)		5752.98 (3)	5749.26 (2)	5747.32 (1)	NA	NA	NA	5757.36 (4)	5757.42 (5)	5757.36 (4)

Table S. 2: Fecundity as a function of average temperature, minimum temperature and precipitation at different temporal resolutions when considering a threshold of 7 Δ AIC for model averaging. Legend and format are identical to those of Table S. 1.

		Monthly models			Life cycle models			Yearly models		
		Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.	Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.	Aver. Temp.	Min. Temp.	Precip.
Mating	August	NS	NS	NS						
	September	NS	NS	NS	NS	NS	+			
	October	NS	NS	NS						
	November	NS	NS	NS						
December	NS	NS	NS							
Hibernation	January	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
	February	NS	NS	NS						
Spring Transition	March	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
	April	+	+	-						
Parturition	May	NS	NS	NS	NS	(+)	NS			
	June	NS	NS	NS						
	July	NS	+	NS						
AIC - Significant predictor (Rank)		-49.03 (3)	-61.35 (1)	-55.19 (2)	NA	NA	-47.25 (4)	-35.60 (7)	-38.34 (5)	-35.79 (6)

Table S. 3 : Aggregation of 38 cover types in six-landscape class.

Cover type	Landscape class
Broadleaved trees seedling forest Mixed seedling forest Broadleaved trees seedling forest and coppice Coppice Open woodland Poplar grove Wooded area and hedgerows Orchards Undefined woodland	Broadleaved woodland
Conifers seedling forest Coniferous seedling forest and coppice	Coniferous woodland
Building Road Urbanized areas Industrial areas Mine and dump Public green area	Artificial
Undefined crop land Cereal crop Rapeseed crop Various crop Oilseed crop Seeds Vines Arable land Permanent crop	Crop land
Grassland Heterogeneous agricultural area Herbaceous and shrub vegetation area Open area Inland Wetland Coastal Wetland Heterogeneous area Coast Meadows and pastures Set-aside land Heathland	Open land
Freshwater	Water bodies

Table S. 4: Genotyping quality and genetic characteristics of lesser horseshoe bat maternity colonies. ADO: allelic dropout rates, FA: false allelic rates, Hs: expected heterozygosity. F_{IS} values in bold indicate a significant deviation from Hardy-Weinberg proportions (10000 permutations). Bayes factors are identified on a log10 scale. Intervals that are shown are the following: 0: [1; 10]; 1: [10; 100]; 2: [100; 1000]; 3: [1000; 10000]; 4: [10000; 100000]; 5: >100000. The vertical bar delimits Bayes Factors that were below or above 10, that is, colonies that we considered as non-bottlenecked and bottlenecked, respectively.

Colony	Samples correctly genotyped (Total number of samples)	ADO (%)	FA (%)	Number of distinct genotypes	F_{IS}	Hs	Bayes Factor
BEL-MODAVE	37(40)	1.0	0.5	31	-0.04	0.44	_ 4_
BEL-REVOGNE	36(40)	0.2	0.2	28	0.01	0.64	0
BRE-EPIN	40(40)	1.8	0.6	27	0.05	0.64	0
BRE-MOTTE	31(40)	2.8	0.9	14	-0.09	0.56	0
BRE-NICO	38(40)	4.5	1.9	28	0.04	0.69	0
BRE-PLUHER	40(40)	0.4	0.3	26	-0.06	0.63	_ 1
BRE-THUR	39(40)	1.4	1.0	21	0.18	0.69	0
CA-MONTH	35(40)	1.4	0.4	28	0.04	0.70	0
CA-MORU	25(40)	2.5	0.8	22	0.07	0.70	0
CA-RUMILLY	37(40)	2.2	1.0	32	0.00	0.70	0
LOR-BACOURT	35(40)	2.2	1.2	28	0.03	0.58	_ 1
LOR-FAILLY	21(40)	2.5	1.4	10	-0.04	0.66	0
LOR-MONT	22(40)	2.0	1.3	19	0.01	0.71	0
LOR-QUIRIN	38(40)	0.9	0.4	21	0.01	0.57	_ 1
LOR-SAXON	21(40)	4.4	1.6	21	0.10	0.71	0
NOR-DUCEY	31(40)	1.3	0.9	25	0.03	0.64	0
NOR-ENGLES	28(40)	2.2	1.5	22	0.00	0.61	0
NOR-JOIN	35(40)	1.2	0.7	17	-0.02	0.61	0
NOR-PICAUVILLE	31(40)	3.9	0.7	10	-0.11	0.45	0
NOR-REVIERS	12(40)	1.5	0.7	8	0.03	0.66	0
NOR-VIGOR	38(40)	1.7	1.2	23	0.06	0.67	0
VEXIN-RG	21(40)	4.2	0.8	16	0.07	0.62	0
COM-M815	71(72)	0.9	0.5	35	0.02	0.69	0
COM-M1979	66(72)	1.2	0.7	39	-0.06	0.70	_ 1
COM-M1079	23(48)	5.6	2.9	13	-0.03	0.69	0
COM-M399	77(88)	3.2	1.5	44	-0.02	0.59	_ 1

Table S. 4 (continued)

Colony	Samples correctly genotyped (Total number of samples)	ADO (%)	FA (%)	Number of distinct genotypes	FIS	Hs	Bayes Factor
Thu40	37(40)	5.4	4.5	19	-0.09	0.54	_ _4_
Sax02	35(40)	7.5	5.5	35	-0.03	0.62	_ _2_
SAn03	30(40)	9.4	3.7	13	-0.01	0.50	_ _2_
Thu41	36(40)	4.5	3.3	22	-0.06	0.58	_ _5_
Thu47	24(40)	6.7	4.8	15	-0.05	0.52	_ _3_
Bav01	36(40)	3.6	2.5	34	-0.04	0.73	_ _5_
Thu44	32(40)	4.2	2.7	23	-0.01	0.56	_ _5_
Thu43	33(40)	5.8	3.1	26	-0.08	0.61	_ _4_
Thu45	18(40)	2.1	4.9	11	0.08	0.63	_ _5_
Bav02/03/04	20(24)	6.3	6.5	7	-0.09	0.36	_ _5_
Thu48	22(40)	4.8	2.6	22	0.06	0.57	_ _4_
Thu46	29(40)	12.5	8.3	14	0.03	0.58	_ _3_
Sax01	40(40)	5.7	4.2	34	-0.05	0.61	_ _4_
Bav05/06	16(16)	4.2	6.1	5	-0.34	0.39	_ _2_
Sax03	32(40)	11.8	5.4	27	-0.03	0.62	_ _3_
SAn01	47(80)	7.8	3.8	37	0.00	0.51	_ _5_

Table S. 5: Summary of the parameter sets used to simulate disconnection and demographic crash scenarios

	Basic scenarios		Bottleneck conditions				
	N	Nm	Time since the bottleneck (generations)	Bottleneck type	Nm	Population size reduction factor	Intrinsic growth rate
1	100	1	20	Disconnection	0	Not relevant	Not relevant
2			50				
3			100				
4		10	20				
5			50				
6			100				
7	500	1	20				
8			50				
9			100				
10		10	20				
11			50				
12			100				
13	100	1	20	Demographic crash without growth	Not relevant	10	1
14			50				
15			100				
16		10	20				
17			50				
18			100				
19	500	1	20				
20			50				
21			100				
22		10	20				
23			50				
24			100				
25	100	1	20	Demographic crash with growth	Not relevant	10	1.1
26			50				
27			100				
28		10	20				
29			50				
30			100				
31	500	1	20				
32			50				
33			100				
34		10	20				
35			50				
36			100				

Table S. 5 (continued)

	Basic scenarios		Bottleneck conditions				
	N	Nm	Time since the bottleneck (generations)	Bottleneck type	Nm	Population size reduction factor	Intrinsic growth rate
37	100	1	20	Demographic crash without growth	Not relevant	25	1
38			50				
39			100				
40		10	20				
41			50				
42			100				
43	500	1	20				
44			50				
45			100				
46		10	20				
47			50				
48			100				
49	100	1	20	Demographic crash with growth	Not relevant	25	1.1
50			50				
51			100				
52		10	20				
53			50				
54			100				
55	500	1	20				
56			50				
57			100				
58		10	20				
59			50				
60			100				

Appendix

Appendix A: DNA isolation using the NucleoSpin® 96 Plant II Kit (Macherey-Nagel)

Cell lysis using Buffer PL2 and PL3

Add 400 µL Buffer PL2 and 10 µL RNase A to each tube of the 96 tube strip containing the ground guano sample and two glass beads (change Cap Strips). Mix by vigorous shaking for 15–30 s. Spin briefly for 30 s at 1,500 x g to collect any sample from the Cap Strips. Incubate samples at 60°C overnight, on an agitator.

