THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'INSTITUT DES SCIENCES ET INDUSTRIES DU VIVANT ET DE L'ENVIRONNEMENT-AGROPARISTECH

N° 2017AGPT0014

En Ecologie et Biodiversité

Ecole doctorale GAIA-Biodiversité, Ecologie, Agriculture, Alimentaire, Environnement, Terre, Eau-N°584
Portée par l'Université de Montpellier

Unité de recherche
Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive
(UMR 5175 - CNRS)

Conservation de deux mégachiroptères des Comores, une approche multidisciplinaire et intégrative

Présentée par
Mohamed Thani IBOUROI

Le 23 Novembre 2017

Sous la Direction de Claude MIAUD et Aurélien BESNARD

Devant le jury composé de :

Claude MIAUD, Directeur d'Etude, EPHE	**Directeur de thèse**
Aurélien BESNARD, Maître de Conférences, EPHE	**Co-Directeur de thèse**
Éric PETIT, Directeur de Recherche, INRA	**Rapporteur**
Emmanuelle CAM, Professeur, Université Toulouse 3, Paul Sabatier	**Rapporteur**
Anne-Caroline PREVOT, Directeur de Recherche, CNRS	**Examinateur**
Olivier GIMENEZ, Directeur de Recherche, CNRS	**Président du jury**

AgroParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET INDUSTRIES DU VIVANT ET DE L'ENVIRONNEMENT
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY FOR LIFE, FOOD AND ENVIRONMENTAL SCIENCES

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

Table des matières

Table des matières ix

RESUME ..... **Erreur ! Signet non défini.**

ABSTRACT ..... **Erreur ! Signet non défini.**

REMERCIEMENTS xvii

Chapitre 1 1

INTRODUCTION GENERALE 1

1-Biodiversité et services écosystémiques 2

2-Qu'est-ce que favorise un écosystème complexe dans le service écosystémique 4

3- Sixième masse d'extinction des espèces et causes anthropiques de la perte de biodiversité 5

4-Théorie de McArthur et espèces insulaires 6

5- Les chauves-souris 9

5.1- Les chauves-souris et leur importance pour l'humanité 9

5.2- Les renards volants, un groupe de Yinpterochiroptera particulièrement menacé 11

6- L'archipel des Comores 14

6.1- Situation administrative des Comores 16

6.2- Quatre îles «vraies» océaniques isolées les unes des autres 16

6.3- Pertes directes et fragmentation des habitats en archipel des Comores 23

6.4- Aux Comores, une flore et une faune hautement diversifiée 25

6.5- Les chauves-souris des Comores 25

6.6- Les renards volants des Comores 26

6.7- Enjeux de conservation 31

7- Objectifs scientifiques de la thèse 32

8- Méthodes d'étude sur le terrain 37

8.1- Quelques méthodes adoptées pour la collecte des données de terrain 37

8.1.5-Approches sociales pour évaluer l'effet de l'utilisation des ressources naturelles sur la perte des habitats (*manuscrit 5*). 43

BIBLIOGRAPHIE 49

Chapitre 2 57

2-Une analyse multi-échelle de la sélection de l'habitat chez deux mégachiroptères sympatriques révèle le besoin urgent d'une stratégie de conservation 57

Contexte 58

Matériels et Méthodes 59

Résultats principaux 59

A habitat suitability analysis at multi-spatial scale of two sympatric flying fox species reveals the urgent need for conservation action 61

1-ABSTRACT 62

2- INTRODUCTION 63

3- MATERIALS AND METHODS 65

3.1- Study area 65

3.2- Data collection 65

3.2.1-Roosting counts 66

3.2.2-Ecological niche modeling at a broad scale 66

3.3-Statistical analysis 67

4- RESULTS 70

4.1- *Pteropus s. comorensis* 70

4.2- *Pteropus livingstonii* 76

6- DISCUSSION 80

6.1- Pteropus s. comorensis 80

6.2- Pteropus livingstonii 81

7- MANAGEMENT IMPLICATIONS 85

Acknowledgments 86

LITERATURE CITED 87

Chapitre 3 91

3-Variabilité génétique des Populations du genre *Pteropus* dans l'archipel des Comores 91

3.1-L'échantillonnage génétique non invasif chez deux chauves-souris frugivores permet d'obtenir un taux de génotypage élevé et un taux d'erreurs faible lors de l'amplification de l'ADN. 91

Contexte 92

Matériels et Méthodes 92

Résultats principaux 93

Noninvasive genetic sampling of two flying fox species provides a high rate of genotyping success and a low error rate during amplification 95

1-ABSRACT 96

2-INTRODUCTION 97

3- MATERIALS AND METHODS 98

Effect of the conservation method, sampling period and preservation time on the mtDNA success rate 100

4-REUSLTS 101

4.1- PCR success with mtDNA 101

4.2-Phylogenetic analysis with mtDNA 102

4.3- Genotyping success and error rates with microsatellite loci 102

5- DISCUSSION 106

5.1-Impact of sampling condition, preservation methods and storing duration on amplification success rate 106

5.2- Effect of laboratory process on mtDNA success rate 107

5.3- Importance of testing samples with mtDNA before genotyping 108

5.4- Genotyping and error rates with microsatellite loci 109

6- CONCLUSION 110

Acknowledgments 111

LITERATURE CITED 112

3.2- Profil génétique contrasté entre deux espèces de chauves-souris frugivores sympatriques: Implication pour la conservation des populations menacées 115

Contexte 116

Materiels et Méthodes 117

Résultats principaux 117

Contrasted genetic patterns between two endemic and sympatric flying fox species from the Comoros Islands: implications for conservation of threatened populations of islands 120

1-ABSTRACTS 121

2- INTRODUCTION 122

3- MATERIALS AND METHODS 124

3.1- Field sampling 124

3.2-Laboratory process 125

3.3-Analytical methods 125

4- RESULTS 127

4.1- Sequence authentication 127

4.2-*P. s. comorensis* 130

4.2.2- Population structure 132

4.3- *P. livingstonii* 133

4.4- Population Bottleneck 135

4.5- Comparison between the two studied species and other flying fox 135

5- DISCUSSION 136

5.1- Comparison of the genetic structures of *P. livingstonii* and *P. s. comorensis* 136

5.2- Genetic diversity 140

5.3- Conservation strategy for *P. livingstonii* 140

5.4- Conservation strategy of *P. s. comorensis* 141

Acknowledgments 143

LITERATURE CITED 143

Chapitre 4 147

4-Le marquage génétique non invasif chez les chauves-souris frugivores : une méthode intéressante mais trop couteuse pour le suivi des paramètres démographiques 147

Article à soumettre à ***Animal Conservation*** 148

Contexte 148
Matériels et Méthodes 148
Résultats principaux 149
Individual non-invasive genetic sampling in critically endangered flying foxes: a valuable but too costly method for monitoring demographic parameters 150
1-ABSTRACT 151
2- INTRODUCTION 152
3- MATERIALS AND METHODS 155
3.1- Field sampling 155
3.2- Laboratory process 155
3.3-Species and individual identification 155
3.4- CMR data simulations and associated costs 156
4- RESULTS 158
4.1- Species authentication and individual identification 158
4.2- Cost of NIGS monitoring 161
4.3- Demographic parameter estimates using simulated CMR datasets 163
5- DISCUSSION 165
5.1- Demographic parameters 166
6- Conclusion 167
Acknowledgments 168
LITTERATURE CITED 169
Chapitre 5 174
5- La pauvreté est la principale cause de l'utilisation non durable des ressources naturelles dans l'Union des Comores 174
Contexte 175
Matériels et Méthodes 175
Résultats principaux 176
Poverty is the main driver of unsustainable use of natural resources in the Comoros Islands 178

1-ABSTRACT 179
2- INTRODUCTION 180
3- MATERIALS AND METHODS 183
3.1- Study area 183
4- RESULTS 189
4.1- Semi-structured questionnaire and classical interviews with local population 189
4.1.1-Local perception of wild animals 191
4.1.2-Local perception of fruit bats 195
4.1.3-Biodiversity and conservation 195
4.2- Q-sort results and Varimax 198
4.3- Inter-class principal Component Analysis 201
5-DISCUSSION 204
5.1- Natural resource use by local people and its relatedness to forest loss 204
5.2- Conservation and recommendations 206
Acknowledgments 207
LITERATURE CITED 208
Chapitre 6 213
6- DISCUSSION GENERALE 213
6.1- Distribution spatiale, diversité génétique et étude socio-économique 214
6.2- Mesures de conservation de la biodiversité et des habitats naturels aux Comores 221
6.3- Mesures de conservation du *P. livingstonii* 224
6.4- Mesures de conservation du *P. s. comorensis* 225
6.5- Perspectives de recherches pour améliorer les stratégies de conservation 225
BIBLIOGRAPHIE 230
Annexe 1 : ..... AA
Matériel supplémentaire du chapitre 2 ..... AA
Figure S1: Map showing the location of modeled occurrence points for *P. livingstonii* and *P. s. comorensis* and topography in the Mohéli Island. ..... AA

Figure S2: Map showing the location of modeled occurrence points for *P. s. comorensis* and topography in the Grande Comore Island. CC

Figure S3: Map showing the location of modeled occurrence points for *P. livingstonii* and *P. s. comorensis* and topography in the Anjouan Island. ..... DD

Table S1: Characteristics of roosting trees used by the *P. s. comorensis* in the three islands..... EE

Table S2: Characteristics of roosting trees used by *P.livingstonii* in Anjouan and Moheli Island per site ..... FF

Annexe 2 : ..... HH

Matériel supplémentaire du chapitre 3 ..... HH

Figure S1: Sampling locations in the four islands of Comoros (tissue samples are collected in the four islands while fecal samples are collected only in the three islands of the Union of Comoros (Anjouan, Mohéli and Grande Comore); green and blue circles represent the sampling location for *Pteropus livingstonii* and *P. seychellensis* comorensis respectively; Black circles represent the roost shared by the two species and red represent all sites where *P. livingstonii* apparently occurs alone during the daytime but using genetic analysis we found sequences for P. s. comorensis in the droppings ..... HH

Table S1: Accession number of sequences (for *P. livingstonii* and *P. s. comorensis*) collected in Gene Bank in order check for the belonging of fecal samples to the target species using phylogenetic analyzes II

Table S2: Detailed genetic diversity metrics using microsatellite loci for the two flying fox species from different Islands of Comoros. ..... JJ

Annexe 3 : LL

Matériel supplémentaire du chapitre 4 LL

Figure S1: *Pteropus livingstonii* fecal sampling locations in the two islands (Mohéli and Anjouan) LL

Annexe 4: ..... MM

Matériel supplémentaire du chapitre 5 ..... MM

Table S1: Q-sort results; values on the tables represent the number of statements, see table 2 (chapter 5) for details of statements. ..... NN

Cette thèse est un hommage à mon regretté père

IBOUROI Haliba

Il était un homme exceptionnel, un pilier solide incontournable pour toute la famille, qu'il repose en paix...

REMERCIEMENTS

Cette thèse est financée par la Banque Islamique de Développement à travers un « *Merit Scholarship Program* », elle a été préparée au sein de l'équipe Biogéographie et Ecologie des Vertébrés (BEV), du Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive (CEFE), UMR 5175 (CNRS, 1919 route de Mende F-34293 MONTPELLIER Cedex 5).

Au sein du laboratoire, je tiens à remercier les différentes équipes et services, notamment le Service des Marqueurs Génétiques en Ecologie (SMGE), où j'ai passé la moitié de mon temps pour les PCRs.

Un grand merci à la plateforme d'ADNs dégradés du LABEX, Université de Montpellier qui malgré la mauvaise qualité de mes échantillons de crottes de roussettes, souvent liquides, dégradées ou saturés par des moisissures dues à l'humidité des forêts d'Anjouan ; ils ont prévu tous les équipements nécessaires pour que je puisse extraire mes ADNs dans les meilleurs conditions.

Je souhaite remercier également la plateforme « Génotypage Séquençage » du LABEX, ils ont toujours été disponibles pour accueillir mes plaques pour le génotypage.

Merci à la Direction de l'Environnement et des forêts (Comores), au Centre de Documentation et de la Recherche Scientifique (CNDRS, Comores), à l'Université des Comores et plus particulièrement au Département des Sciences de la Terre, ainsi que l'institution DAHARI pour avoir contribué au bon déroulement de mes travaux de terrain.

Je souhaite exprimer mes sincères remerciements aux nombreuses personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Tout d'abord, j'exprime mes premiers remerciements à **Aurélien BESNARD** ; merci Aurélien de m'avoir fait confiance, je n'avais ni l'expérience de terrain sur les chauves-souris, ni l'expérience sur les analyses génétiques et ni l'expérience sur l'espèce étudiée, mais tu as accepté d'encadrer ce travail. Un travail qui pour moi a commencé comme une véritable

aventure. Merci pour tes conseils précieux et ton investissement sans égal tout au long de ce travail, tu as toujours été disponible pour répondre à mes questions qui parfois étaient insensées et tu as toujours répondu. C'est grâce à ton aide et à ton soutien permanent notamment pour l'organisation des missions de terrain etc., tes conseils sur les analyses, tes corrections des articles, tes recommandations pertinentes, que j'ai pu mener à bien ce travail.

Merci à **Claude MIAUD**, le Directeur de l'équipe BEV, pour avoir accepté de co-diriger ma thèse, tes conseils lors des différents comités de thèse ont été efficaces pour le bon déroulement de cette étude.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à **Véronique ARNAL** pour m'avoir encadré dans les manips de laboratoire. Je n'étais pas molécullariste à la base et elle a su m'enseigner ce que je sais faire aujourd'hui… la première formation qu'elle m'a montré est « comment utiliser les pipettes durant les extractions d'ADN et PCRs ? », Peut être que je n'étais pas nul mais je n'avais tout simplement jamais fait ça avant…, merci Véro pour ton affection et ton aide.

Je tiens à remercier **Claudine MONTGELARD** de m'avoir encadré dans le volet Biologie moléculaire. Je t'ai souvent embêtée dans ton bureau lorsqu'il s'agit de demander des petits détails de la biologie moléculaire…merci pour tes conseils fructueux.

Un grand merci à **Nicolas LESCUREUX** pour ses conseils précieux et son investissement dans la réalisation de mon étude socio-économique.

Merci aux membres de mon comité de thèse pour leurs conseils, qui m'ont permis d'améliorer ce travail, plus particulièrement à **Elena PAPADATOU** qui malgré la distance a toujours répondu présent en visio-conférence durant les deux comités de thèse ; à **Hélène FREVILLE et à Olivier GIMINEZ.**

Je remercie également les membres de mon jury qui ont accepté d'évaluer mon travail de thèse, notamment à **Emmanuelle CAM**, **Éric PETIT, Olivier GIMINEZ** et **Anne-Caroline PREVOT**.

J'adresse mes sincères remerciements à **Lounès CHIKHI**, mon encadrant de Master, de m'avoir initié à la recherche, c'est grâce à toi Lounès que je suis arrivé là.