Carefully add 100 µL Buffer PL3 to each sample, mix thoroughly, and incubate for 15 min on ice to precipitate SDS completely.

Clear lysate by centrifugation

Centrifuge the samples for 20 min at full speed (5,600–6,000 x g).

Adjust binding conditions

Pre-dispense 450 µL Binding Buffer PC to each well of a MN Square-well Block. Add 400 µL cleared lysate of each sample and mix by repeated pipetting up and down (at least 3 times).

Transfer lysate to NucleoSpin® Plant II Binding Plate

Transfer samples from the previous step into the wells of the NucleoSpin® Plant II Binding Plate (correctly placed on the top of the NucleoVac manifold). Do not moisten the rims of the individual wells while dispensing the samples and seal openings of the binding plate with a Gas-permeable Foil.

Bind DNA to silica membrane

Apply vacuum of -0.2 to -0.4 bar to allow samples to pass through the membrane and release the vacuum.

Wash silica membrane

Add 400 µL PW1 to each well of the Binding Plate and apply vacuum of -0.2 to -0.4 bar until the buffer has passed the membrane completely. Release the vacuum.

Add 700 µL PW2 to each well of the Binding Plate and apply vacuum of -0.2 to -0.4 bar until the buffer has passed the membrane completely. Release the vacuum.

Repeat the PW2 wash procedure.

Reassemble the vacuum manifold and dry the membrane by applying maximum vacuum (-0.6 bar) for 10 minutes.

Elute DNA

Place Binding Plate on an annotated 96 well PCR plate (for storage). Dispense 75 µL Buffer PE (pre-heated at 70 °C) to each well of the Binding Plate, directly onto the membrane. Incubate for 2 min at 70 °C and centrifuge at 5,600–6,000 x g for 2 min. Repeat the elution procedure to reach 150 µl of DNA extract per sample.

Close each PCR storage plate using Cap Strips and store at -20°C until use or proceed to the PCR step directly.

Appendix B: In silico validation of our sex-linked primer pair.

88% of the 91 (sub)species, belonging to 49 mammalian families that are spread all over the four main branches of the placental mammalian phylogeny (Meredith et al. 2011), contained in our customized mRNA sequence database were theoretically amplified (*in silico* PCR) using our sex-linked primer pair (Appendix Table 1). This confirms its wide taxonomic coverage and relatively good primer binding sites conservation, at least among placental mammals.

The results of the amplification tests carried out with the DDX3 sex-linked marker on 37 known *R. hipposideros* males and females confirmed its reliability for sex identification (100% were correctly sexed). Sequenced amplicons provided one allele from the X-Chromosome (154 bp) and two from the Y-Chromosome (129 and 131 bp) (Appendix Table 2).

The results of the *in silico* amplicon length polymorphism tests (Appendix Table 2) supported the relevance of the DDX3 gene to be used for unambiguous molecular sex determination of a wide range of mammalian taxa. All the (sub)species from which both X and Y chromosome sequences were retrieved showed an inter-chromosomal length polymorphism. The theoretical amplicon sizes obtained from the X chromosome (mean = 155.4 ± 4.5 bp when calculated from females only and 156.3 ± 4.2 bp when including males and unsexed individuals) were always longer than those obtained from the Y chromosome (mean = 133.5 ± 4.4 bp) due to insertions within the 8th intron of the DEAD-box helicase 3 gene (mean = 24.9 ± 5.5 bp, calculated from each X-Y chromosome pair). This pattern is supported by the congruence between the chromosome/gene annotations of sequences attributed to either Y or X (from females only) chromosome, and our own chromosome assignation based on the previously described inter-chromosomal length polymorphism. When applied to the X chromosome sequences retrieved from males or unsexed individuals, our length polymorphism-based assignation highlights the potential of the DDX3X/Y-Mam marker to allowed a more accurate chromosomal, and thus sex, discrimination among placental mammals (using an adapted primer pair). Interestingly, 64% of the 136 sequences for which we “validated” the chromosomal assignation were annotated as *DDX3X-* or *DDX3Y-linked* (against only 10% annotated as *DDX3X-* or *DDX3Y-like*), whereas 68% of the 25 sequences that were potentially incorrectly attributed to the X chromosome were annotated as *DDX3X-like* (against only 4% annotated as *DDX3X-linked*). This seems to confirm the (implicit) level of reliability attributed to the gene-chromosome annotation in the Genbank database, the higher being for *X-* or *Y-linked* genes. Finally, the results of our *in silico* length polymorphism test and of our *in vitro* case study showed that the DDX3 sex-linked marker can be used to reveal intra-chromosomal variations in amplicon length (alleles) and facilitate discrimination of individuals from the same species.

Reference:

Meredith, R.W., Janečka, J.E., Gatesy, J., Ryder, O.A., Fisher, C.A., Teeling, E.C., Goodbla, A., Eizirik, E., Simão, T.L.L., Stadler, T., et al. (2011). Impacts of the cretaceous terrestrial revolution and KPg extinction on mammal diversification. *Science* 334, 521–524.

Appendix Table 1. a) Taxonomic coverage (Bc). Percentage of taxa amplified, using maximum 3 mismatches per primer, when in silico PCR was conducted throughout our customized mammalian mRNA sequence database.

Rank	Number of taxa in the database	Percent amplified
Order	17	82.35
Suborder	12	91.67
Family	49	83.67
Subfamily	26	84.62
Genus	76	86.84
Subgenus	3	100.00
Species	91	87.91
Subspecies	13	92.31

Appendix Table 1. b) Detail of the corresponding families and species theoretically amplified. We indicate super-orders for families of placental mammals in brackets. L: Laurisatheria; E: Euarchontoglires; X: Xenarthra; A: Afrotheria. Dasyuridae and Didelphidae are marsupials.

Family	Percent amplified	Tested (sub)species	Accession	Amplification
Aotidae (E)	100	<i>Aotus nancymae</i>	XM 12448139	1
Bathyergidae (E)	100	<i>Fukomys anelli</i>	HQ326657	1
		<i>Fukomys damarensis</i>	XM 10606747	1
		<i>Heterocephalus glaber</i>	HQ326658	1
Bovidae (L)	85.7	<i>Bos mutus</i>	XM 5889434	0
		<i>Bos taurus</i>	FJ659845	1
		<i>Bubalus bubalis</i>	XM 6048699	1
		<i>Capra hircus</i>	XM 5700910	1
		<i>Ovis aries</i>	XM4022011	1
		<i>Ovis aries musimon</i>	XM 12124161	1
		<i>Pantholops hodgsonii</i>	XM 5970500	1
Camelidae (L)	100	<i>Camelus bactrianus</i>	XM 10963998	1
		<i>Camelus dromedarius</i>	XM 10989188	1
		<i>Camelus ferus</i>	XM 6193829	1
		<i>Vicugna pacos</i>	XM 6211819	1
Canidae (L)	100	<i>Canis lupus familiaris</i>	JX964855	1
Caviidae (E)	100	<i>Cavia porcellus</i>	XM 5008635	1
Cebidae (E)	100	<i>Callithrix jacchus</i>	FJ526999	1
		<i>Cebus capucinus imitator</i>	XM 17516989	1
		<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	XM3924030	1
Cercopithecidae (E)	100	<i>Cercocebus atys</i>	XM 12081647	1
		<i>Chlorocebus sabaues</i>	XM 7991432	1
		<i>Colobus angolensis palliatus</i>	XM 11942345	1
		<i>Macaca fascicularis</i>	XM 5593324	1
		<i>Macaca mulatta</i>	FJ527013	1
		<i>Macaca nemestrina</i>	XM 11710112	1
		<i>Mandrillus leucophaeus</i>	XM 11980183	1
		<i>Papio anubis</i>	XM3917597	1
		<i>Papio hamadryas</i>	GAAH01005268	1
		<i>Rhinopithecus roxellana</i>	XM 10356753	1
Cetacae (L)	0	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>		
		<i>scammoni</i>	XM 7182669	0
Cheirogaleidae (E)	100	<i>Microcebus murinus</i>	XM 12781834	1
Chinchillidae (E)	100	<i>Chinchilla lanigera</i>	XM 5413259	1
Chrysochloridae (A)	0	<i>Chrysochloris asiatica</i>	XM 6864262	0
Cricetidae (E)	100	<i>Mesocricetus auratus</i>	AB080116	1
		<i>Microtus ochrogaster</i>	XM 5352864	1
		<i>Peromyscus maniculatus bairdii</i>	XM 6976883	1
Cynocephalidae (E)	100	<i>Galeopterus variegatus</i>	XM 8585125	1
Dasypodidae (X)	100	<i>Dasypus novemcinctus</i>	XM 4461031	1

Dasyuridae	0	<i>Sarcophilus harrisii</i>	XM3763451	0
Delphinidae (L)	100	<i>Orcinus orca</i>	XM4276579	1
		<i>Tursiops truncatus</i>	XM4323031	1
Didelphidae	0	<i>Monodelphis domestica</i>	XM 16433360	0
Elephantidae (A)	100	<i>Loxodonta africana</i>	XM3417980	1
Equidae (L)	100	<i>Equus asinus</i>	XM 14840700	1
		<i>Equus caballus</i>	JL621222	1
		<i>Equus przewalskii</i>	XM 8509560	1
Erinaceidae (L)	0	<i>Erinaceus europaeus</i>	XM 7521106	0
Felidae (L)	100	<i>Acinonyx jubatus</i>	XM 15082416	1
		<i>Felis catus</i>	EU879970	1
		<i>Panthera pardus</i>	XM 19417304	1
		<i>Panthera tigris altaica</i>	XM 7099301	1
Galagidae (E)	100	<i>Otolemur garnettii</i>	XM3799906	1
Heteromyidae (E)	0	<i>Dipodomys ordii</i>	XM 13026753	0
Hominidae (E)	100	<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	XM 19019329	1
		<i>Homo sapiens</i>	AB451220	1
		<i>Pan paniscus</i>	XM3815363	1
		<i>Pan troglodytes</i>	AY633112	1
		<i>Pongo abelii</i>	CR857318	1
Hylobatidae (E)	100	<i>Nomascus leucogenys</i>	XM 12499003	1
Indriidae (E)	100	<i>Propithecus coquereli</i>	XM 12642809	1
Leporidae (E)	0	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	XM2719849	0
Lipotidae (L)	100	<i>Lipotes vexillifer</i>	XM 7457190	1
Macroscelididae (A)	0	<i>Elephantulus edwardii</i>	XM 6894978	0
Manidae (L)	100	<i>Manis javanica</i>	XM 17652506	1
Muridae (E)	33.33	<i>Mus musculus</i>	AJ007376	1
		<i>Rattus norvegicus</i>	FJ775727	0
		<i>Tokudaia muenninki</i>	AB672502	0
Mustelidae (L)	100	<i>Mustela putorius furo</i>	JP008478	1
Ochotonidae (L)	100	<i>Ochotona princeps</i>	XM 4587850	1
Octodontidae (E)	100	<i>Octodon degus</i>	XM 4645578	1
Odobenidae (L)	100	<i>Odobenus rosmarus divergens</i>	XM4399733	1
Phocidae (L)	100	<i>Leptonychotes weddellii</i>	XM 6738253	1
Physeteridae (L)	100	<i>Physeter catodon</i>	XM 7120869	1
Pteropodidae (L)	100	<i>Pteropus alecto</i>	XM 6918248	1
		<i>Pteropus vampyrus</i>	XM 11380756	1
		<i>Rousettus aegyptiacus</i>	XM 16156588	1
Rhinocerotidae (L)	100	<i>Ceratotherium simum simum</i>	XM 14791054	1
Soricidae (L)	100	<i>Sorex araneus</i>	XM 4612905	1
Spalacidae (E)	100	<i>Nannospalax galili</i>	XM 8843020	1
Suidae (L)	100	<i>Sus scrofa</i>	HQ266638	1
Talpidae (L)	100	<i>Condylura cristata</i>	XM 4689955	1

Tenrecidae (A)	100	<i>Echinops telfairi</i>	XM 4714570	1
Trichechidae (A)	100	<i>Trichechus manatus latirostris</i>	XM4376924	1
Tupaiaidae (E)	100	<i>Tupaia chinensis</i>	XM 6163275	1
Ursidae (L)	100	<i>Ailuropoda melanoleuca</i>	XM 11230628	1
		<i>Ursus maritimus</i>	XM 8708720	1
Vespertilionidae (L)	100	<i>Eptesicus fuscus</i>	XM 8153026	1
		<i>Myotis brandtii</i>	XM 5856921	1
		<i>Myotis davidii</i>	XM 6752805	1
		<i>Myotis lucifugus</i>	XM 6090560	1

Appendix Table 2. Inter- and intra- chromosomal amplicon length polymorphism observed in our customized database of mammalian reference genomic sequences. Chr. = chromosome, u = unknown, M* = unsexed individual (missing information) but assumed to be a male since the sequence was amplified from the Y chromosome, AL = Amplicon length, EC = expected chromosome assignment based on the observed inter-chromosomal length polymorphism, ICLP = Intra-chromosomal length polymorphism.

(Sub)species	X chromosome												Y chromosome																							
	From females only						From males or unsexed individuals						Reference Sequence information																							
	Reference Sequence information				AL	EC	Reference Sequence information				AL	EC	ICLP	Reference Sequence information				AL	EC	ICLP																
Accession	Gene	Chr.	Sex			Accession	Gene	Chr.	Sex				Accession	Gene	Chr.	Sex																				
<i>Acinonyx jubatus</i>						NW 015131513.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M		134	Y																								
						NW 015131432.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	M		157	X																								
<i>Ailuropoda melanoleuca</i>	NW 003217310.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F		159	X																													
<i>Aotus nancymae</i>	NW 012164869.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F		172	X																													
<i>Balaenoptera acutorostrata scammoni</i>						NW 006728671.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M		157	X																								
<i>Bison bison bison</i>						NW 011495066.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M		132	Y																								
						NW 011492054.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M		156	X																								
<i>Bos mutus</i>	NW 005393087.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F		156	X																													
<i>Bos taurus</i>						NC 007331.5	u	X	pooled M & F		132	Y		NC 016145.1	<u>DDX3Y-linked</u>	Y	M*		142	Y																
						NW 014647340.1	u	X	pooled M & F		132	Y		NT 182066.1	<u>DDX3Y-linked</u>	Y	M*		142	Y																
						AC 000187.1	u	X	u		132	Y																								
						NW 003104786.1	<u>DDX3X-like</u>	X	u		132	Y																								
						NW 014647183.1	u	X	pooled M & F		156	X																								
						NW 003104743.1	<u>DDX3X-like</u>	X	u		156	X																								
<i>Bubalus bubalis</i>	NW 005784147.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F		156	X																													
<i>Callithrix jacchus</i>						NC 013918.1	<u>DDX3X-linked</u>	X	u		132	Y		NW 003187680.1	<u>DDX3Y-linked</u>	Y	M*		142	Y																
						NW 003184839.1	DDX3Y	X	u		132	Y																								
						NW 003184863.1	DDX3X/DBX	X	u		171	X																								