Merci à toi **Jordi SALMONA** (le meilleur des co-encadrant de Master), c'est grâce à toi que j'ai eu la force de continuer, je te dois la reconnaissance car sans toi je ne serais peut-être pas arrivé là. Merci encore pour avoir partagé des petits moments d'ambiances dans les plages de Mahajanga, au Nord de Madagascar, et au Portugal…

Merci à toi **Dawiyat MASSOUDI** (ma meilleure amie du lycée) pour ton encouragement, ça fait 15 ans qu'on s'est jamais revu après le Bacc mais les échanges partagés à distance ont été fructueux. Tu m'as toujours dit que j'allais y arriver même si je ne l'ai cru qu'au dernier moment, merci car j'y suis déjà ou presque. Merci aussi d'avoir relu mon premier papier de cette thèse.

Merci à toi **Ali CHEHA** d'avoir réalisé ton stage de M2 avec moi, ta contribution dans les manips était efficace et précieuse ; je te souhaite une très bonne continuation dans ton nouvel métier d'enseignant de SVT à Paris.

Merci à toi **Guillelme ASTRUC** pour tes conseils sur la création des couches rasters, c'est grâce à toi que j'ai eu ma première expérience au cefe, une expérience qui m'a permis d'écrire mon premier article en tant que doctorant, merci aussi pour ton sourire, tu as toujours été gentille avec moi et tu seras parmi les plus difficiles à oublier après mon départ.

Merci aussi à Cyril BERNARD pour son aide pour l'obtention des variable climatiques et topographiques utilisé dans manuscrit 1

Merci à toutes les personnes du SMGE chez qui j'ai acquis de nombreuses connaissances, que ce soit au cours des PCR, des GELS ou pendant les dilutions des produits PCRs, merci pour vos sourires, ils m'ont permis de garder l'espoir, je pense à **DUBOIS Marie-Pierre,**

ZAHAB Roula, SOURROUILLE Patricia, SEGARD Adeline, POULAIN Marie, NICOT Antoine, JOFFARD Nina, ARNAL Véronique, BELLANGER Jean-Michel et tous les autres que je n'ai pas cité….

Merci à mon assistant de terrain, **Said Ali DHURHAM**, merci de ta contribution dans cette étude, tu as toujours été courageux depuis nos terrains à Madagascar et j'espère que tu réussiras à trouver ta thèse de rêve, mais en attendant, j'espère te revoir bientôt pour notre prochaine mission de terrain sur les lémuriens.

Je souhaite remercier tous les agents de terrain ayant contribué à ce travail : je vais commencer par les agents du Parc National de Mohéli, le Directeur du Parc, mais aussi à Mme **Rainati AHAMADA**, responsable du développement local du Parc National pour ses conseils et ses réponses à mes questions, à Sam (Agent du parc).

Merci à tous les agents de Dahari qui ont contribué à ce travail, Ihsane, Steeves, Ishaka.
Merci à Faiz, tu as toujours été disponible pour parcourir la forêt de Nioumachoua pour localiser les Livingstones.

Merci à **Tonton Moussi**, pour l'hospitalité, je n'ai jamais manqué de rien et merci pour m'avoir invité pour le dernier Voulé c'était très bien et très facile à l'aller mais au retour, j'ai traversé 2 kilomètres d'eaux océaniques profondes à la nage à marée haute, heureusement que Zaidou était là pour m'encourager.

Merci à mes guides locaux, **Papa Chantal** et **Zourou** de Walla 2**, Ali Djaha** de Mpage, **Abdallah Mahadali** de Bazimini, **Ansumdine** de Salamani, ma petite **Laymoune** de Ada**, Dani** de Hombo, **Chauffera** de Outsa, **Djaelane Ibrahim** de Dindri, **Bastoine** de Limbi,
Tous nos guides et assistant de terrain de la grande Comore, je remercie tout particulièrement mon cousin d'enfance Amed Hassane **GOLIER**, tu es le meilleur grimpeur d'arbres du 21ème siècle et tu étais toujours efficace lors des captures des ***Pteropus*** et

surtout quand il faut grimper rapidement pour récupérer un animal capturé en milieu de la nuit, merci **Golier**. Je remercie tous les autres guides locaux, **Massoudi**, **Hamza** et **Msaidiyé**.
Je souhaite remercier mes amis du labo, de mon équipe de travail ou pas, avec qui nous avons partagé des moments d'ambiance et de travail ;

Sebastia CAMARA, Sebastia, tu es mon meilleur ami du labo, on a beaucoup travaillé ensemble sur les microsatellites et notamment avec le logiciel Gene Mapper, les cigarettes qu'on fumait ensemble lors des petites pauses-café ont été efficaces car permettaient de bien localiser les profils des allèles.... Merci Seb pour avoir été là, tu m'as toujours encouragé et tu as toujours été positif vis-à-vis de mes travaux. Je n'oublierai jamais nos sorties de soirées dans la Taverne de Perroquet ou dans les rues de Montpellier jusqu'à 5 h du matin avec **Rigo BERTO et Anabela,** olalalala…, je te souhaite une très bonne continuation pour ta fin de thèse espérant que tu pusses la finir en début de 2018 comme prévu.
Merci à tous mes amis d'avoir été là pour m'encourager, Jules CHIFFARD (tes petits astuces sous R m'ont beaucoup aidé), Amar (mon conseiller), je te remercie Amar, on a partagé des bons moments ensemble au Cefe…

Merci à Pauline, Coline, Julie et Alicia, vous êtes mes professeurs de ski, je vous promets que la prochaine fois qu'on part au ski, je me présenterai candidat au concours national de ski dans les Alpes, c'est une question de temps mais il ne faut pas que j'ai mal à la dent par contre…

Merci encore à Pauline, Coline et Emilie pour avoir lu mes papiers, j'ai bien pris en compte vos remarques.

Merci à tous les thésards et post doctorants de l'équipe avec qui j'ai partagé cette aventure, Julie ! Tu as toujours été positive sur ce que je faisais pendant que moi-même je déprimais, merci de m'avoir toujours encouragé et je te souhaite bonne chance pour ta fin de thèse.
Merci à **Marco, Marco, Thiery, Marie, Charlotte, Thimoté, William, Gaëlle, Raphael, Pierrick, Christelle, Philippe Geniez, Jean-Yves Barnagaud, Alexis, Roozbeh** (j'espèce que t'es bien installé au Canada)

Un remerciement spécial à **Guillaume**, merci Guillaume pour ton sourire et merci aussi pour m'avoir emmené à danser le reggaeton et m'avoir fait gouter la saucisse rougay

Merci à l'ensemble des partenaires financiers qui ont soutenu les différentes études composant au final l'ensemble de ce travail.

Chapitre 1

INTRODUCTION GENERALE

1-Biodiversité et services écosystémiques

Les sociétés humaines sont fortement dépendantes des écosystèmes naturels qu'elles occupent et exploitent ainsi que de l'immense biodiversité animale et végétale que ces écosystèmes abritent (Giannini et al., 2012; Zhao et al., 2016). En effet, l'homme bénéficie de deux catégories d'apports produits par les écosystèmes naturels pour satisfaire ses besoins et son bien-être. Dans une première catégorie, il s'agit des bénéfices directs aux humains tels que la production des matières premières qu'ils utilisent, notamment la nourriture, l'eau, les plantes médicinales, des produits textiles et des produits renouvelables à des fins énergétiques comme le bois d'énergie (Jacobs et al., 2015). L'exemple le plus concret de ce type d'intérêts directs que l'humanité tire des écosystèmes naturels concernent les produits de consommation. Par exemple, les animaux constituent une source importante de protéines, d'énergie et de médicaments utilisés par les humains. Une étude récente a, par exemple, montré que plus de 6,7% des protéines ingérées par l'Homme proviennent uniquement de la ressource en poissons produite par les écosystèmes aquatiques. Ainsi plus de 77 millions de tonnes de poissons sont péchés en moyenne par an au niveau mondial dont 60% correspondent à la production naturelle et 40% à l'aquaculture (Gros, 2014). Une autre étude a montré qu'en ce qui concerne le secteur de bois forestier, 3,8 milliards de mètres cubes de bois sont récoltés annuellement dans les forêts à l'échelle mondiale (Guinard, 2009).

La deuxième catégorie de bénéfices tirés par l'homme des écosystèmes concerne les profits indirects. Il s'agit, par exemple, de la régulation de la qualité de l'air et de l'eau mais aussi de la régénération des sols, de la protection contre les inondations ainsi que l'amélioration de l'agriculture (Dicks et al., 2016; Gallai et al., 2008).

Ces bénéfices sont tels que même en se cantonnant à la diversité animale, l'humanité en tire des bénéfices sans lesquels son existence serait problématique (Kremen et al., 2007). Certaines espèces animales, ou groupes d'espèces, rendent service à l'homme à la fois directement et indirectement. C'est le cas par exemple, des abeilles qui, en produisant du miel, constituent une importante source de nourriture pour l'Homme. La FAO estimait ainsi la production mondiale de miel à 1,54 millions de tonnes en 2010 pour une somme évaluée à 134 millions d'euros (FAO 2010). Mais les abeilles jouent aussi un rôle essentiel pour l'agriculture à travers la pollinisation des plantes. Ainsi la production agricole liée à la

pollinisation par les insectes est évaluée à plus de 153 milliards d'euros, soit 9,5 % de la valeur de l'ensemble de la production alimentaire mondiale (Brosseau et al., 2017; Gallai et al., 2008) et plus de 80% de la production des espèces végétales dont l'humanité se nourrit dépend directement de la pollinisation (Gallai et al., 2008). Par ailleurs, la pollinisation par les animaux, notamment des insectes, ne se limite pas aux seules plantes à intérêts économiques. Les pollinisateurs participent également à la régulation des écosystèmes naturels, par exemple à travers la pollinisation dans les écosystèmes forestiers et contribuent ainsi au maintien d'un équilibre dynamique des habitats naturels (Kremen et al., 2007). D'autres animaux frugivores et nectarivores, tels que certains mammifères comme des primates, qui sont liés à la forêt, contribuent aussi pleinement à cette dynamique des écosystèmes à travers la pollinisation mais aussi par la dispersion des graines des plantes fruitières. Cette dispersion assure le maintien de la connectivité entre les fragments forestiers, permettant des échanges entre les habitats isolés, le maintien de flux de gènes et donc de la diversité génétique, ce qui accroit le potentiel dynamique et la complexité des habitats naturels nécessaires pour le bien-être de l'humanité (Giannini et al., 2012). C'est de ces intérêts et de cette dépendance de l'homme aux écosystèmes qu'a émergée la notion de «services écosystémiques» (Groot et al., 2002).

Les premières études ayant élaboré le concept de «service écosystémique» ont émergées dans les années 1960 (Groot et al., 2002). L'objectif premier de ces études était de favoriser l'émergence d'un concept permettant d'alerter les politiciens et les opinions publiques quant à la vitesse alarmante de la perte de la biodiversité et des espaces naturels en montrant qu'une telle perte avait des conséquences économiques du fait des avantages et intérêts rendus aux humains par les animaux et les végétaux (Ryan et al., 2016). Pour mettre cela en évidence, les scientifiques ont par exemple évoqué les effets de la déforestation et mettaient ainsi en évidence l'importance des fonctions remplies par la forêt et la biodiversité de manière générale pour les sociétés humaines. Dès lors, plusieurs définitions du concept de service écosystémique ont été proposées mais la plus commune définie ce concept comme étant «les bénéfices que retirent les humains des écosystèmes» (Hanson et al., 2009).

2-Qu'est-ce que favorise un écosystème complexe dans le service écosystémique

Les espèces animales agissent, à travers les services écosystémiques, sur le bien-être de l'humanité. Par ailleurs, chaque espèce intervient à sa manière dans le fonctionnement des écosystèmes avec une fonction bien précise d'où l'intérêt global de la diversité spécifique pour l'équilibre des écosystèmes (Santos et al., 2012). Il a par exemple été montré qu'au niveau des écosystèmes naturels, les services écosystémiques apportés par les animaux sont d'autant plus importants que la richesse spécifique animale est élevée (Hooper et al., 2005). Par exemple, une étude évaluant l'efficacité de la pollinisation par les insectes montre que les chances qu'une plante soit visitée par un polinisateur augmentent avec l'augmentation du nombre d'espèces dans l'écosystème (Huston et al. 2000). Une autre étude, basée sur des expérimentations visant à évaluer les relations entre biodiversité et services écosystémiques, a montré qu'une baisse de la richesse spécifique conduit à une baisse de la productivité primaire (Hector, 1999; Tilman et al., 2001). Dans le même ordre d'idées, Allan et al. (2015) ont montré que dans un écosystème complexe où la richesse spécifique est élevée, lorsque des perturbations dans l'habitat conduisent à la perte d'espèces, d'autres espèces, auparavant redondantes en termes de fonctionnalité, peuvent les remplacer et ainsi maintenir la fonction dans l'écosystème (Allan et al., 2015; Haddad et al., 2015). La richesse spécifique permet donc aux écosystèmes de faire face aux changements du fait de la plus grande diversité des réponses fonctionnelles des espèces et à la redondance écologique à l'intérieur même des écosystèmes (Santos et al., 2013).

3- Sixième masse d'extinction des espèces et causes anthropiques de la perte de biodiversité

Depuis la fin du XXe siècle, la biodiversité et les habitats naturels connaissent une importante baisse à l'échelle planétaire. Ces pertes d'habitats et de la biodiversité sont si alarmantes que la majorité des scientifiques parle de la 6e extinction de masse (Barnosky et al., 2011). D'autres auteurs décrivent ce phénomène comme la plus grande crise d'extinction d'espèces que la terre ait jamais connu jusqu'à nos jours (Baillie et al., 2004; Barnosky et al., 2011). Cette dernière crise d'extinction est cependant très particulière en comparaison avec les précédentes au vu de son ampleur et de sa rapidité. Selon différents scientifiques, le taux d'extinction actuel est 100 à 1000 fois plus élevé que les taux des extinctions précédentes (Baillie et al., 2004; Hooper et al., 2012; McAlpine et al., 2016).

Dès l'apparition de l'être humain sur terre, sa population a connu une croissance phénoménale conduisant à une augmentation de son utilisation des ressources naturelles, souvent de manière irrationnelle, aboutissant à leurs épuisements (Hooper et al., 2005). Les actions dévastatrices telles que les transformations des habitats naturels en zones de cultures, l'urbanisation, la fragmentation des forêts par défrichements, les feux sauvages, la chasse excessive ainsi que la modification de la structure et de la composition des peuplements par les pratiques sylvicoles sont les causes directes de la crise de la biodiversité observée aujourd'hui (Brooks et al., 2002; Vitousek et al., 1997). A ces causes directes, s'ajoutent des actions indirectes de l'homme comme la pollution chimique ou l'introduction d'espèces invasives qui constituent des menaces sur la biodiversité autochtone (Allan et al., 1993; Gurevitch and Padilla, 2004). Chez les peuplements animaux, la destruction de leurs habitats ou leur fragmentation constituent la menace la plus importante aboutissant à l'extinction des espèces (Brooks et al., 2002; Vitousek et al., 1997). Ces pertes d'habitats contribuent, en effet, à une réduction de la taille des populations mais aussi, à leur isolement géographique réduisant ainsi les flux de gênes entre populations isolées (Brown and Kodric-brown, 2016; Jackson and Fahrig, 2016). Ces isolements des populations conduisent à une perte importante de la diversité génétique due à des phénomènes stochastiques tels que la dérive génétique, ce qui accroit la vulnérabilité des populations face aux modifications naturelles ou anthropiques de leur environnement, par perte du

pouvoir adaptatif et augmente le risque d'extinction des espèces (Soule et al., 1988; Weigelt and Kreft, 2013).

Selon le « Millennium Ecosystem Assessment» la modification des écosystèmes causée par l'homme est plus rapide et plus intense depuis ces cinquante dernières années (Hanson et al 2009). Ceci a notamment conduit certains auteurs à nommer la période actuelle « l'anthropocène » (Caro et al., 2012). Par exemple, 20% des récifs de corail et ¼ des forêts de mangrove ont disparu depuis 1980 environ, en même temps que leur capacité à amortir les ondes de tempêtes le long du littoral. Les collectes de poissons en milieu marin ont atteint un niveau alarmant depuis 1980 avec une réduction importante de la richesse spécifique, une réduction ayant des conséquences majeures pour tous ceux qui dépendent des ressources marines pour leur survie (Hanson et al., 2009). Ces altérations anthropiques massives des écosystèmes impactent leur capacité à fournir les services qu'ils rendent à l'homme à un niveau satisfaisant. Ces services écosystémiques sont, de ce fait, aujourd'hui en péril et menacés de manière irréversible (Groot et al., 2002).

4-Théorie de McArthur et espèces insulaires

Les écosystèmes insulaires sont des modèles intéressants pour étudier les réponses des communautés naturelles vis-à-vis des changements de leurs habitats. Ces écosystèmes insulaires sont en effet caractérisés par une faible richesse spécifique, avec souvent des espèces moins redondantes que sur les espaces continentaux, ce qui fait que ces habitats moins complexes sont plus vulnérables aux actions anthropiques. Du fait de leur isolement géographique, ces écosystèmes présentent aussi un endémisme fort avec des espèces souvent irremplaçables en termes génétiques ce qui fait de leur conservation une question éthique (Soule et al., 1988; Weigelt and Kreft, 2013).

Ces régions insulaires sont constituées par des îles ou groupe d'îles dont chacune présente ses caractéristiques propres, telles que son origine, son degré d'isolement aux continents, sa topographie, caractéristiques qui vont façonner les écosystèmes qu'ils abritent (Meiri, 2017; van der Geer et al., 2017). Selon l'origine de l'île, on peut distinguer (1) les isolats géographiques immobiles qui sont séparés de l'espace continental par des fluctuations des niveaux de la mer. Cette séparation est donc périodique et souvent de relativement faible importance en termes de distance (Gros-Desormeaux et al., 2015). C'est

le cas, par exemple, de la Grande-Bretagne ou de l'Irlande. Dans ce type de région insulaire, on peut observer des échanges réguliers d'espèces entre l'île et le continent. Du fait de ces échanges réguliers, les isolats géographiques immobiles présentent des taux d'endémisme faibles (Gros-Desormeaux et al., 2015). On peut trouver aussi (2) les isolats mobiles qui sont issus des glissements des plaques tectoniques conduisant de grandes superficies de terre à s'éloigner et à s'isoler du reste de la masse continentale. C'est le cas, par exemple, de l'île de Madagascar qui s'est séparée définitivement du grand continent de Gondwana il y a 125 à 80 million d'années (Sampson et al., 1998). Dans ces situations, les espèces présentes dans l'île peuvent être issues soit d'une colonisation (naturelle ou introduction anthropique) soit tout simplement des représentants faunistiques et floristiques occupant cet espace avant sa séparation du continent qui ont survécu sur l'île et ont évolué localement (Samonds et al., 2013; Trewick, 2017). Ces types d'îles présentent un taux d'endémisme fort (Schwitzer et al., 2014). Enfin, une situation fréquente concerne (3) le cas des îles volcaniques. Dans ce dernier cas, les îles sont issues d'une activité d'éruption plus ou moins ancienne. Ces îles sont souvent éloignées des autres masses continentales et présentent un endémisme fort. Parmi ces îles océaniques, certaines n'ont jamais été en contact avec les grands continents. Plusieurs auteurs les ont baptisé «îles vraies» océaniques du fait de cet isolement dans l'océan et le manque d'interconnexion entre elles mais aussi avec d'autres masses terrestres (Gros-Desormeaux et al., 2015). C'est le cas de quelques îles du Sud-Ouest de l'Océan Indien comme l'île de la Réunion ou les îles de l'archipel des Comores (O'Brien, 2011). L'histoire de ces îles rend très intéressant l'étude de leurs peuplements et de leurs histoires évolutives (van der Geer et al., 2017). Tout d'abord, l'origine volcanique de ces îles implique qu'elles ont émergé de l'océan complètement vierges de toute vie terrestre (Meiri, 2017). De ce fait, les espèces qui occupent ces îles sont issues soit d'une colonisation naturelle, soit d'une introduction anthropique plus ou moins ancienne. L'histoire évolutive des peuplements de ces îles est, de ce fait, relativement facile à retracer puisque l'âge d'apparition de l'île est souvent connu (Frey et al., 2007). Du fait de leurs isolement complet de toute masse terrestre et de leur éloignement géographique aux continents, les colonisations sont aussi rares et les habitats sont, par voie de conséquence, moins riches en espèces que sur les continents ou les autres types d'îles. Cette richesse dépend cependant de la taille des îles et de leur âge mais aussi de leur éloignement au continent (Brown and Kodric-brown, 2016; Losos and Ricklefs, 2009).

McArthur et Wilson (1963), qui ont développé la théorie de la biogéographie insulaire, ont d'ailleurs précisé les caractéristiques attendues d'un peuplement insulaire. Dans leurs travaux, ils ont montré que la richesse spécifique des îles est fonction de la balance entre le taux de colonisation et le taux d'extinction des espèces, ce qu'ils ont nommé la «théorie de l'équilibre dynamique». Selon ces auteurs, le taux d'immigration diminue avec le nombre d'espèces présentes sur l'île. Le taux d'extinction, quant à lui, dépend de la saturation de l'habitat et diminue lorsque la taille de l'île augmente. La richesse spécifique dépend donc des caractéristiques géologiques de l'île, sa topographie et du nombre d'introductions volontaires par l'Homme.

Les espèces endémiques insulaires sont parmi les groupes de taxons les plus menacés d'extinction à relativement court-terme. En effet, ces espèces occupent des zones géographiques isolées d'autres espaces analogues par des étendues marines. L'ampleur des menaces sur ces espèces est fonction de plusieurs paramètres comme leurs histoires de colonisations des îles qu'elles occupent, le degré d'éloignement aux autres masses continentales, la taille et les caractéristiques des îles occupées. Cependant, ces espèces disposent dans tous les cas de tailles de populations faibles qui les rendent sensibles aux perturbations. De plus, leur possibilité de dispersion en réponse aux perturbations est limitée (Nogales et al., 2013). Leur endémisme fort implique qu'il n'existe nulle part ailleurs d'équivalents en termes génétiques à conserver comme solution alternative et les petites tailles des populations peuvent amplifier les menaces à travers des mécanismes de consanguinités ou d'effet Allee (Herfindal et al., 2014; Luque et al., 2016). A cette vulnérabilité naturelle des espèces insulaires, s'ajoutent les effets de l'homme qui ne se sont pas seulement limités dans les aires continentales mais se développent aussi sur les îles, y compris sur celles des régions océaniques aux petites superficies. Leur localisation dans des petites îles implique qu'elles sont moins nombreux en terme de richesse spécifique dans ces habitats et donc moins redondantes avec une forte risque de dégradation rapide de la résilience des écosystèmes ce qui peut contraindre leur rôle dans le maintien des habitats.

5- Les chauves-souris

5.1- Les chauves-souris et leur importance pour l'humanité

Les Chiroptères, ou ordre des Chiroptera, représentent un groupe de mammifères hautement diversifié avec environ 1200 espèces. Ils se classent ainsi à la seconde position en termes de diversité spécifique parmi les mammifères après les rongeurs (Meganathan et al., 2012). L'ordre des chiroptères a été traditionnellement subdivisé en deux sous-ordres: le sous-ordre des microchiroptères et le sous-ordre des mégachiroptères (Baker et al 1991). Cependant des études moléculaires récentes ont montré que dans le sous ordre des microchiroptères, tous les membres de la superfamille Rhinolophoidea (familles: Rhinolophidae, Hipposideridae, Megadermatidae et Rhinopomatidae) étaient para-phylétiques à toutes les autres familles de ce dernier sous-ordre et formait un groupe frère de toutes les familles du sous-ordre des mégachiroptères, ce qui a conduit à une nouvelle classification des chiroptères en deux sous-ordres : (1) sous-ordre de **Yinpterochiroptera** composé de tous les mégachiroptères ainsi que de la superfamille Rhinolophoidea et le sous-ordre de **Yangochiroptera** qui renferme tous les microchiroptères autres que la superfamille Rhinolophoidea (Jones and Teeling, 2006).

Les **Yangochiroptera** ou «vraies chauves-souris» renferment les chauves-souris de petites tailles réparties dans les différents continents du monde (O'Brien 2011). Elles sont généralement nocturnes avec une vision moins développée que le groupe des **Yinpterochiroptera** mais disposent d'un système d'écholocation à travers les ultrasons très performant leur permettant de localiser leurs proies la nuit et d'éviter les obstacles (O'Brien, 2011). Ces espèces sont majoritairement insectivores bien que quelques représentants de ce groupe soient piscivores, omnivores mais aussi hématophages (Voigt and Kingston 2015). La plus part des **Yangochiroptera** nichent en groupe dans des grottes, des habitations ou dans des cavités d'arbres. Certains membres du sous-ordre, notamment des espèces occupant les zones tropicales, peuvent nicher dans des feuillages (O'Brien, 2011).

Les **Yinpterochiroptera** renferment des espèces généralement de grandes tailles. A part quelques exceptions (comme le genre *Roussettus* par exemple), les membres du groupe des **Yinpterochiroptera** n'ont pas développé de système d'écholocation mais disposent d'une vision nocturne et d'un odorat très développés. Parmi ce groupe, les espèces du genre ***Pteropus*** appelées aussi «renards volants» (à cause de leurs museaux allongés et à leur

ressemblance aux chiens, figure 1) constituent un groupe exceptionnellement diversifié (Voigt and Kingston, 2015). Ce genre, issu de la famille des Pteropodidae, regroupe 62 espèces de grandes tailles, toutes frugivores et nectarivores (Voigt and Kingston, 2015). Elles sont toutes distribuées dans les régions tropicales et subtropicales allant de l'Océanie, de l'Asie, de l'Australie, aux îles localisées dans les larges de l'océan pacifique et de l'océan indien (O'Brien, 2011). Ce sont des espèces majoritairement nocturnes qui pendant la journée se reposent dans leurs dortoirs constitués en majorité par de grands arbres (Voigt and Kingston 2015). Le type de dortoirs chez les renards volants varie cependant en fonction de l'espèce. Alors que *P. samoensis* et *P. livingstonii* sélectionnent des dortoirs localisés dans des forêts naturelles, *P. seychellensis* et *P. tonganus* choisissent des dortoirs constitués par des grands arbres tels que les kapokiers et les figuiers situés dans les régions côtières et dans les villages (Brooke, 2001; Wodzicki and Felten, 1975). *Pteropus aldabrensis* préfère quant à elle les cocotiers des zones de cultures (Trewhella et al., 2001). Toutes les espèces du genre *Pteropus* sont principalement frugivores, complété par du nectar et de la sève chez certaines espèces. Par exemple, Long et Rancey (2007) ont montré que les fruits consommées par *P. rufus* ne représentent que 16% de son régime, alors que la grande partie de son alimentation est constituée de pollen (44%) et de sève (22%). *P. conspicillatus,* quant à lui consomment, essentiellement du pollen (69%) (Parsons et al., 2006). Les espèces du genre *Pteropus* sont reconnues pour leurs grandes capacités de dispersion. Par exemple, *P. conspicillatus* peut parcourir un peu plus de 40 km au cours d'une même nuit entre ses sites d'alimentation et ses dortoirs (Richards et al 1999). *P. tonganus* peut, elle aussi, parcourir une distance maximum de 46 km entre son dortoir et sa zone d'alimentation (Bannack and S.Grant, 2002). *P. rufus* et *P. vampyrus* ont respectivement été observées à une distance maximale de 66 et 87 km des dortoirs lors de leur recherche de nourriture (Epstein et al., 2009; Oleksy et al., 2015).

Les chauves-souris, que cela soit les **Yinpterochiroptera** et les **Yangochiroptera**, sont reconnues pour leur importance économique et écologique. Les **Yangochiroptera**, majoritairement insectivores, agissent par exemple dans la régulation du peuplement d'insectes nuisibles aux plantes mais prédatent aussi des insectes vecteurs de maladies chez les animaux comme chez les humains (Stack et al., 2016). Par exemple, aux Etats Unis, les services rendus par les chauves-souris insectivores sont estimées à 22,9 milliards de dollars par an (Boyles et al., 2011). Quant aux chauves-souris fruigivores, elles sont reconnues pour

leur importance dans le fonctionnement des forêts naturelles mais aussi pour l'amelioration de la production d'arbres fruitiers à travers la polinisation des plantes et la dispersion des graines. Elles présentent donc un très grand intérêt pour l'homme. Par exemple, Kunz et al. (2011) ont signalé qu'au moins 549 espèces végétales, appartenant à 191 genres et 62 familles différentes, sont dispersées par des chauves-souris dans les zones tropicales parmi lesquels, 139 genres appartenant à 58 familles sont dispersés par les renards volants. Du fait de leur grande taille et de leur mode de vie en grands groupes, les renards volants peuvent disperser des fruits de grandes tailles et ceci en grand nombre, ce qui est rare chez d'autres animaux comme par exemple les oiseaux (Kunz et al., 2011). De ce fait, ces espèces présentent une importance écologique dans la régénération de la forêt naturelle et dans le maintien de la connectivité entre fragments forestiers. De plus, les renards volants jouent un rôle important dans la pollinisation des arbres fruitiers à intérêt économique (Friday et al., 2011; Kaboré et al., 2011). Par exemple, Voigt et Kingston (2015) ont rapporté que les espèces de renards volants dispersent au moins 289 espèces de plantes, dont 186 sont directement exploitées par l'Homme (McConkey and Drake, 2006). Ces espèces ont de ce fait un rôle important dans le service écosystémique nécessaire pour l'humanité.

5.2- Les renards volants, un groupe de Yinpterochiroptera particulièrement menacé

Les chauves-souris du genre *Pteropus* constituent un groupe de mammifères particulièrement menacé par les actions anthropiques. En effet, parmi les 62 espèces de renards volants, quatre sont déjà éteintes, toutes étaient des espèces insulaires (UICN 2017). Il s'agit de *P. tokudae* des îles de Guam et de l'archipel des îles Mariannes (éteinte aux alentours de 1970), de *P. subniger* des îles Maurice et de La Réunion dans l'océan indien (éteinte entre 1864 et 1873), de *P. brunneus* des îles Percy (une île localisée au large de l'océan pacifique, la date exacte de son extinction n'étant pas connue, on a présumé que l'espèce s'est éteinte au environ de 1878 date à laquelle ses dernières traces sont connues, Koopman, 1984) et de *P. pilosus* de l'île Palau dans l'océan pacifique (éteinte avant 1874) (UICN 2017).