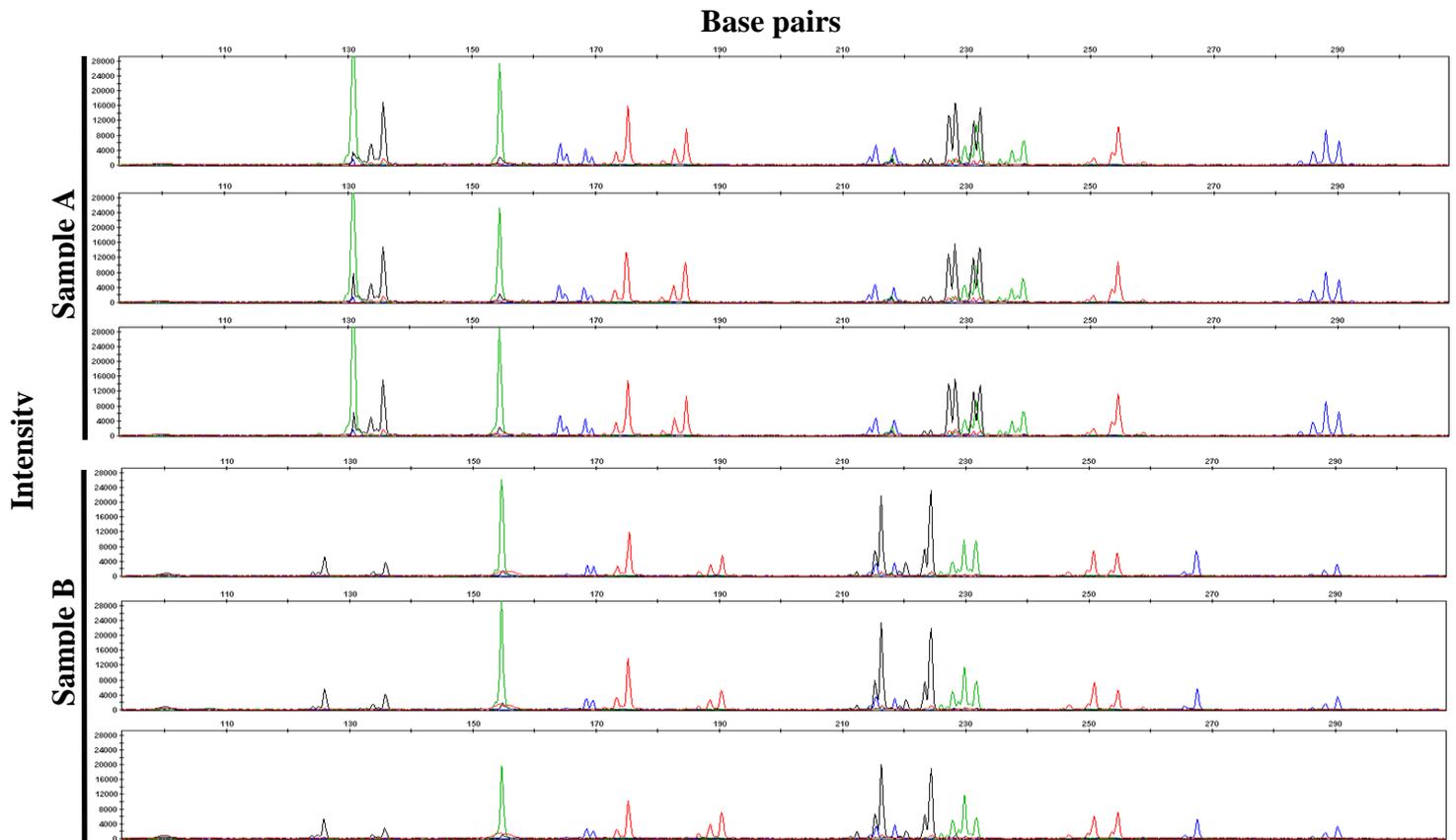
<i>Camelus bactrianus</i>	NW 011515959.1	DDX3X-linked	u	F	160	X													
<i>Camelus dromedarius</i>							NW 011591569.1	DDX3X-linked	u	M	160	X							
							NW 011591851.1	DDX3X-like	u	M	132	Y							
<i>Camelus ferus</i>							NW 006212573.1	DDX3X	u	M	132	Y							
							NW 006212775.1	DDX3X	u	M	160	X							
<i>Canis lupus familiaris</i>	NC 006621.3		u	X	F	155	X												
	NW 003726126.1		u	X	F	155	X												
<i>Ceratotherium simum simum</i>	NW 004454206.1	DDX3X	u	F	151	X													
<i>Capra hircus</i>							NW 017189685.1	DDX3X-like	u	M	132	Y							
							NW 017189629.1	DDX3X-linked	u	M	156	X							
<i>Cebus capucinus imitator</i>							NW 016107928.1	DDX3X-linked	u	M	171	X	NW 016108126.1	DDX3Y-like	u	M	142	Y	
													NW 016108464.1	DDX3Y-like	u	M	142	Y	
<i>Cercocebus atys</i>	NW 012001784.1	DDX3X-linked	u	F	156	X													
<i>Chlorocebus sabaeus</i>							NW 006735280.1		u	X	M	156	X	NW 006735281.1	DDX3Y-linked	Y	M	132	Y
<i>Chrysochloris asiatica</i>	NW 006408580.1	DDX3X-linked	u	F	154	X													
<i>Colobus angolensis palliatus</i>	NW 012111253.1	DDX3X-linked	u	F	157	X													
<i>Dasyypus novemcinctus</i>	NW 004480599.1	DDX3X-linked	u	F	147	X													
<i>Elephantulus edwardii</i>	NW 006399902.1	DDX3X-linked	u	F	158	X													
<i>Eptesicus fuscus</i>	NW 007370734.1	DDX3X-linked	u	F	155	X													
<i>Equus asinus</i>							NW 014638617.1	DDX3X-like	u	M	133	Y							
							NW 014637499.1	DDX3X-linked	u	M	153	X							
<i>Equus caballus</i>	NC 009175.2	DDX3X-linked	X	F	153	X													
	NW 001877040.1		u	X	F	153	X												
<i>Equus przewalskii</i>							NW 007678051.1	DDX3X-like	u	M	133	Y							
							NW 007679417.1	DDX3X	u	M	153	X							
<i>Felis catus</i>	NC 018741.2		u	X	F	157	X												
	NW 004065328.2	DDX3X	X	F	157	X													
<i>Fukomys damarensis</i>							NW 011046643.1	DDX3X	u	M	127	Y							
<i>Galeopterus variegatus</i>							NW 007727559.1	DDX3X-like	u	M	142	Y							
							NW 007726216.1	DDX3X-linked	u	M	157	X							

<i>Gorilla gorilla gorilla</i>							NC 018447.2	<u>DDX3X-like</u>	X	M?	158	X						
<i>Heterocephalus glaber</i>	NW 004624762.1	<i>DDX3X-linked</i>	u	F	161	X												
<i>Hipposideros armiger</i>	NW 017731357.1	<i>DDX3X-linked</i>	u	F	154	X												
<i>Homo sapiens</i>							NC 000023.11	u	X	u	158	X	NC 000024.10	u	Y	M*	132	Y
							NC 018934.2	u	X	u	158	X	NG 012831.1	<i>DDX3Y-linked</i>	Y	M*	132	Y
							NG 012830.2	<i>DDX3X/DDX3Y</i>	X	u	158	X	NT 011875.13	u	Y	M*	132	Y
							NT 079573.5	u	X	u	158	X						
							NW 004929439.1	<i>DDX3X</i>	X	u	158	X						
<i>Lipotes vexillifer</i>						NW 006785059.1	<i>DDX3X-linked</i>	u	u	157	X							
<i>Loxodonta africana</i>	NW 003573476.1	<i>DDX3X-linked</i>	u	F	155	X												
<i>Macaca fascicularis</i>	NC 022292.1	u	X	F	156	X												
	NW 005093002.1	<i>DDX3X-linked</i>	X	F	156	X												
<i>Macaca mulatta</i>	NW 015054654.1	<u>DDX3X-like</u>	u	F	158	X							NC 027914.1	<i>DDX3Y-linked</i>	Y	M	132	Y
	NC 027913.1	u	X	F	156	X							NW 014806050.1	<i>DDX3Y-linked</i>	Y	M	132	Y
	NW 014805936.1	<i>DDX3X-linked</i>	X	F	156	X												
<i>Macaca nemestrina</i>	NW 012010612.1	<i>DDX3X-linked</i>	u	F	156	X												
<i>Mandrillus leucophaeus</i>	NW 012102132.1	<i>DDX3X-linked</i>	u	F	156	X												
<i>Manis javanica</i>	NW 016529874.1	<i>DDX3X-linked</i>	u	F	157	X												
<i>Marmota marmota marmota</i>							NW 015351312.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M	130	Y						
<i>Mesocricetus auratus</i>	NW 004801704.1	<i>DDX3X-linked</i>	u	F	154	X												
<i>Microcebus murinus</i>	NW 012197530.1	<i>DDX3X-linked</i>	u	F	151	X												
<i>Microtus ochrogaster</i>	NC 022016.1	<i>DDX3X-linked</i>	10	F	156	X												
	NW 004949004.1	<i>DDX3X-linked</i>	10	F	156	X												
<i>Miniopterus natalensis</i>							NW 015504423.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M	131	Y						
<i>Monodelphis domestica</i>							NW 001581956.1	<i>DDX3X</i>	4	u	144	X or Y						
<i>Mus musculus</i>							NC 000086.7	u	X	u	156	X	NT 078925.7	u	Y	M*	133	Y
							NT 039700.8	u	X	u	156	X	NC 000087.7	<i>DDX3Y-linked</i>	Y	M*	133	Y
<i>Myotis brandtii</i>							NW 005353545.1	<i>DDX3X</i>	u	M	129	Y						
							NW 005370552.1	<i>DDX3X-linked</i>	u	M	156	X						
							NW 005371796.1	<i>DDX3X</i>	u	M	156	X						