Parmi les espèces de renards volants vivants actuellement, cinq sont classées dans la liste rouge de l'UICN comme étant « en danger critique d'extinction » et, là aussi, il s'agit d'espèces insulaires occupant de petites îles (UICN 2017). Il s'agit de *P. auruensis* des îles Aru

tout près de l'Indonésie; de *P. pselaphon,* une espèce endémique des îles d'Oagassawara au Japon; de *P. livingstonii*, endémique des îles de Anjouan et de Mohéli dans l'archipel des Comores (océan indien); de *P. rodricensis*, endémique de l'île Rodrigues (Maurice, océan indien) et de *P. tuberculatus,* endémique des îles Vanikolo au sud des îles Salomon (situées dans le sud-ouest de l'océan pacifique). Cinq autres espèces parmi ces renard volants sont quant à elle classées «en danger d'extinction» et, une fois de plus il s'agit d'espèces confinées dans des petites îles à savoir *P. nitendiensis*, endémique des îles de Nendö et Tömotu Neo dans le sud des îles Salomon ; *P. melanopogon* dans l'archipel Moluccas et dans les petites îles adjacentes (Indonésie); *P. mariannus*, endémique du nord des îles Mariannes, de Guam, et de l'Atoll Ulithi au nord de l'océan pacifique; *P. fundatus,* endémique des îles de Mota et Vanua dans l'océan pacifique et *P. cognatus* endémique des îles Salomon. La plus part des autres espèces sont considérées comme «quasi-menacées» ou «vulnérables» et sont majoritairement localisées dans des petites îles (O'Brien, 2011). Etant des taxons insulaires, ces espèces constituent un groupe particulièrement menacé du fait de leur isolement géographique mais aussi des faibles tailles de leurs populations. De plus, selon plusieurs études, ces espèces subissent les effets alarmants des actions anthropiques telles qu'une chasse excessive, la fragmentation des habitats naturels mais aussi de la destruction de leurs dortoirs qui est d'ailleurs notée comme la menace la plus importante à l'origine de leurs déclins dans la nature (Soule et al., 1988; Weigelt and Kreft, 2013). Etant des taxons relativement longévifs, ces espèces présentent aussi des dynamiques de populations lentes qui les rendent très sensibles aux perturbations tout en possédant des faibles capacités de récupération après perturbation (Nevoux et al., 2008). Ces espèces cumulent donc un certain nombre de handicaps qui en font un des groupes de mammifères les plus menacés au monde.



Figure 1: Museau allongé du *Pteropus seychellensis comorensis,* Photo : © Mohamed-Thani

6- L’archipel des Comores

Situé à l’entrée du canal de Mozambique, cet archipel est formé de quatre îles océaniques d’origine volcanique, constituant une entité géologique issue d’une chaine de volcan sous-marine (Michon, 2016). Ces îles, d’une superficie totale de 2236 km², ont commencé à apparaitre entre la fin du Miocène et le début du Pliocène (entre 10 et 5 millions d’années, Louette et al., 2004). Cette apparition aurait eu lieu bien après l’isolement définitif de Madagascar qui s’est séparé du Gondwana il y a 125-80 millions d’années (Sampson et al., 1998). L’apparition de chacune des quatre îles a eu lieu de manière indépendante et les quatre îles n’ont jamais été en contact les unes des autres ni avec aucune masse terrestre (notamment avec Madagascar et l’Afrique qui les entourent à distance égale d’environ 300Km, figure 2, Goodman et al., 2010). Cette singularité fait des Comores des îles «vraies» présentant des caractéristiques particulières avec non seulement une diversité faunistique marine unique et reconnue comme étant d’une importance mondiale, mais aussi une diversité de paysages naturels et une faune et une flore terrestre avec un taux d’endémisme élevé pour tous les groupes taxonomiques recensés (Goodman et al., 2010 ; Louette et al., 2004). Cette zone biogéographique présente toute une gamme de régions écologiques avec une biodiversité riche en espèces endémiques présentant d’importantes affinités avec la faune et la flore de Madagascar mais aussi quelques représentants mineurs de l’Afrique continentale et de l’Asie (Louette et al., 2004).

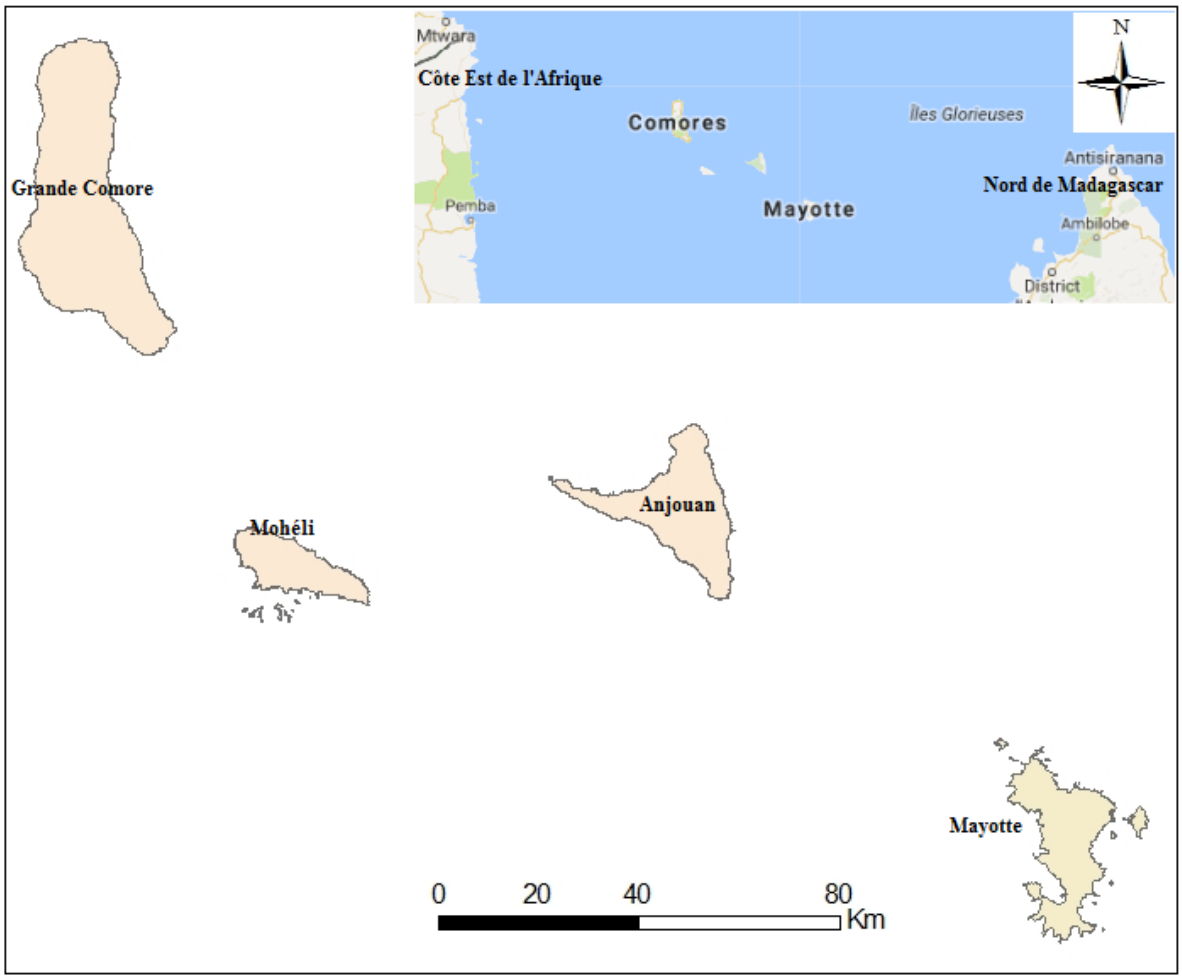


Figure 2: Localisation de l'archipel des Comores

6.1- Situation administrative des Comores

Les quatre îles de l'archipel des Comores (Grande Comore, Anjouan, Mohéli et Mayotte), étaient administrées par la France, sous la quatrième république, et faisaient partie de l'Union française, puis de la communauté française prévue par la Constitution de la Cinquième République à partir de 1958. En 1975, trois des quatre îles (Grande Comore, Anjouan et Moheli) ont pris leur indépendance et forment aujourd'hui l'Union des Comores. Seule Mayotte reste sous l'administration française et est devenue le 101ème département français d'outremer en 2011.

6.2- Quatre îles «vraies» océaniques isolées les unes des autres

6.2.1-Ile de Mayotte

D'une superficie totale de 374km², Mayotte constitue la plus ancienne île de l'archipel des Comores en termes d'apparition. Elle serait apparue il y a 7,7 million d'années à la fin du Miocène juste avant le début du Pliocènes (Louette et al., 2004). Localisée dans la région Sud-Est de l'archipel, à environ 300 Km du Nord-Ouest de Madagascar et 67 km du Sud d'Anjouan (Figure 2 et 3), l'île présente des aires moins montagneuses que les trois autres îles des Comores et son point culminant est le Mont Bénara (660m d'altitude). Mayotte est constituée par deux îles principales, Grande-Terre et Petite-Terre auxquelles s'ajoutent une vingtaine de petits îlots (Figure 3) entourés d'un lagon de 1100 km^2 (Audru et al., 2010). L'île abrite une diversité en faune et en flore remarquable due à une forte hétérogénéité de ses habitats (Zinke et al., 2003). On y rencontre des forêts humides, des forêts sèches ou des fourrés xérophiles, des forêts semi-sèches de basses altitudes. On y trouve également des forêts hautement secondarisées (Zinke et al., 2003). L'île abrite un réseau de rivières permanentes ou semi-permanentes mais aussi quelques lacs d'eau douce (Louette et al., 2004).

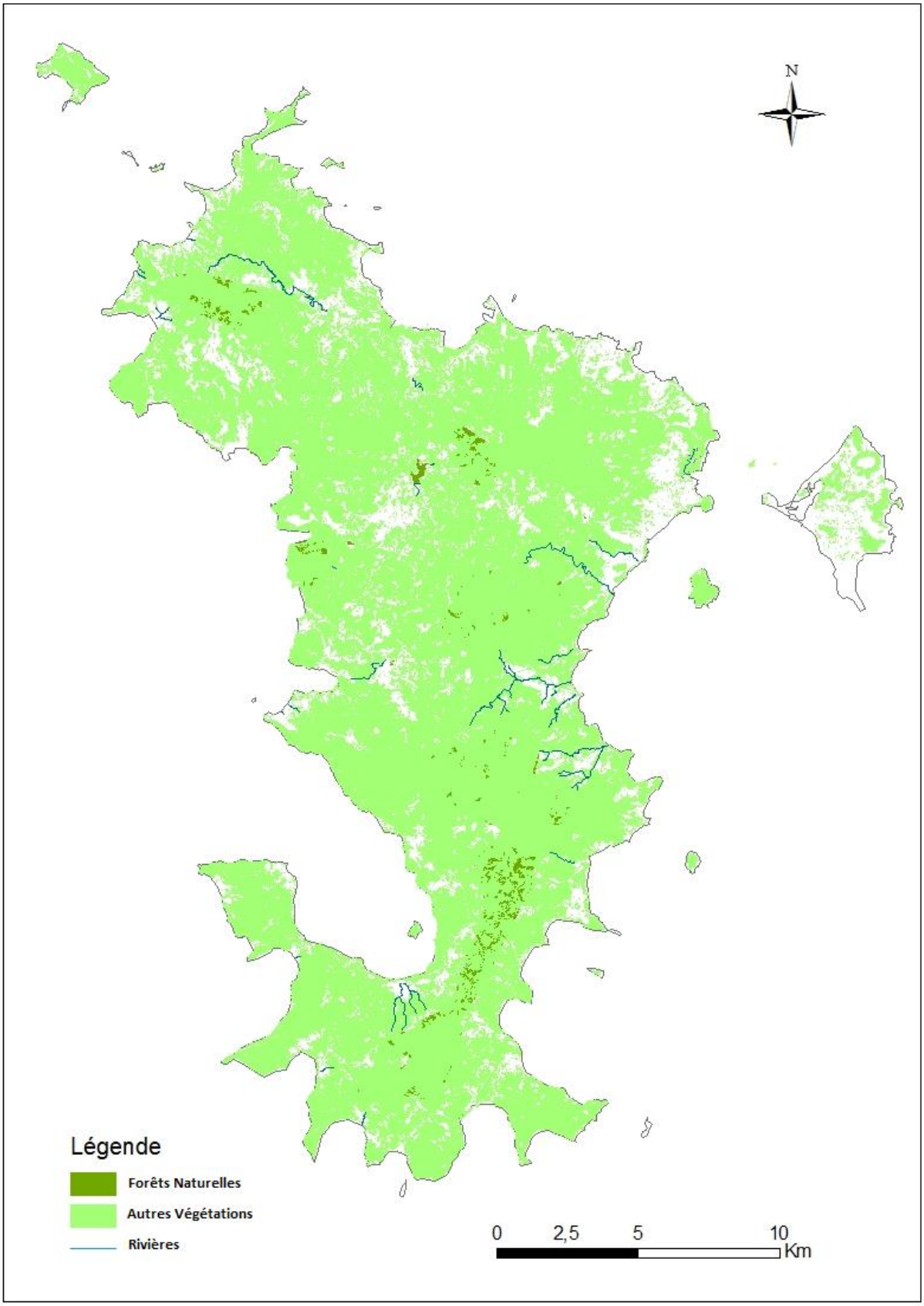


Figure 3: Représentation de la végétation à Mayotte

6.2.2-Ile de Mohéli

Apparue après Mayotte, au début du pliocène, il y a environ 5 million d'années, Mohéli représente la plus petite île de l'archipel des Comores en termes de superficie (290 km²). L'île est caractérisée par un relief plus accidenté que Mayotte, s'atténuant vers l'Est et vers les régions sud en plaines littorales. Son point culminant, localisé dans le Djando, atteint 790 m d'altitude (Louette et al., 2004). On y rencontre des vallées profondément creusées hébergeant un réseau de rivières permanentes se déversant dans la mer (Figure 3).



Figure 4: Forêt de Hasserandrengué dans le Mledjelé, Mohéli, Photo : © Mohamed-Thani

L'île abrite une grande diversité de paysages naturels et une grande forêt primaire, non encore détruite (Figure 4) et sans la moindre culture, localisée notamment dans le haut de la forêt de Hasserandrengué au-dessus des villages de Walla et de Miringoni. L'île est aussi caractérisée par le découpage de ses côtes et la présence de petites baies à mangroves, d'un récif corallien frangeant entourant toute l'île et de huit îlots au sud de Nioumachoua (Louette et al., 2004, Figure 5).