<i>Myotis davidii</i>								NW 006293913.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M	129	Y							
								NW 006282272.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	M	154	X							
<i>Myotis lucifugus</i>	NW 005871124.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F	156	X														
<i>Nannospalax galili</i>	NW 008330152.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F	144	X														
<i>Nomascus leucogenys</i>	NC 019841.1	DDX3X/DX3Y-like	X	F	159	X														
	NW 004087912.1	u	X	F	159	X														
<i>Ochotona princeps</i>	NW 004535465.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F	147	X														
<i>Odobenus rosmarus divergens</i>								NW 004450394.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M	129	Y							
<i>Orcinus orca</i>								NW 004438558.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	M	157	X							
								NW 004439551.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M	157	X							
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	NC 013690.1	<u>DDX3X-linked</u>	X	F	149	X														
	NW 003159320.1	DDX3X	X	F	149	X														
<i>Ovis aries</i>								NC 019484.2	u	X	u	156	X							
								NW 014639036.1	u	X	u	156	X							
<i>Ovis aries musimon</i>								NW 011942313.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	u	156	X							
<i>Otolemur garnettii</i>	NW 003852553.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F	158	X														
<i>Pan paniscus</i>	NC 027891.1	<u>DDX3X-linked</u>	X	F	158	X														
	NW 014014434.1	<u>DDX3X-linked</u>	X	F	158	X														
<i>Pan troglodytes</i>								NC 006491.4	u	X	M	158	X		NC 006492.4	<u>DDX3Y-linked</u>	Y	M	132	Y
<i>Panthera pardus</i>	NW 017619914.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F	157	X														
<i>Panthera tigris</i>								NW 006711887.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	M	157	X							
<i>Panthera tigris altaica</i>								NW 006711914.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M	134	Y							
<i>Pantholops hodgsonii</i>								NW 005805168.1	<u>DDX3X-like</u>	u	M	132	Y							
								NW 005812478.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	M	156	X							
<i>Papio anubis</i>	NC 018172.1	<u>DDX3X-linked</u>	X	F	156	X														
<i>Peromyscus maniculatus bairdii</i>								NW 006501118.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	u	155	X							
<i>Physeter catodon</i>	NW 006716999.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F	157	X														
<i>Pongo abelii</i>	NC 012614.1	<u>DDX3X-linked</u>	X	F	158	X														
	NW 002891967.1	<u>DDX3X-linked</u>	X	F	158	X														
<i>Propithecus coquereli</i>	NW 012143634.1	<u>DDX3X-linked</u>	u	F	157	X														

<i>Pteropus alecto</i>							NW 006441063.1	DDX3X-linked	u	M	152	X						
<i>Pteropus vampyrus</i>	NW 011889185.1	DDX3X-linked	X	F	152	X												
<i>Rattus norvegicus</i>							AC 000089.1	DDX3X-linked	X	u	157	X	NC 024475.1	DDX3Y	Y	Pooled F & M	134	Y
							NC 005120.4	DDX3X-linked	X	u	157	X						
							NW 001091912.1	DDX3X	X	u	157	X						
							NW 007906055.1	DDX3X	X	u	157	X						
<i>Rhinolophus hipposideros</i>	KY793698	DDX3X-linked	X	F	154	X							KY793696	DDX3Y-linked	Y	M	132	Y
													KY793697	DDX3Y-linked	Y	M	129	Y
													KY793699	DDX3Y-linked	Y	M	132	Y
<i>Rhinopithecus bieti</i>							NW 016806164.1	DDX3X-like	u	M	157	X	NW 016894095.1	DDX3Y-like	u	M	142	Y
													NW 016858641.1	DDX3Y-like	u	M	136	Y
													NW 016812399.1	DDX3Y-like	u	M	131	Y
<i>Rhinopithecus roxellana</i>						NW 010809123.1	DDX3X-linked	u	M	157	X	NW 010830185.1	DDX3Y-linked	u	M	132	Y	
<i>Rousettus aegyptiacus</i>							NW 015495136.1	DDX3X-like	u	M	130	Y						
							NW 015494630.1	DDX3X-linked	u	M	159	X						
<i>Sarcophilus harrisii</i>	NW 003831554.1	DDX3X-linked	3	F	141	X												
<i>Sorex araneus</i>	NW 004545915.1	DDX3X-linked	u	F	161	X												
<i>Sus scrofa</i>							NC 010461.4	u	X	u	160	X	NC 010462.2	DDX3Y-like	Y	M*	126	Y
							NW 003612775.1	DDX3X-linked	X	u	160	X	NW 003536870.2	DDX3Y-like	Y	M*	126	Y
<i>Trichechus manatus latirostris</i>	NW 004443982.1	DDX3X	u	F	151	X												
<i>Tupaia chinensis</i>							NW 006209952.1	DDX3X-like	u	M	129	Y						
<i>Tursiops truncatus</i>	NW 004203534.1	DDX3X-linked	u	F	157	X												
<i>Ursus maritimus</i>							NW 007925068.1	DDX3X-like	u	M	133	Y						
							NW 007907313.1	DDX3X-linked	u	M	159	X						
<i>Vicugna pacos</i>	NW 005882843.1	DDX3X-linked	u	F	160	X												

Appendix C: Example of genotype profiles

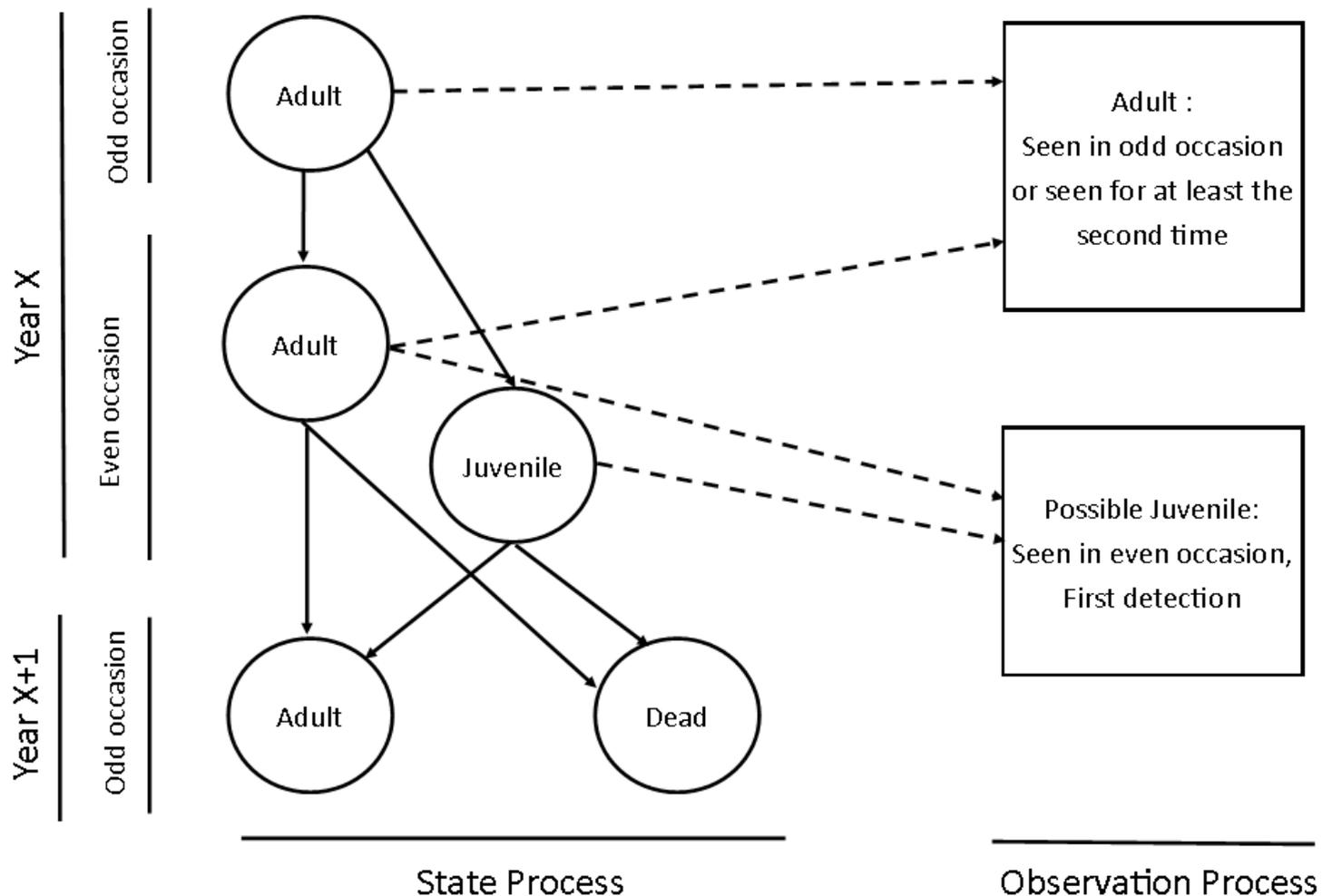


Example of genotype profiles obtained from one male (Sample A) and one female (Sample B) (three replicates each). Highest green peaks correspond to the sexual marker, with the peak at 131 bp corresponding to the Y chromosome, and the peak at 154 bp corresponding to the X chromosome.

Appendix D: Model structure of the Models CMRo and CMRpa

Model CMRo

This model consider two states, Adult and Juvenile. During pre-reproduction occasions, only Adult can be observed, whereas both Adults and Juveniles can be seen during post-reproduction occasions. Juveniles can only be seen at first detection, because it will be considered as an adult the following year. We thus considered two possible observations in our CMR data : "Adult", which correspond to individuals seen in pre-reproduction occasions or seen in post-reproduction occasions for at least the second time, and "Possible juvenile", which are either Juveniles or Adults which was not seen during previous occasions. The probability for an Adult to be seen as a "Possible juvenile" depend on the parameter IA , in the initial state matrix. State transition from pre-reproduction (Adult and Juvenile) to the following post-reproduction occasion (Adult or Dead) depend on the adult and juvenile survival, Φ_a and Φ_j . Φ_a was set to 1 for every transition from pre-reproduction to post-reproduction occasions. For clarity purpose, the observation "Unseen" is not represented in the schema. In matrixes, states are depicted in this order: "Adult", "Juvenile" and "Dead". Observation are depicted in this order: "Adult", "Possible Juvenile" and "Unseen"



Initial State Matrix

$$I = \begin{bmatrix} 1 - lA & lA \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$$

Transition Matrix

$$T = \begin{bmatrix} \phi_a & 0 & 1 - \phi_a \\ 0 & \phi_j & 1 - \phi_j \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

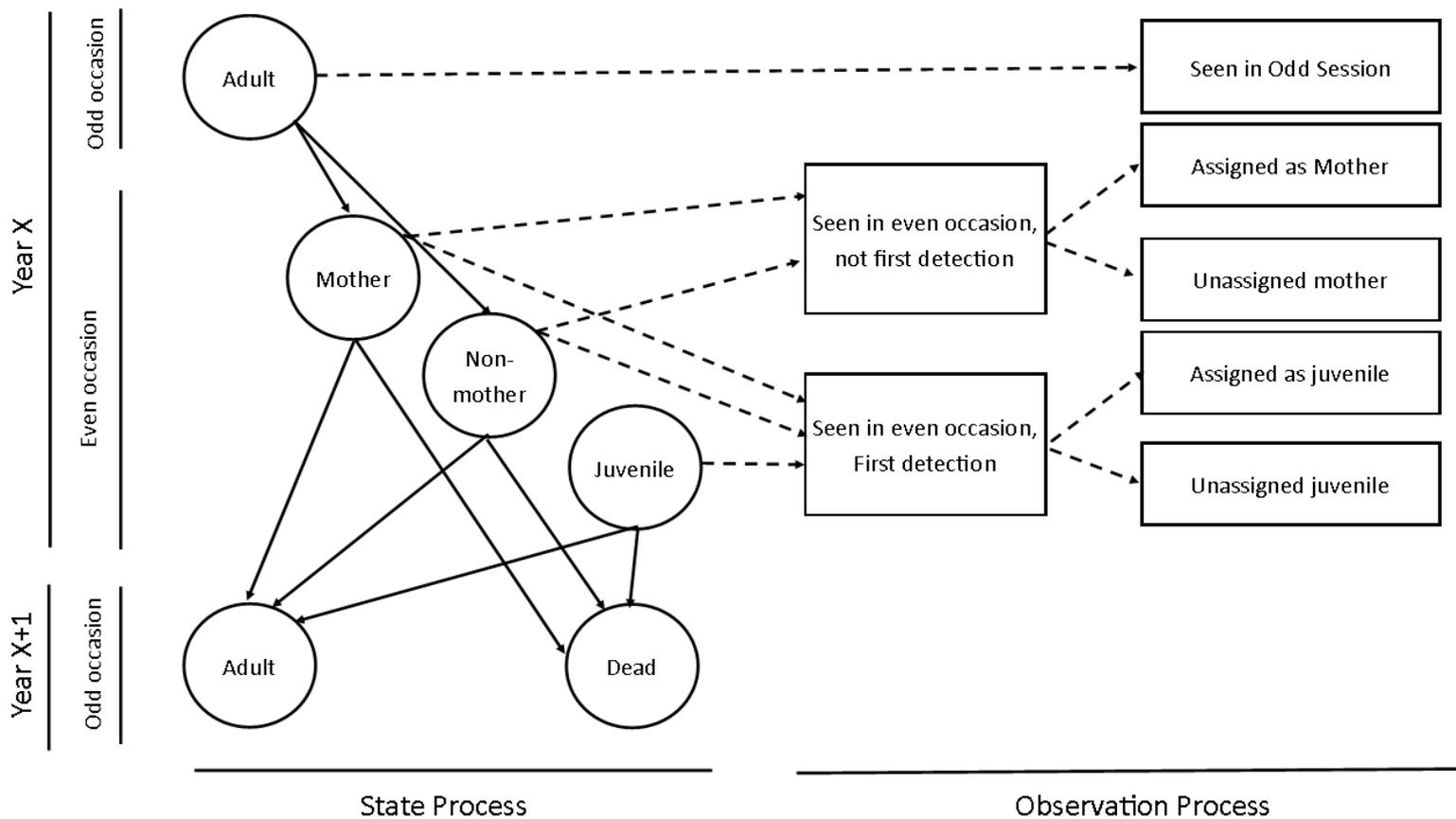
Detection matrix

$$D = \begin{bmatrix} p & 0 & 1 - p \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

Model CMRpa

This model consider four states, Adult, Mother, Non-mother, and Juvenile. During pre-reproduction occasions, every seen individuals are Adults. After the birth of Juveniles (post-reproduction occasions), possible states are Mother, Non-mother, or Juvenile. Juvenile can only be seen at first detection, because it will be considered as an adult the following year. Parentage assignment was made before modelling, and considered, for each year, that every adult females (i. e. females seen during pre-reproduction occasion or seen during post-reproduction occasion and previously detected) was a potential mother and that every individual seen for the first time during post-reproduction occasion was a potential juvenile. Some individual were then assigned as a Mother or as a Juvenile with the method described in Zarzoso-Lacoste et al. (2017). We thus considered five possible observations in our CMR data : "Adult", which correspond to individuals seen in pre-reproduction occasions, "Unassigned mother", which are adults seen in post-reproduction occasion, considered as potential mother but unassigned, "Assigned mother", "Unassigned juvenile", which were considered as potential juvenile but which can also be an Adult that were never detected before and finally "Assigned juvenile". Juveniles can only be seen at first detection, and parameters considering the error assignment for juvenile are thus in the initial state matrix : J_{ass} , the proportion of Juvenile correctly assigned, M_{asJ} , the proportion of Mother wrongly assigned as Juvenile, and N_{asJ} the proportion of Non-mother adults that were wrongly assigned as a Juvenile. The two last parameters was set to be inferior to 0.05. In the same way, individuals can only be potential parents and seen during post-reproduction occasions if it is not the first time they are detected. Parameters dealing with mother error

assignment are then in the detection matrix, with $Mass$, the proportion of Mothers correctly assigned, and $NasM$, the proportion of Non-mother adults wrongly assigned as Mother. The last parameter was set to be inferior to 0.05. State transition from pre-reproduction (Mother, Non-mother and Juvenile) to the following post-reproduction occasion (Adult or Dead) depend on the adult and juvenile survival, Φ_a and Φ_j . State transition from pre-reproduction (Adult) to post-reproduction occasion (Mother or Non-mother) depend on F , the fecundity. For clarity purpose, the observation "Unseen" is not represented in the schema. In matrixes, states are depicted in this order: "Adults", "Juvenile", "Mother", "Non-mother" and "Dead". Observations are depicted in this order: "Adults", "Assigned juvenile", "Unassigned juvenile", "Assigned mother", "Unassigned mother" and "Unseen"



Initial State Matrix

$$I = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & Jass & 1 - Jass & 0 & 0 \\ 0 & MasJ & (1 - MasJ) & 0 & 0 \\ 0 & Nasj & (1 - Nasj) & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

Transition Matrix

$$T = \begin{bmatrix} 0 & 0 & Fec & 1 - Fec & 0 \\ \phi_j & 0 & 0 & 0 & 1 - \phi_j \\ \phi_a & 0 & 0 & 0 & 1 - \phi_a \\ \phi_a & 0 & 0 & 0 & 1 - \phi_a \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

Detection matrix

$$D = \begin{bmatrix} pA & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 - pA \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & pM * Mass & pM * (1 - Mass) & 1 - pM \\ 0 & 0 & 0 & pN * NasM & pN * (1 - NasM) & 1 - pN \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