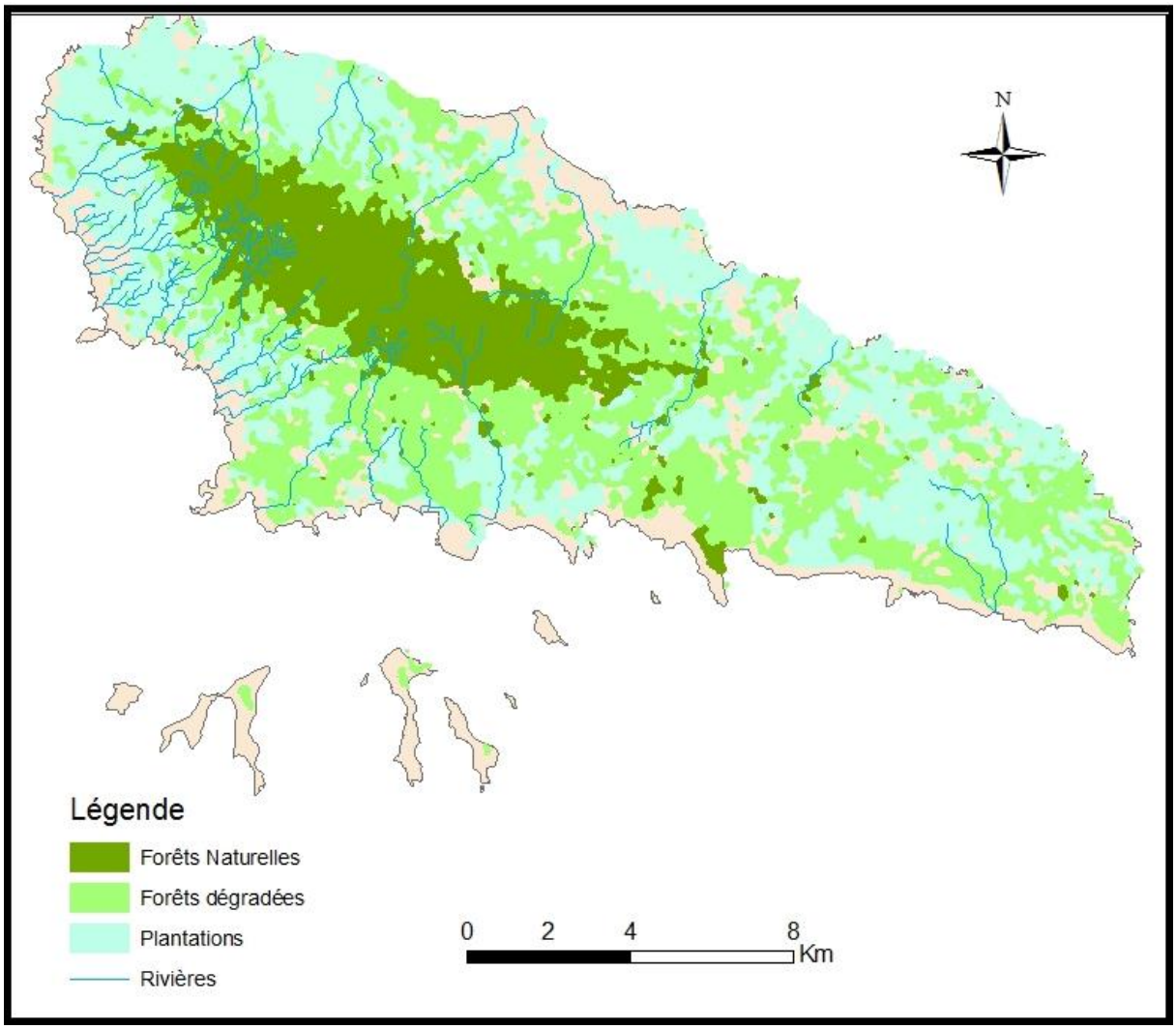


Figure 5: Représentation de la végétation à Mohéli

6.2.3-Ile d'Anjouan

Anjouan serait la 3ème île de l'archipel apparue parmi les quatre îles des Comores, il y a environ 3,3 million d'années avec une superficie de 424 km² (Louette et al., 2004). L'île présente un relief très accidenté à crêtes aiguës et à flancs abrupts. Sa topographie consiste en une série de chaines de hautes montagnes, dont le point culminant atteint 1595m d'altitude, et où se situent les quelques vestiges de forêts naturelles subsistant dans l'île. La partie centrale de l'île est profondément entaillée par de grands cirques. Ayant la forme d'un triangle (Figure 6), les trois extrémités de l'île sont dominées par des falaises au niveau du littoral avec un récif frangeant (Louette et al., 2004). L'île est caractérisée par des sols profonds et fragiles, très sensibles à l'érosion induite par l'exploitation des terres. Anjouan se caractérise aussi par un bon réseau de rivières permanentes (Figure 6).

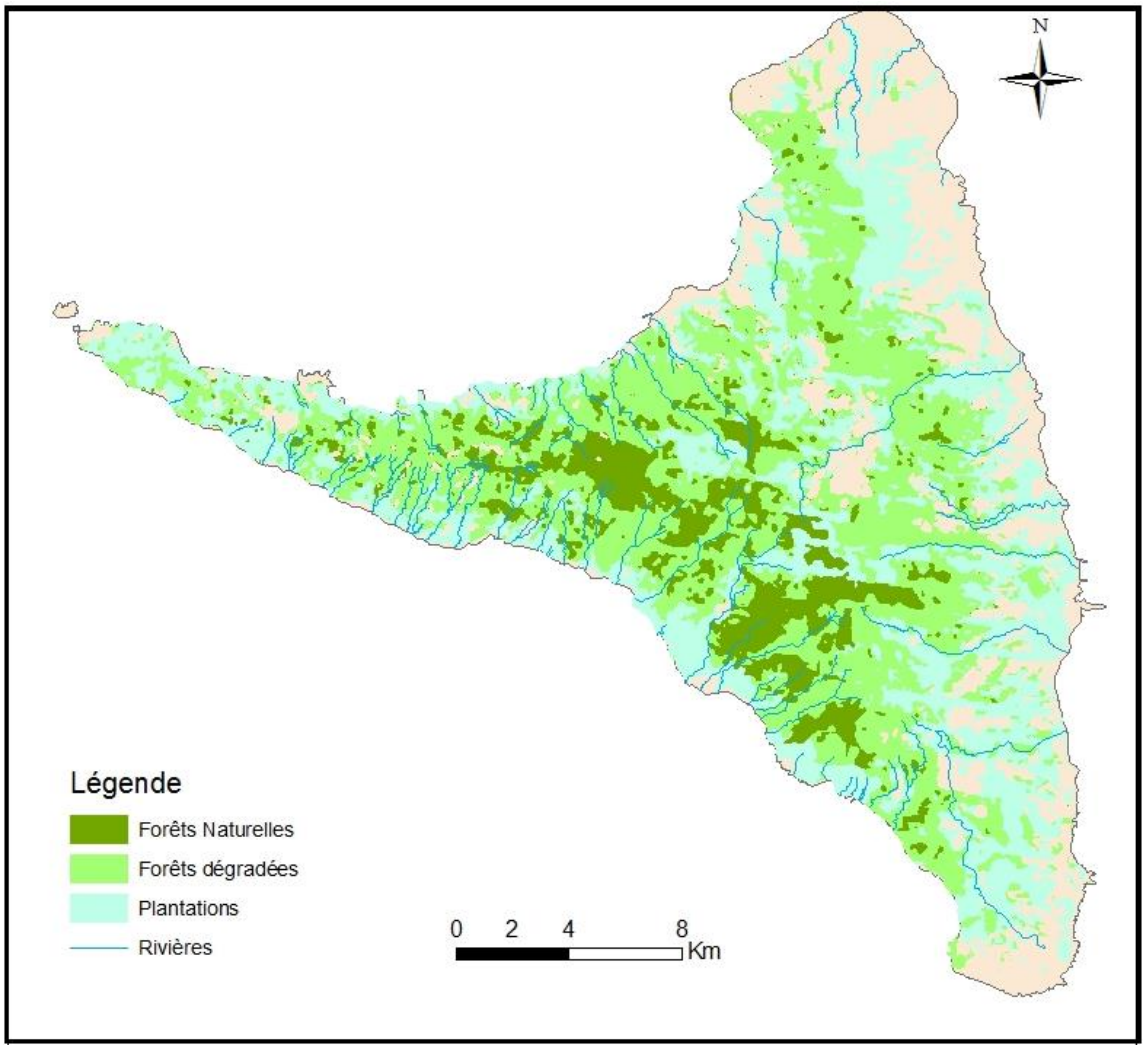


Figure 6: Représentation de la végétation à Anjouan

6.2.4-Grande Comore

Située à l'ouest (à 300km de l'Afrique continentale), Grande Comore est la plus jeune des quatre îles, apparue il y a environ 0,5 million d'années (Michon, 2016). Comme son nom l'indique, Grande Comore représente la grande île de l'archipel en termes de superficie (1148 km²). L'île comporte deux massifs montagneux bien distincts: le massif du Karthala qui représente le point culminant de l'archipel à 2361 m d'altitude, et le massif de la Grille, culminant à 1087 m d'altitude. L'île est dominée par de grandes superficies de coulées de laves basaltiques avec des cendres volcaniques issues d'éruptions volcaniques récentes empêchant l'île d'héberger des rivières (Michon, 2016). Elle est caractérisée par plusieurs microclimats qui déterminent l'aspect de sa végétation encore dense et naturelle dans le versant du massif du Karthala (Louette et al., 2004). Bien que l'île ait subit une importante perte de ses habitats forestiers durant les dernières décennies avec une couverture végétale hautement secondarisée, l'île de la Grande Comore accueille la plus grande forêt encore naturelle de l'archipel après l'île de Mohéli (Figure 2 et 7).

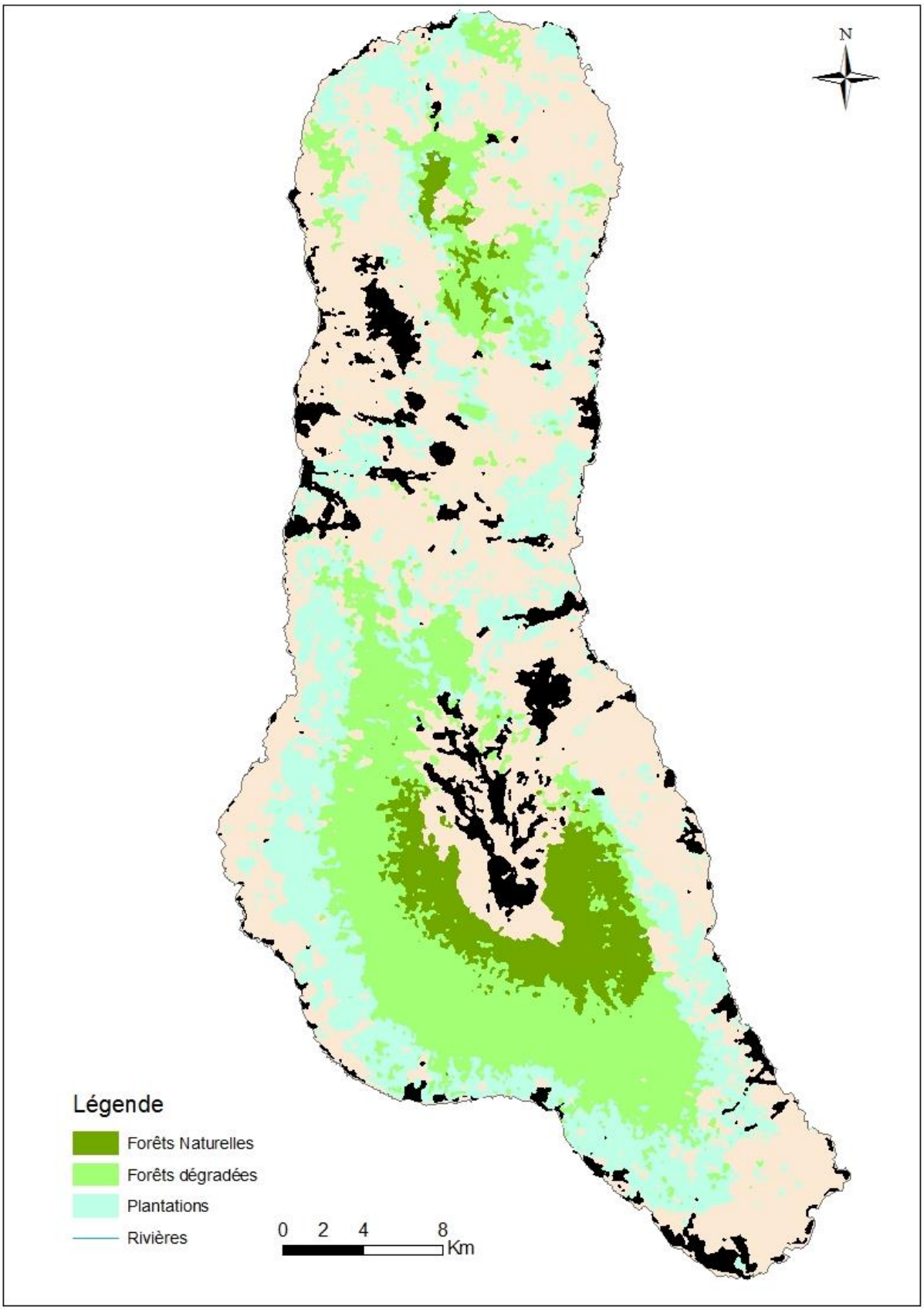


Figure 7: Représentation de la végétation à la grande Comore

6.3- Pertes directes et fragmentation des habitats en archipel des Comores

Selon Louette et al. (2004), les îles des Comores auraient été couvertes de forêts ombrophiles sèches avant la colonisation par l'homme. Les actions humaines ont depuis contribué à une profonde modification des habitats naturels historiques et ont conduit directement à la disparation de grandes surfaces de ces habitats naturels. Actuellement, cette couverture végétale n'existe quasiment plus à son état naturel. Par exemple, à Mayotte, plus de 95% de la couverture végétale originale a disparue et la superficie totale de forêts naturelles dans cette île n'est plus estimée qu'à 11,5km² pour une surface totale de l'île de 374km² ha soit environ 3% de la superficie totale. En Union des Comores (Grande Comore, Anjouan et Mohéli), la situation est encore plus alarmante. Dans un intervalle de 10 ans, entre 1973 et 1983, la superficie de pertes d'habitats naturels a été estimée à 36%, 85% et 53% à Mohéli, Anjouan et Grande Comore respectivement (Goodman et al., 2010). A partir de l'année 2010, cette perte d'habitat est devenue alarmante et la FAO l'a évalué à 9,3% par an et estime que c'est le taux de perte d'habitat le plus important au niveau mondial (FAO 2010, Daniel et al., 2016).



Figure 8: Conversion de la forêt en zone de culture Anjouan, Photo : © Mohamed-Thani

Cette perte d'habitat est due principalement à l'exploitation excessive du bois pour la construction, la menuiserie et la vente mais aussi pour produire du combustible pour la fabrication des huiles d'Ylang ylang (une huile essentielle très utilisée en parfumerie dont les Comores tiennent le rang de premier producteur mondial) dans certaine région de Mohéli et Anjouan. La transformation non contrôlée des habitats naturels en milieux de cultures et en milieux habitables est la deuxième cause de la perte des habitats naturels (Figure 8). Ceci est induit par le fait que 72% de la population comorienne vit de l'agriculture (Bourgoin et al., 2017; Fisher and Christopher, 2007). Enfin, la forte croissance démographique dans les trois îles, particulièrement prononcée à Anjouan (6.5% par an), augmente considérablement la demande en bois de construction et en zones habitables et amplifie les pressions déjà fortes sur les habitats naturels (Sewall et al., 2011, Daniel et al., 2016). Enfin, les feux sauvages, bien que rares aux Comores, représentent un des facteurs menaçant la biodiversité dans ces

îles puisqu'ils peuvent parcourir une région entière en quelques minutes et causer des dégâts considérables à la forêt (Louette et al., 2004).