Appendix E: JAGS script of the integrated population model

```

##### Values supplied to the model #####
# X.phi : vector used to distinguish from one transition to another,
# X.phi=c(1,2,1,2,1,2,1)
# CountA : Number of adult females estimated at each occasion
# CountJ : Number of juvenile females estimated at each post-
# reproduction occasion
# Adinit : Starting value for the number of adult females (estimation from
# the first occasion)
# y : CMR data
# f : Occasion of first detection for each individual
# n.occasions : number of occasions (8)
# n.ind : number of individuals in the CMR data
#####

model {

# Between pre-reproduction and post-reproduction occasions : adult
# survival = 1, and juvenile survival = 0.
# Between post-reproduction and pre-reproduction occasions :
# fecundity = 0.
# For every other transitions : Vital rates are supposed constant.

for (t in 1:(n.occasions-1)){
phiAd[t] <- survAd[X.phi[t]]
}

for (t in 1:(n.occasions-1)){
phiJu[t] <- survJu[X.phi[t]]
}

for (t in 1:(n.occasions-1)){
Fec[t] <- Fecund[X.phi[t]]
}

survAd[1]~ dunif(0.999, 1)
survAd[2]~ dunif(0, 1)

survJu[1]~ dunif(0, 0.001)
survJu[2]~ dunif(0, 1)

Fecund[1]~ dunif(0, 1)
Fecund[2]~ dunif(0, 0.001)

#####

```

```

#
# State-Space Model
#
#####

# Initial population size (NJu : juvenile population size, NAd : adult
# population size).
# At the first occasion (pre-reproduction), there is not any juvenile

n1 ~ dnorm(0, 1000000)T(0,0)
nad ~ dnorm(Adinit, 0.1)T(0,)
NJu[1] <- round(n1)
NAd[1] <- round(nad)

# Juvenile population size : 0 at pre-reproduction occasion,
# Fecundity/2 * Adult population size at post-reproduction occasion.

mean1[2] <- Fecund[1]/2 * NAd [1]
mean1[4] <- Fecund[1]/2 * NAd [3]
mean1[6] <- Fecund[1]/2 * NAd [5]
mean1[8] <- Fecund[1]/2 * NAd [7]
mean1[1] <- 0
mean1[3] <- 0
mean1[5] <- 0
mean1[7] <- 0

NJu[2] ~ dpois(mean1[2] )
NJu[4] ~ dpois(mean1[4] )
NJu[6] ~ dpois(mean1[6] )
NJu[8] ~ dpois(mean1[8] )
NJu[3] <- 0
NJu[5] <- 0
NJu[7] <- 0

# Adult population size : depend of the survival of individuals from
# one year to another

for (t in 2:n.occasions){
meanAd[t] <- survAd[X.phi[t-1]] * NAd [t-1] + survJu[X.phi[t-1]] * NJu [t-
1]
NAd[t] ~ dpois(meanAd[t])
}

# Count of population size : include observation
# error with a Poisson distribution

for (t in 1:n.occasions){
CountA[t] ~ dpois(NAd[t])
}

```

```

CountJ[2] ~ dpois(NJu[2])
CountJ[4] ~ dpois(NJu[4])
CountJ[6] ~ dpois(NJu[6])
CountJ[8] ~ dpois(NJu[8])

#####
#
# CMR
#
#####

# Probability of detection : Adults are only seen during pre-reproduction
# occasion.
# Other states are seen during post-reproduction occasion. pN are
# always inferior to pM.

pAd[1] ~ dunif(0, 1)
pAd[3] ~ dunif(0, 1)
pAd[5] ~ dunif(0, 1)
pAd[7] ~ dunif(0, 1)
pAd[2] <- 0
pAd[4] <- 0
pAd[6] <- 0
pAd[8] <- 0
pN[2] ~ dunif(0, pMo[2])
pMo[2] ~ dunif(0, 1)
pN[4] ~ dunif(0, pMo[4])
pMo[4] ~ dunif(0, 1)
pN[6] ~ dunif(0, pMo[6])
pMo[6] ~ dunif(0, 1)
pN[8] ~ dunif(0, pMo[8])
pMo[8] ~ dunif(0, 1)
pN[1] <- 0
pMo[1] <- 0
pN[3] <- 0
pMo[3] <- 0
pN[5] <- 0
pMo[5] <- 0
pN[7] <- 0
pMo[7] <- 0
JuvAssign ~ dunif(0, 1)
MAssignasJuv ~ dunif(0, 0.05)
MAssign ~ dunif(0, 1)
NAssignasJuv ~ dunif(0, 0.05)
NAssignasM ~ dunif(0, 0.05)

# Diritchlet distribution for gamma distribution

for (i in 1:4) {
a[i] ~ dgamma(1,1)

```

```

pi[i] <- a[i]/sum(a[])
}

##### Define state-transition and observation matrices #####

# Define state probability when an individual is marked
for (i in 1:nind){

for (t in f[i]:f[i+1]){

pj[i,t,1] <- pi[1]
pj[i,t,2] <- pi[2]
pj[i,t,3] <- pi[3]
pj[i,t,4] <- pi[4]

# Define probabilities of O(t) given S(t) at the occasion of marking for
# t=2 (this corresponds to B(0) in E-SURGE notation)
# See initial state matrix of the CMRpa model, Appendix E

p1o[1,i,t,1] <- 1
p1o[1,i,t,2] <- 0
p1o[1,i,t,3] <- 0
p1o[1,i,t,4] <- 0
p1o[1,i,t,5] <- 0

p1o[2,i,t,1] <- 0
p1o[2,i,t,2] <- JuvAssign
p1o[2,i,t,3] <- 1-JuvAssign
p1o[2,i,t,4] <- 0
p1o[2,i,t,5] <- 0

p1o[3,i,t,1] <- 0
p1o[3,i,t,2] <- MAssignasJuv
p1o[3,i,t,3] <- (1-MAssignasJuv)
p1o[3,i,t,4] <- 0
p1o[3,i,t,5] <- 0

p1o[4,i,t,1] <- 0
p1o[4,i,t,2] <- NAssignasJuv
p1o[4,i,t,3] <- (1-NAssignasJuv)
p1o[4,i,t,4] <- 0
p1o[4,i,t,5] <- 0

}

# Define probabilities of state S(t+1) given S(t)
# See Transition matrix of the CMRpa model, Appendix E

```

```

for (t in f[i]:(n.occasions-1)){

ps[1,i,t,1] <- 0
ps[1,i,t,2] <- 0
ps[1,i,t,3] <- Fec[t]
ps[1,i,t,4] <- 1-Fec[t]
ps[1,i,t,5] <- 1-phiAd[t]
ps[2,i,t,1] <- phiJu[t]
ps[2,i,t,2] <- 0
ps[2,i,t,3] <- 0
ps[2,i,t,4] <- 0
ps[2,i,t,5] <- 1-phiJu[t]
ps[3,i,t,1] <- phiAd[t]
ps[3,i,t,2] <- 0
ps[3,i,t,3] <- 0
ps[3,i,t,4] <- 0
ps[3,i,t,5] <- 1-phiAd[t]
ps[4,i,t,1] <- phiAd[t]
ps[4,i,t,2] <- 0
ps[4,i,t,3] <- 0
ps[4,i,t,4] <- 0
ps[4,i,t,5] <- 1-phiAd[t]
ps[5,i,t,1] <- 0
ps[5,i,t,2] <- 0
ps[5,i,t,3] <- 0
ps[5,i,t,4] <- 0
ps[5,i,t,5] <- 1

}

# Define probabilities of O(t) given S(t) after firs mark
# See detection matrix of the CMRpa model, Appendix E

for (t in (f[i]+1):(n.occasions)){

po[1,i,t,1] <- pAd[t]
po[1,i,t,2] <- 0
po[1,i,t,3] <- 0
po[1,i,t,4] <- 0
po[1,i,t,5] <- 0
po[1,i,t,6] <- 1-pAd[t]
po[2,i,t,1] <- 0
po[2,i,t,2] <- 0
po[2,i,t,3] <- 0
po[2,i,t,4] <- 0
po[2,i,t,5] <- 0
po[2,i,t,6] <- 0
po[3,i,t,1] <- 0
po[3,i,t,2] <- 0
po[3,i,t,3] <- 0

```

```

po[3,i,t,4] <- pMo[t] * MAssign
po[3,i,t,5] <- pMo[t] * (1-MAssign)
po[3,i,t,6] <- 1-pMo[t]
po[4,i,t,1] <- 0
po[4,i,t,2] <- 0
po[4,i,t,3] <- 0
po[4,i,t,4] <- pN[t] * (NAssignasM)
po[4,i,t,5] <- pN[t] * (1 - NAssignasM)
po[4,i,t,6] <- 1-pN[t]
po[5,i,t,1] <- 0
po[5,i,t,2] <- 0
po[5,i,t,3] <- 0
po[5,i,t,4] <- 0
po[5,i,t,5] <- 0
po[5,i,t,6] <- 1

}}

##### Likelihood #####

for (i in 1:nind){

# Define latent state at first capture

z[i,f[i]] ~ dcat(pj[i,f[i],])
y[i,f[i]] ~ dcat(p1o[z[i,f[i]],i, f[i],])

for (t in (f[i]+1):n.occasions){

# State process: draw S(t) given S(t-1)

z[i,t] ~ dcat(ps[z[i,t-1],i,t-1,])

# Observation process: draw O(t) given S(t)

y[i,t] ~ dcat(po[z[i,t],i,t,])

} #t

} #i

} #model

```

Appendix F: MSVAR analyses

We searched for bottleneck signals in 42 populations using MSVAR v1.3 with three Monte Carlo Markov chains (MCMC) for each population. Priors differed among the three chains, considering reductions in effective population size of distinct severity and/or distinct time periods since the reduction, but were identical for each population (with the exception of the random seed). Those priors are presented below. The first 50 000 values of each chain were discarded as burn-in before the computation of Bayes factors and the Gelman & Rubin's convergence diagnostic.