6.4- Aux Comores, une flore et une faune hautement diversifiée

La diversité des paysages, la topographie des îles et la multiplicité de ses climats ont fait des Comores une région très riche en termes de diversité biologique composée d'une faune marine d'intérêt mondial et d'une faune terrestre très diversifiée. Les Comores accueillent aussi un taux d'endémique élevé en comparaison avec les îles voisines de la région de l'océan indien telles que les îles du Mascareignes (Louette et al., 2004; Sewall et al., 2011). L'archipel est d'ailleurs classé en seconde position en termes de richesse spécifique de la région de l'océan indien après Madagascar. La flore des Comores est dense avec une composition diversifiée et très variable suivant le gradient altitudinal. Plus de 2000 espèces de plantes sont ainsi recensées aux îles Comores. 33% de cette flore est d'ailleurs constituée d'espèces endémiques. En qui concerne la faune, la richesse est élevée et représentée par un taux d'endémisme exceptionnel dans chaque groupe taxonomique. Les poissons sont par exemple représentés par environ 820 espèces dont la plupart sont endémiques. L'archipel accueille 24 espèces de reptiles dont environ 44% ne se trouvent nulle part ailleurs dans le monde. Il accueille aussi un peu plus de 150 espèces d'oiseaux dont environ 50% sont des espèces et sous-espèces forestières endémiques (Louette et al., 2004).

6.5- Les chauves-souris des Comores

L'ordre des chiroptères représente un des groupes de mammifères les plus diversifiés aux Comores avec 10 espèces différentes dont la plus part sont endémiques de ces îles.

Les **Yangochiroptera** sont représentés par 4 familles et 7 espèces différentes. Il s'agit de la famille de Emballonuridae représentée par l'espèce *Taphozous mauritianus* ; la famille Molossidae représentée par les espèces : *Chaerephon leucogaster, C. pusillus* et *Mops leucostigma ;* la famille Vespertilionidae représentée par l'espèce *Myotis anjouanensis* (espèce endémique) et la famille Miniopteridae avec les espèces *Miniopterus griveaudi* (espèce endémique) et *M. aelleni* (espèce endémique, Goodman et al., 2010). Quant aux **Yinpterochiroptera,** le groupe est représenté par trois espèces différentes appartenant à une seule famille, il s'agit de la famille Pteropodidae avec les espèces de *Pteropus livingstonii*

(espèce endémique), *P. seychellensis comorensis* (sous espèce endémique) et *Rousettus obliviosus (*espèce endémique*, Goodman et al., 2010)*

6.6- Les renards volants des Comores

La roussette de Livingstone (*Pteropus livingstonii)* et la roussette commune des Comores (*P. seychellensis comorensis)* sont deux taxons de **Yinpterochiroptera** endémiques des Comores parmi les espèces faunistiques les plus menacées par la perte des habitats naturels. Les deux espèces se différencient par leurs morphologies, leurs tailles corporelles, leurs écologies, notamment leurs modes de locomotion et leurs comportements alimentaires ainsi que leurs distributions géographiques (Trewhella et al., 2001, Ibouroi et al., submetted).



Figure 9: *Pteropus s. comorensis* de Siri-Ziroudani à Mohéli, Photo : © Mohamed-Thani

Pteropus s. comorensis est caractérisée par une taille corporelle allant jusqu'à 1,2 m d'envergure avec une masse corporelle moyenne variant entre 400 et 600 g (Figures 9 et 10). Il s'agit d'une espèce crépusculaire très active pendant la nuit. Cependant, les individus de cette espèce peuvent également être observés en train de voler quelques heures (deux à

trois heures) avant le coucher du soleil (entre 15h et 16h). Caractérisée par une large distribution dans différents types d'habitats (zones de cultures, villages, forêts dégradées etc., Ibouroi et al. submitted) dans les quatre îles Comores mais aussi dans l'île Mafia en Tanzanie, l'espèce est caractérisée par un type de vol actif, battant ses ailes lors des mouvements, ce qui permet aux individus de se déplacer rapidement (Norberg et al., 2000). Ce comportement est rendu possible par les caractéristiques morphologiques de ses ailes qui sont peu larges (Norberg et al., 2000). Ce type de vol est rapide mais est en contrepartie peu efficace sur de longues distances car il nécessite beaucoup d'énergie. La population de *P. s. comorensis* est localisée dans des zones variant entre 0 et 700 m d'altitudes par rapport au niveau de la mer (Granek 2002, Ibouroi et al. Ibouroi et al., submitted). *Pteropus s. comorensis* est caractérisée par un régime alimentaire à base de fruits dont les plus communs sont les fruits de manguiers (*Mangifera indica*, Anacardiaceae), de letchis (*Litchi chinensis* ; Sapindaceae), de tamariniers (*Tamarindus indica,* Fabaceae), de jacquiers (*Artocarpus heterophyllus*, Moraceae), de badamiers (*Terminalia catappa* ; Combretaceae), de bananiers (*Musa sp.,* Musaceae), de kapokiers (*Ceiba pentandra*, Malvaceae) etc. Il s'agit donc des espèces de plantes majoritairement cultivées (introduites aux Comores par les humains, Trewhella et al., 2001). Ce régime alimentaire est complété par des pollens et de la sève. Les individus de *P. s. comorensis* se reproduisent une fois par an. Les accouplements ont lieu généralement entre le mois d'avril et le mois de juin (Trewhella et al., 1995). Après une période de gestation de 150 jours, les naissances ont lieu généralement entre septembre et novembre. Les femelles donnent naissance à un jeune par an. Les individus arrivent à maturité sexuelle généralement entre un an et demi et deux ans (Trewhella et al 1995). Pour cette, l'espèce l'espérance de vie n'est pas connue (Trewhella et al., 1995). La taille des populations de *P. s. comorensis* n'est pas non plus connue et l'espèce est classée en statut de préoccupation mineur par l'IUCN (Mickleburgh et al., 2008).



Figure 10: P. s. comorensis de Ouzini Anjouan, Photo : © Mohamed-Thani

Pteropus livingstonii (Figure 11) mesure environ 1,5 m d'envergure et sa masse corporelle varie entre 500 et 800 g. Contrairement à son congénère *P. s. comorensis, P. livingstonii* est une espèce pouvant être active le jour et très active aussi la nuit. Les individus de cette espèce sont observés déjà actifs dans les zones de nourrissage alors que *P. s. comorensis* est encore au repos (à partir de 14 h) (Granek 2002, Trewhella et al., 2001). L'espèce est caractérisée par un type de vol lent et plané, utilisant les courants d'air chaud pour se déplacer (Norberg et al., 2000). Ces mouvements sont liés à la superficie de ses ailes très larges en comparaison avec celles de *P. s. comorensis*. Bien que moins rapide, ce type de vol est très efficace et permet aux individus de pouvoir couvrir de longues distances (Russell et al., 2016). Sa distribution géographique est restreinte aux forêts naturelles de hautes altitudes dans deux îles de l'Union des Comores (Anjouan et Mohéli). Son alimentation est à base de fruits et de nectars des plantes, le plus souvent endémiques des îles telles *Ocotea comorensis,* Lauraceae, *Nuxia pseudodentata,* Buddlejaceae, *Tambourisa comorensis,* Monimiaceae etc. (Trewhella et al., 2001, Ibouroi et al. in press). La population de cette

espèce est estimée entre 1200 et 1500 individus (Granek 2002), et l'espèce est classée «en danger critique d'extinction» dans la liste rouge de l'UICN (UICN 2017, Daniel et al., 2016). La population de cette espèce est localisée dans les forêts de hautes altitudes allant jusqu'à 1200 m d'altitude par rapport au niveau de la mer dans des endroits reliés aux forte pentes jusqu'à 45° (Ibouroi et al. submitted). Trewhella et al. (1995) ont mentionné que la période de reproduction pour cette espèce peut varier en fonction des années suivant les contraintes du milieu. Les accouplements ont lieu généralement entre le mois de mars et avril, c'est-à-dire deux à trois mois avant ceux de son congénère *P. s. comorensis* (Trewhella et al., 1995). La période de gestation est aussi de 5,5 mois et les naissances ont lieu généralement en septembre. Des observations sur le terrain ont montré qu'au mois de janvier, les jeunes *P. livingstonii* étaient quasiment non-différenciables de leurs parents (Trewhella et al 1995). Pour cette espèce, l'espérance de vie est estimée à 31 ans pour des individus vivant en captivité (Trewhella et al., 1995).

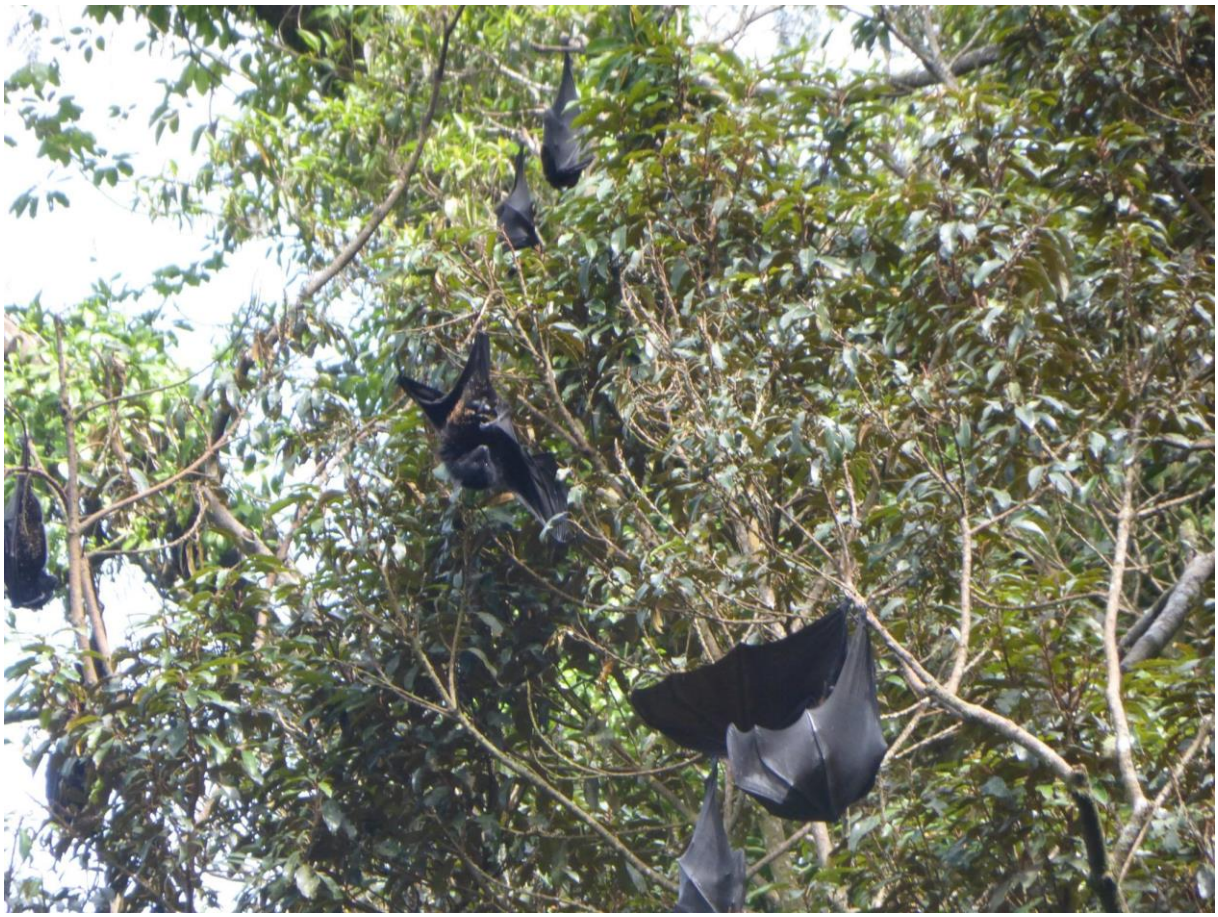


Figure 11*: P. livingstonii* dans la forêt de Mpagé à Anjouan, Photo : © Mohamed-Thani

6.7- Enjeux de conservation

Les populations de *P. livingstonii* et *P. s. comorensis* sont soumises à de fortes pressions telles que la destruction de leurs dortoirs, la perte et la fragmentation de leurs habitats mais aussi une forte pression de chasse (seulement pour *P. s. comorensis*) (Sewall et al., 2011, Ibouroi et al. submetted). Des actions de conservations sont menées aux Comores (Grande Comore, Anjouan et Mohéli) depuis plusieurs années par différentes institutions comoriennes (telles que la « Direction Générale de l'Environnement et des Forêts » dont l'objectif est de définir des plans de gestions et de conservation de la biodiversité dans ces îles, incluant la conservation de *P. livingstonii*, Ibouroi obs. pers.). Cependant, ces initiatives restent en général cantonnées à des documents administratifs et ne déclenchent aucune action concrète pour la conservation de ces espèces sur le terrain (Ibouroi obs. pers.). Des initiatives ont été menées par des ONG locales, telles que l'ONG « Engagement Communautaire pour le Développement Durable » (ECDD) de 2008 à 2013 dont les objectifs étaient de contribuer au développement local à Anjouan et de suivre la population de *P. livingstonii* sur le long terme afin de proposer des mesures de conservation pour cette espèce. Ces projets de conservation ont cependant généralement avorté à des stades embryonnaires. Une autre ONG locale (Dahari) a depuis 2013 pris le relai de ECDD avec les mêmes objectifs, mais toute seule, sans l'appui du gouvernement comorien, elle ne semble pas être en mesure d'assurer la conservation de ces espèces sur le long terme (Daniel et al., 2016). Le manque de politique de conservation sur les trois îles Comores est probablement lié à un manque d'études scientifiques publiées dans le domaine de la conservation mais aussi sur la biodiversité en général aux Comores en comparaison avec ce qui peut être mené sur d'autres îles de l'océan indien telles que Madagascar, l'île Maurice ou même à Mayotte. Les chauves-souris, et la biodiversité en général, sont d'autant plus méconnues aux Comores du fait qu'elles ne font pas partie des thèmes abordés dans le cadre des études scientifiques. En effet, l'Union des Comores étant un des pays les plus pauvres au monde (Elvidge et al., 2009, Fisher and Christopher 2007), les études menées aux Comores s'intéressent principalement aux activités pouvant générer des revenus directs pour les familles et négligent les écosystèmes et la biodiversité ainsi que les services que cette biodiversité assure aux populations locales (Ibouroi obs. pers.).

7- Objectifs scientifiques de la thèse

La mise en place d'une politique de gestion et de conservation de la diversité biologique efficace nécessite une bonne compréhension de la nature des différentes interactions qui existent entre les espèces et leurs habitats naturels pour mieux appréhender les processus écologiques déterminant leurs distributions ainsi que leurs réponses face aux perturbations potentielles des habitats. En ce sens, les informations sur la distribution et l'utilisation de l'espace par les individus, la diversité génétique et structuration des populations ainsi que la caractérisation des pressions anthropiques en lien avec les caractéristiques socio-économiques seront des éléments de connaissances absolument nécessaires pour identifier les causes des déclins et proposer des politiques publiques adaptées à leur conservation (Broennimann et al., 2012; Mikolajczak et al., 2015; Monsarrat et al., 2015).

L'étude de la distribution géographique et de la niche écologique d'une espèce permettent en effet d'identifier les zones favorables à cette espèce dans un but, par exemple, de réguler les activités anthropiques et les perturbations dans les zones les plus favorables à l'espèce. De telles études permettent aussi de déterminer quelles sont les variables environnementales, éco-topographiques ou climatiques qui ont un impact sur la sélection des habitats par l'espèce étudiée et ainsi de proposer des mesures de gestion adaptées. Par exemple, par l'application de méthodes appelées « *Species Distribution Modeling* ou SDM», Fagundes et al. (2015) ont pu caractériser les habitats favorables à des espèces menacées de tortues d'eau douce (*Rhinoclemmys punctularia, Mesoclemmys nasuta, Kinosternon scorpioides* et *Acanthochelys macrocephala*) en Amazonie Brésilienne et ont pu montrer que le réseau d'Aires Protégées n'était pas suffisant pour assurer la protection de toutes les populations de ces tortues en danger imminent d'extinction (Fagundes et al., 2015). Par leur étude, Fagundes et al. (2015) ont ainsi conclu que l'inclusion « d'aires d'utilisation durable » (*sustainable use areas ou SUA*) ainsi que les terres indigènes (*indigenous lands* ou *IL*) dans le réseau d'Aires Protégées était crucial pour que ces espèces soit assurées d'une meilleure protection. De telles approches spatiales permettent donc de proposer des mesures de gestion ou de restauration des habitats le cas échéant dans des zones favorables à l'espèce ciblée. Zhu et al. (2016), ont appliqué la méthode des SDM sur des espèces de plantes endémiques et menacées d'extinction de l'Asie (*Ammopiptanthus*

mongolicus, Amygdalus mongolica, Helianthemum songaricum, Potaninia mongolica, et *Tetraena mongolica*) et ont ainsi pu caractériser les zones favorables à ces espèces. Ils ont pu par la suite proposer les zones potentielles à protéger des actions anthropiques pour assurer leur conservation (Zhu et al., 2016).

De leur côté, les études sur la diversité génétique et la structuration des populations, permettent d'une part de déterminer l'état de santé global d'une population notamment à travers le taux de polymorphisme ou le coefficient de consanguinité. Par exemple, à l'aide des outils génétiques, Craul et al. (2009) ont montré une faible diversité génétique ainsi qu'un effondrement des populations d'une espèce de lémuriens (*Lepilemur edwardsi*) au Nord-Ouest de Madagascar. Du fait d'une diversité génétique encore très faible évaluée dans les petits fragments forestiers non protégés par rapport aux forêts non fragmentées notamment, la forêt du Parc National d'Ankarafantsika (ANP), ils ont suggéré que cette perte de diversité était essentiellement le résultat des actions anthropiques, notamment la fragmentation des forêts. Par leur étude, ils ont pu conclure que la conservation à mettre en place devrait tenir compte de toutes les sous-populations subsistantes pour assurer la survie à long-terme de cette espèce (Craul et al., 2009). D'autres parts, les études génétiques permettent de détecter d'éventuelles ruptures des flux géniques entre les différentes sous-populations d'une même espèce. Par exemple, Goossens et al. (2016), ont montré par les outils de la génétique, que la perte et de la fragmentation des habitats étaient à l'origine de la structuration et de l'isolement géographique des sous-populations d'une espèce d'éléphant à Bornéo (*Elephas maximus borneensis)* et ont conclu que le maintien du niveau actuel de diversité génétique était possible par la restauration de la connectivité entre les différentes sous-populations actuellement isolées (Goossens et al., 2016). De telles approches peuvent permettre ainsi d'identifier les populations à risque et ainsi mettre au point des plans de gestion appropriés pour ces populations menacées. Par exemple, Weeks et al. (2016) ont réalisé une étude génétique sur des espèces de mammifères australiens qui étaient en «danger critique d'extinction» et ont trouvé une faible diversité génétique (Weeks et al., 2016). Par leur étude, ils ont conclu que cette faible diversité génétique était le résultat d'une stratégie de conservation inappropriée, à savoir la conservation des populations hautement structurées génétiquement sous une seule unité de gestion, ce qui a causé une chute de la population et une perte de la diversité génétique par dérive génétique. Par leur étude, ils ont par la suite suggéré une autre stratégie de conservation

visant à conserver les différentes populations sous différentes «unités de gestion» (Weeks et al., 2016).

Cependant, les études écologiques ou génétiques ne permettent pas, à elles seules, d'identifier les bras de levier pour protéger efficacement des espèces. En effet, les sociétés humaines et leurs pratiques constituent souvent la menace principale sur ces espèces mais aussi le facteur le plus difficile à changer (Kamal and Grodzinska-Jurczak, 2014). Des études sociologiques ou socio-économiques sont de ce fait nécessaires pour déterminer quelles représentations ont les populations locales des espèces ciblées et quelles sont les actions qu'elles entreprennent qui sont potentiellement en conflit avec la conservation de ces espèces afin de déterminer quels pourront être les bras de leviers concrets potentiels pour améliorer leur conservation mais aussi identifier les difficultés qui risquent de se présenter. Par exemple, dans une étude réalisée en 1990, Sournia a étudié des situations en Afrique francophone où les plans de conservations de la biodiversité ont échoué à cause d'un manque de stratégies efficaces en lien avec les populations locales. Par exemple au Mali, l'Aare protégée de la Boucle du Baoulé (350 000 ha), faisait partie du réseau des Réserves de Biosphère. Du fait d'un manque d'entente entre gestionnaire de l'aire protégée et la population locale, l'aire protégée a perdu 90 % de sa faune à cause du braconnage (Sournia, 1990). La couverture végétale avait également disparue à cause d'une utilisation irrationnelle des terres. Sournia (1990) a ainsi conclu qu'une sensibilisation de la population locale pourrait permettre une amélioration de la situation (Sournia, 1990). Paré et al. (2010), ont réalisé une étude socioéconomique relative à l'utilisation des ressources naturelles ainsi que la perception de la population locale sur la biodiversité et la forêt au Burkina Faso. Par cette étude, ils ont pu montrer que la forêt joue un rôle important dans la survie de la population locale et que la perte des habitats est liée à une utilisation irrationnelle des ressources naturelles (Paré et al., 2010). Ils ont ensuite recommandé que les stratégies de conservation à mettre en place soient développées conjointement entre les communautés locales, les gestionnaires et les scientifiques pour mettre en place une gestion durable des ressources naturelles et de la biodiversité (Kamal and Grodzinska-Jurczak, 2014; Paré et al., 2010). Toujours au Burkina Faso, dans une étude sur les perceptions, usages et vulnérabilité des ressources végétales ligneuses, Traoré et al. (2011) ont montré que la combinaison des inventaires de terrain et des enquêtes socioéconomiques étaient indispensables pour identifier les espèces menacées (Traoré et al., 2011). Karanth et al. (2011) ont réalisé une

étude, sur la perception de bénéfices *versus* des inconvénients vis-à-vis de la présence des aires protégées chez les résidents dans une région en Inde (Karanth and Nepal, 2011). Par leur étude, ils ont suggéré que l'amélioration du niveau de vie et du niveau d'éducation de la population locale pourrait réduire la forte dépendance au ressources naturelles et ainsi assurer une meilleure gestion des aires protégées (Karanth and Nepal, 2011). Ainsi ces études socioéconomiques sont nécessaires pour concilier l'utilisation des ressources naturelles et la conservation de la biodiversité.

L'objectif de la thèse présentée ici était de réaliser une étude sur les deux espèces de chauves-souris géantes des Comores, combinant plusieurs disciplines scientifiques ancrées dans le contexte de la biologie de la conservation afin de pallier au manque de connaissances sur ces espèces mais aussi de favoriser l'émergence de politiques publiques de conservation réalistes. Pour faire le bilan de cette approche volontairement intégrée, j'ai organisé mon mémoire de thèse en six chapitres dont cette introduction est de fait le premier.

Le deuxième chapitre présente les résultats d'une étude multi-échelle de la niche écologique des deux espèces et de leur distribution potentielle. Cette partie avait pour objectif de caractériser les conditions favorables à ces espèces par rapport aux conditions disponibles ainsi d'évaluer l'effet des variables écologiques et les effets anthropiques sur le choix de la niche pour chacune des deux espèces. Il s'agissait d'évaluer les limites de la répartition géographique de chacune des deux espèces. Dans cette partie, j'ai caractérisé finement l'utilisation des habitats notamment pour clarifier les relations entre gîtes, éco-variables et nombre d'individus observés. Enfin, j'ai utilisé ces informations pour identifier des zones de conservation prioritaires pour ces deux espèces ***(Manuscrit 1)***.

Le troisième chapitre de ma thèse présente les travaux que j'ai menés sur la génétique des populations de chacune des deux espèces. Une première partie de ce chapitre présente les résultats d'un test de la faisabilité de l'utilisation d'une approche non-invasive (analyses génétiques basées sur la collecte de fèces) pour accéder aux données génétiques et démographiques pour ces deux espèces ***(Manuscrit 2)***. La deuxième partie de ce chapitre présente les résultats d'une étude de génétique des populations ayant consisté à (i) évaluer le degré de diversité ainsi que la structure des noyaux de populations sur les différentes îles

pour les deux espèces et de tester si les populations des deux îles (pour *P. livingstonii*) ou des quatre îles (pour *P. s. comorensis*) sont encore connectées par des échanges de flux de gènes ou pas; (ii) à identifier d'éventuelles sous-populations particulières en termes génétiques pour identifier les noyaux à conserver *(**Manuscrit 3**).*

Le quatrième chapitre de la thèse présente une courte étude ayant exploré le potentiel des méthodes de génétiques non-invasives pour estimer la taille de population et les paramètres démographiques chez de *P. livingstonii*. En effet, l'étude des paramètres démographiques est un point essentiel pour la mise en place d'une politique de gestion conservatoire des espèces efficace. Ces approches permettent en effet de réaliser des projections à long terme de l'évolution des populations pour évaluer leur dynamique et identifier quels sont les facteurs gouvernants cette dynamique. *P. livingstonii* étant une espèce très rare et très sensible, il n'est *a priori* pas possible de mettre en œuvre des méthodes directes de suivis des individus par Capture-Marquage-Recapture avec capture physique par exemple. L'objectif de ce travail était donc de déterminer s'il était possible, et réaliste financièrement, de mener de telles études démographiques, sur un moyen long-terme, à partir de la collecte de fèces sur le terrain (***Manuscrit 4***).

Le cinquième chapitre de cette thèse présente les résultats d'une étude socio-économique ayant consisté à évaluer les attitudes de la population locale vis-à-vis de la biodiversité, leur connaissance des espèces, les pressions qu'elles exercent sur les habitats et la biodiversité dans le but d'identifier des actions pertinentes et des stratégies efficaces pour la conservation de la biodiversité. J'ai evalué quels sont les differents facteurs ayant des impacts sur les habitats naturels et la biodiversté mais aussi les differents groupes sociaux ayant des perceptions négatives de la biodiversité et les raisons de ces visions négatives. Enfin, j'ai discuté en fonction des résultats obtenus les stratégies pour atteindre un equilibre entre l'utilisation des ressources naturelles et une conservaion durable des habitats et de la biodiversité ***(Manuscrit 5).***

Le sixième chapitre de la thèse est consacré à une discussion générale de l'ensemble des résultats et des perspectives de recherche.

8- Méthodes d'étude sur le terrain

8.1- Quelques méthodes adoptées pour la collecte des données de terrain

Pour répondre aux différentes questions posées au cours de cette thèse, j'ai réalisé trois sessions de terrain dans l'archipel des Comores : la première session a eu lieu entre le 10 novembre 2014 et le 5 mai 2015, la deuxième session a eu lieu entre le 24 décembre 2015 et le 5 avril 2016 et la troisième session a été réalisée entre le 30 juillet et le 1er Octobre 2016, pour un effort total de 12 mois complet de terrain. Cet effort de terrain a été consacré à la collecte de l'ensemble des données de terrain que cela soit sur l'utilisation de l'espace par les individus des deux espèces, sur leurs effectifs, pour le prélèvement de tissus et de fèces mais aussi pour la réalisation des interviews avec les populations locales.

La collecte de données de type « présence-absence» des deux espèces et de relevés des variables d'habitats a permis de modéliser la distribution potentielle ainsi que l'effet des variables environnementales sur la sélection d'habitats pour chaque espèce (chapitre 2). Au cours de ces trois sessions de terrain, j'ai également réalisé un échantillonnage intensif des matières fécales sous les dortoirs ainsi que la collecte de tissus des deux espèces par captures physique des animaux. Les échantillons de tissus et de fèces m'ont permis de répondre aux questions posées dans le chapitre 3, alors que les échantillons de fèces seuls m'ont permis de répondre à la question posée dans le chapitre 4. Au cours de la 2ème et 3ème session de terrain, j'ai collecté, en plus des fèces et des tissus et des données « écologiques », des données socio-économiques en lien avec la perte d'habitats et la biodiversité à travers des interviews permettant de répondre aux questions du chapitre 5 visant à évaluer l'effet des actions anthropiques sur la dynamique de ces populations de chauves-souris.

Au cours de la première session de terrain, j'ai aussi collecté des données sur une troisième espèce de Mégachiroptère endémique des Comores, à savoir *Roussettus obliviosus*. Pour cette espèce, il s'agissait de localiser les différents dortoirs (caves ou grottes), faire un comptage des individus dans chaque grotte mais aussi de réaliser un échantillonnage de tissus pour des études génétiques. Ces données populationnelles ont été archivées et une centaine de tissus collectés sont congelés et stockées au sein de la plateforme de Système des Marqueur Génétique en Ecologie du CEFE. Vu le temps disponible pour la thèse, j'ai décidé de n'analyser que les données des deux espèces de *Pteropus* et de laisser les données de *Roussettus* de côté pour une prochaine étude.

Ces opérations de terrain ont été financées en partie par des autofinancements des directeurs de thèse mais aussi à travers des demandes de financements propres sur des bourses liées à la conservation des espèces patrimoniales (*Rufford Small Grant*). Les manipulations de génétique en laboratoire ont été financées en partie par la «*Islamic Developpment Bank* (IDB)» mais aussi par les autofinancements des directeurs de thèse. A noter que la bourse de thèse a été financée par la «*Islamic Developpment Bank* (IDB).

8.1.1-Mission préliminaire

Avant les trois sessions de terrain de la thèse, j'ai réalisé une première mission sur le terrain entre juillet et août 2014, juste avant le début de la thèse en septembre 2014. Considérée comme une mission préliminaire à la thèse, cette mission m'a permis de tisser les premiers liens avec plusieurs institutions comoriennes incluant la Direction Générale de l'Environnement et des Forêts des Comores (DGEF), l'Université des Comores (UDC) mais aussi le Centre National de Documentation et des Recherches Scientifiques aux Comores (CNDRS). Ces collaborations ont été très utiles tout au long du déroulement de ma thèse et ont largement facilité le déroulement des différentes missions de terrain et des procédures administratives notamment liées à l'obtention des autorisations de recherches et des permis d'exportation des échantillons CITES. Par le biais de ces institutions, j'ai aussi pu rencontrer les futurs membres de l'équipe de terrain qui m'ont accompagné par la suite. Par exemple, c'est à travers ma collaboration avec le CNRDS que j'ai pu recruter Ali CHEHA pour le terrain. Ali était initialement employé par le CNDRS et il a pu par la suite venir en France pour réaliser son Master 2 à l'Ecole Pratique des Hautes Etudes (EPHE) puis son stage de Master avec nous dans l'équipe Biogéographie et Ecologie des Vertébrés (BEV) au Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE). Ali CHEHA a contribué à la collecte des données lors de la première mission de terrain et a contribué aux travaux de laboratoire pour les analyses génétiques au CEFE. C'est aussi grâce à mes relations avec le CNDRS au cours de cette mission préliminaire que j'ai pu obtenir les différentes couches SIG des variables écologiques sur l'ensemble de l'Union des Comores, couches nécessaires pour les analyses de distribution potentielle des deux espèces.