Chain 1:

```
"random seed"
2
2
1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2
1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3
1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3
1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2
0 0 0 0
2 1
3 1
-3.5 1
2 1
2 2 0 0.5
3 2 0 0.5
-3.5 0.25 0 0.5
2 2 0 0.5
1
500000
10000
```

Chain 2:

```
"random seed"
2
2
1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2
1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3
1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3
1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3
0 0 0 0
```

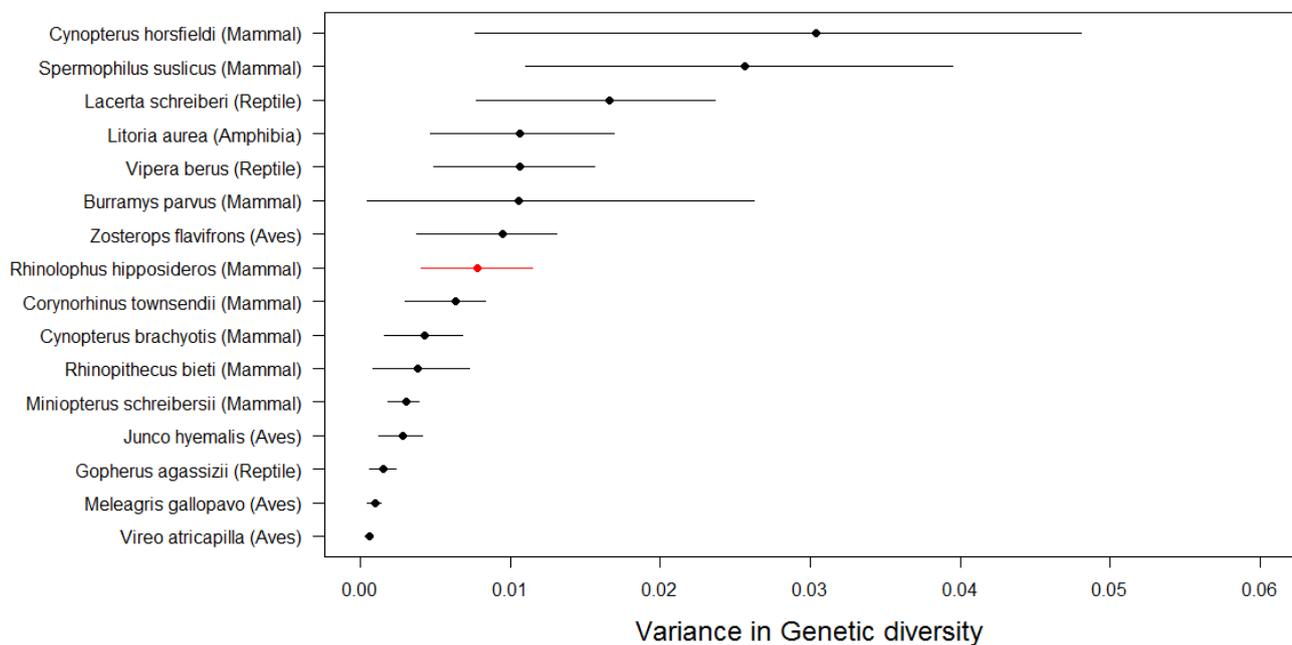
2 1
3 1
-3.5 1
2 1
2 2 0 0.5
3 2 0 0.5
-3.5 0.25 0 0.5
2 2 0 0.5
1
500000
10000

Chain 3:

"random seed"
2
2
1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3 1.0e3
1.0e4 1.0e4 1.0e4 1.0e4 1.0e4 1.0e4 1.0e4 1.0e4
1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3 1.0e-3
1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2 1.0e2
0 0 0 0
2 1
3 1
-3.5 1
2 1
2 2 0 0.5
3 2 0 0.5
-3.5 0.25 0 0.5
2 2 0 0.5
1
500000
10000

Appendix G: VarVer database

The VarVer (Variation in Vertebrates) database provides information regarding microsatellite variation in natural populations of vertebrates (Yashima and Innan 2017). We investigated this database to put into context the variation of genetic diversity between populations observed in *Rhinolophus hipposideros* by comparing it to other species. We only considered terrestrial vertebrates with data available for at least 10 populations and collected at a spatial scale in the same order of magnitude as our data (between 10^5 and 10^6 km²). Comparing the variance of genetic diversity between populations observed in our dataset to those of the 15 species that met aforementioned criteria demonstrates that the variance in genetic diversity of *R. hipposideros* is well within the overall range, and that differences in genetic diversity levels between populations are worth investigating for a wide range of taxa.



Interpopulation variance of genetic diversity for 15 species based on an assessment of the VarVer database (black dots) and *R. hipposideros* populations investigated in our study (red dot). Confidence Intervals were calculated by bootstrapping (10 000 replicates).

RÉSUMÉ

Étude non invasive de la dynamique et de la génétique des populations chez une chauve-souris forestière : impact de la qualité de l'habitat et de la connectivité

Mettre en place des mesures de protection efficaces contre la dégradation et la fragmentation de l'habitat d'une espèce nécessite d'être capable de comprendre l'impact de l'environnement sur sa dynamique de population ainsi que sa sensibilité à la perte de connectivité entre les populations. Obtenir ces informations est déjà un défi en soi, qui se complique encore pour les espèces trop sensibles au dérangement pour être suivies de manière classique. Lors de ce travail, nous avons étudié la dynamique et la génétique des populations d'une chauve-souris forestière qui a subi un très fort déclin dans le nord de l'Europe, le Petit rhinolophe (*Rhinolophus hipposideros*), à l'aide de méthodes non-invasives (comptages, génétique non-invasive). Nos résultats ont montré que le climat et le paysage autour des colonies de maternités influence la taille et la dynamique des populations du Petit rhinolophe. Nous avons également confirmé un impact direct du paysage sur la survie des juvéniles. Enfin, nous avons observé que la diversité génétique des populations pouvait être fortement diminuée par leurs histoires démographiques et par un manque de connectivité entre les populations. Ces résultats ont des implications directes pour la conservation du Petit rhinolophe mais aussi pour le développement des analyses intégrant des données de génétique non-invasive pour la biologie de la conservation.

Mots-clés : génétique non-invasive, modèle de population intégré, model averaging, isolement par la distance, *Rhinolophus hipposideros*.

ABSTRACT

Non-invasive study of the population dynamics and genetics of a woodland-specialist bat: impact of habitat quality and connectivity

*Efficient conservation management against habitat degradation and fragmentation of a species requires understanding how the environment impacts its population dynamics and the species' sensitivity to connectivity loss. Acquiring sufficient knowledge about these processes is challenging for any species, and is even more complicated for species too sensitive to be studied with classical methods. During this work, we studied the population dynamics and genetics of a woodland specialized bat who has undergone a serious decline in the north of Europe, the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*), with non-invasive methods (counts, non-invasive genetics). Our results shown that climate and landscape around maternity colonies explain population size variations and dynamics of the lesser horseshoe bat. We also confirmed a direct impact of landscape on juvenile survival. We finally observed that genetic diversity could be strongly decreased by population history and a lack of connectivity between populations. Our results have direct implications for the lesser horseshoe bat conservation but also for the development of analyses integrating non-invasive genetic data in conservation biology.*

Keywords: *noninvasive genetics, integrated population model, model averaging, isolation by distance, *Rhinolophus hipposideros*.*



AGROCAMPUS OUEST • Institut supérieur des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage
65 rue de Saint-Brieuc – CS84215 – F-35042 Rennes Cedex
Tél. : 02 23 48 50 00
www.agrocampus-ouest.fr