8.1.2-Localisation des sites d'échantillonnage

Pour localiser les différents sites d'échantillonnage dans le but réaliser la collectes des données de terrain, j'ai préalablement établi un plan d'échantillonnage en me basant sur la littérature notamment en réunissant toutes les données disponibles sur les différents types d'habitats aux Comores mais aussi toute information indiquant la localisation des chauves-souris frugivores de ces îles. A l'aide de photos satellitaires, j'ai localisé les zones potentielles en fonction des types d'habitats (forêts naturelles, forêts dégradées, zones de plantations, zones habitées etc.). Arrivé sur le terrain, j'ai réalisé d'autres enquêtes au niveau de la population locale pour avoir le maximum d'informations sur les dortoirs ainsi que la présence des chauves-souris dans leur région. Ensuite, certains sites localisés sur photos satellites ont dû être supprimés du plan d'échantillonnage dès l'arrivée sur place, souvent du fait de leur inaccessibilité (zones très accidentées) ou par une forte destruction de la forêt par rapport à ce que j'avais vu sur les photos satellites.

8.1.3-Collecte des données de présence-absence

La collecte des données de présence et d'absence a été réalisée dans les trois îles de l'Union des Comores (Grande Comore, Anjouan et Mohéli). Au cours de ces collectes, des pistes établies par les villageois, des transects que nous avons ouverts nous-même, mais aussi des routes situées dans la zone d'étude ont été suivis par au moins deux observateurs simultanément pour localiser les points d'occurrences des chauves-souris étudiées. Lorsque plusieurs trajets étaient possibles, le choix du trajet a été réalisé préférentiellement vers ceux permettant de traverser différents types d'habitats. Par exemple, une piste traversant à la fois une zone habitée, une zone de plantation, une forêt dégradée et une forêt primaire a été considéré comme un meilleur candidat pour l'échantillonnage (car permettant d'avoir des relevés d'habitats hétérogènes dans une même zone géographique et donc de plus facilement identifier les préférences d'habitat des espèces étudiées) et a donc été classée comme prioritaire par rapport à des pistes ne traversant qu'un seul type d'habitat. Chaque route traversant un village d'une zone d'étude a été parcourue au moins une fois pour la localisation des chauves-souris et de leurs dortoirs. En ce qui concerne les transects en forêt, leurs points de départ ont été sélectionnés de manière aléatoire et partaient des bordures des forêts pour se diriger vers l'intérieur des forêts en suivant le gradient altitudinal et en fonction de l'accessibilité. Dans la pratique, j'étais souvent amené à contourner des vallées

et des montagnes dans les zones très accidentées, ce qui fait que les transects ne suivent généralement pas les normes de la linéarité de la théorie. Au cours des parcours, à la vue d'un animal ou d'une colonie dans un arbre, les informations suivantes ont été collectées dans un rayon de 25 m de plot autour de l'arbre gite : point de localisation (donné par le GPS), type d'habitat (forêt naturelle, forêt secondaire dégradée, zone de culture, zone habitée, etc.), présence ou non d'un point d'eau, nombre d'arbres, nom de l'espèce de l'arbre gite, estimation de la hauteur de la canopée et pourcentage de son ouverture, présence de signes de feux, présence de signes de chasse, comportement de l'animal (c'est-à-dire est-ce que l'animal est au repos ou en alimentation). Le pourcentage d'ouverture de la canopée, la hauteur de la canopée et la hauteur de l'arbre ont été estimés à l'œil nu par deux ou trois observateurs, chacun estimant une valeur sans concertation avec les autres. La valeur relevée est alors la moyenne des deux ou trois observateurs. L'abondance des arbres est obtenue en comptant le nombre d'arbres dont le diamètre à hauteur de poitrine (DBH) est supérieur à 15cm. L'intensité des coupes d'arbres est considérée comme étant le nombre de pieds d'arbres coupés. Les DBH des arbres sont mesurés à l'aide d'un décamètre. Au cours des parcours, si aucune chauve-souris n'est repérée dans un intervalle de temps de 15 minutes, un point GPS est relevé. Au cours des 15 minutes suivantes si aucune chauve-souris n'a encore été repérée, un 2ème point GPS est relevé et le 1er point GPS relevé est considéré comme un point d'absence et ainsi de suite. Sur chaque point d'absence relevé, toutes les informations concernant l'habitat (ouverture de la couverture forestière, hauteur de la canopée, densité des arbres, présence ou non des rivières…) aussi ont été relevées dans un rayon de 25 m de plot autour de l'observateur.

8.1.4-Collecte du matériel pour les analyses génétiques

8.1.4.1-Collecte des échantillons de fèces

Chez les deux espèces de *Pteropus*, de la matière fécale fraiche a été collectée sous chaque arbre gite. Pour cet échantillonnage, des bâches en plastique de 3mx3m ont été placées en dessous de l'arbre gite des chauves-souris entre 18h et 18h30. Celles-ci ont ensuite été vérifiées très tôt le matin (à partir de 5h) et environ 15 échantillons de crottes ont été prélevés sur chaque site. Deux protocoles pour la conservation des échantillons ont été utilisés pour comparer leur efficacité en termes de conservation d'ADN. Ainsi, certains échantillons ont été mis dans des tubes contenant du silica gel et d'autres dans des tubes

contenant de l'éthanol à 96°. Les échantillons ont ensuite été conservés dans un endroit sec et frais à température ambiante (entre 20 et 30°C). Au laboratoire, ces échantillons ont ensuite été conservés à une température de –4°C en attendant l'extraction de l'ADN quelques jours après.

8.1.4.2-Collecte des échantillons de tissus

Une collecte de tissus a également été réalisée sur les deux espèces. Pour cela, nous avons utilisé la technique de filets de canopée qui est la méthode la plus efficace pour capturer les chiroptères de grandes tailles (Desvars et al., 2009; Estrada et al., 1993). Des filets noirs ou « *black nylon mist net»* de 12m sur 3m avec des mailles de 0,45 mm et quatre poches, ont été installés perpendiculairement aux passages naturels des chauves-souris entre 18 h et minuit. Les filets ont été disposés à différents niveaux des arbres selon la hauteur et la taille de l'ouverture entre les deux arbres ciblés. Les animaux piégés (Figure 12) ont été rapidement libérés des filets et ont été marqués par incision au niveau de l'oreille lors de sa première capture permettant de le reconnaître lors d'éventuelles recaptures et ainsi éviter un double échantillonnage. Environ 2mm de tissus ont été prélevés au niveau des pavillons des oreilles et conservés dans des tubes de 1,5 ml contenant de l'éthanol à 96°. Tous les individus capturés ont été relâchés à l'emplacement des captures environ 15 minutes après leur capture pour limiter le stresses des animaux. Les échantillons de tissus des populations de *P. s. comorensis* de l'Ile Mayotte ont été fournis par l'Institut Ecologie et Environnement (ECOSAN BatMan) du Centre National de la Recherche Scientifique.



Figure 12: Capture de *P. s. comorensis* dans un filet à 4 poches, Photo : © Mohamed-Thani

8.1.5-Approches sociales pour évaluer l'effet de l'utilisation des ressources naturelles sur la perte des habitats (*manuscrit 5*).

Pour cette étude sociale, j'ai ciblé les villageois occupant des villages proches des forêts, plus précisemment localisés entre 1 et 5 km autour des forêts. Dans le but d'avoir une vision globale de l'utilisation des ressources naturelles ainsi que de son effet sur la perte des habitats naturels, j'ai combiné des données d'enquêtes semi-dirigées avec des données de type «Q-sort» afin d'affiner les résultats (Kamal et al., 2014). Toutes les personnes enquetées ont été choisies au hasard soit dans leurs zones de travail, dans les villages ou au cours de nos prospections dans les forêts.

8.1.5.1-Collection des données

Les données destinées aux analyses sociales ont été collectées durant deux sessions de terrain différentes : entre le 24 décembre 2015 et le 5 avril 2016 pour les interviews semi-dirigées et entre 30 juillet et le 1er octobre 2016 pour le Q-sort.

7.1.5.1.1-Interviews et questionnaire semi-dirigés

La première session d'enquête a consisté à collecter les premières informations sur la population rurale et sur leurs connaissances de la biodiversité, leurs attitudes vis-à-vis des chauves-souris et la biodiversité en général ainsi que sur leur utilisation des ressources naturelles. A travers des questionnaires semi-dirigés, j'ai collecté des données relatives à leur connaissance sur les ressources naturelles, telles que l'utilisation de la forêt dans la région, l'histoire de la forêt, leurs connaissances de la biodiversité et son importance, leurs connaissances sur les chauves-souris et leur importance pour la forêt, les différentes activités de vie mis en œuvre dans la forêt à l'origine de la destruction des forêts mais aussi quant à leur vision de l'avenir de la forêt. Les enquêtes ont été individuelles et menées dans des endroits plus ou moins isolés du public pour éviter l'influence du regard d'autres personnes sur les réponses (Figure 13). L'interview durait environ une heure et les questions ont été posées de la même manière à chaque personne pour faciliter l'analyse des données. J'ai mené les interviews en langage local pour faciliter les conversations et toutes les réponses ont été enregistrées sur dictaphone. Elles ont été par la suite transcrites et traduites en français par moi-même. Au cours des enquêtes, j'ai noté la ville ou village de

résidence de la personne enquêtée, son âge, son niveau d'éducation et sa catégorie socio-professionnelle.



Figure 13 : Enregistrement des propos d'un villageois lors d'une interview, Photo : © Dhurham-Said

Au cours de l'analyses de ces données, seules les répondants de plus de 18 ans ont été inclus (une seule personne a été exclue).

Cette première session d'interview m'a permis d'obtenir les données qualitatives utilisées dans cette thèse mais aussi d'orienter et cadrer mon étude pour la session de terrain basée sur le Q-sort (voir ci-dessous).

8.1.5.1.2-Approche de type « Q-sort »

L'approche de Q-Sort a été utilisée sur le terrain du fait de son utilité dans la mise en évidence des différents profils d'attitudes à l'égard d'un ensemble de sujets. L'approche de Q-sort a été adoptée lors de notre dernière session de terrain entre août et octobre 2016 afin d'identifier les différentes catégories de gens exploitant les ressources naturelles ainsi que les différentes perceptions de la population rurale vis-à-vis de la biodiversité. Je me suis basé sur les résultats issus des enquêtes et interviews de la première session pour rédiger une soixantaine d'affirmations suivant les thèmes les plus évoqués par les populations locales dans les interviews. Ces affirmations ont été traduites à la fois en français et en language local. J'ai ensuite selectionné 33 items (affirmations spécifiques à des thèmes très précis), appelés Q-sort, en considerant les moins redondants parmis les 60 affirmations. Ces 33 items ont été exposés à la population locale lors de notre dernière session de terrain. Pour cela, les 33 items sont inscrits sur des petites cartes numérotées de 1 à 33 au dos de chaque carte. Pour avoir les opinions de chaque personne enquetée, leurs points communs et leurs differences, j'ai demandé à chaque personne de remplir les differentes cases d'un tableau incluant33 cases structurées suivant le nombre d'items (figure 12). La personne enquetée devait placer chaque carte avec un item donné dans une case bien precise du tableau en fonction de son opinion, c'est-à-dire selon qu'il était plus en accord ou en désaccord avec l'item. Ceci force la personne enquetée à donner une note sur les 9 points inscrit dans le tableau (-4, -3, -2, -1, 0, +1, +2, +3, +4) à tous les items (Figure 14 et 15).

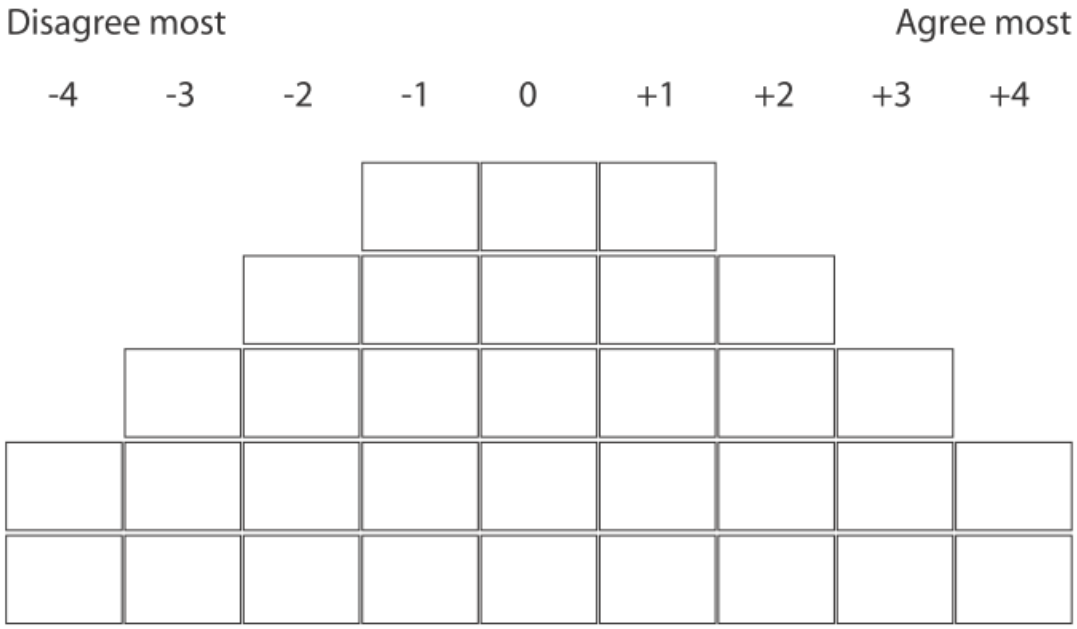


Figure 14: Tableau Q-sort : chaque personne enquetée remplit le tableau par les differents items.

Un choix de +4 signifie que la personne est en accord à 100% avec l'item consideré alors que -4 signifie qu'il est en désaccord à 100%. J'ai ensuite demandé à la personne enquetée d'expliquer les choix les plus extrêmes (+4 et -4) pour aider aux interpretations des résultats. J'ai noté pour chaque personne concernée son âge, sa localisation ainsi que son niveau socio-professionnel, données nécessaires pour l'interprétation des résultats. Une fois le tableau rempli, j'ai retourné toutes les cartes sans les déplacer et j'ai pris le tableau en photo (Figure 16). J'ai ensuite saisi manuellement les informations dans un fichier excel préalablement établi à cet effet. Ce sont ces numéros dans l'ordre du tableau qui seront par la suite analysés.



Figure 15 : un villageois remplit son tableau Q-sort Photo : © Mohamed-Thani.

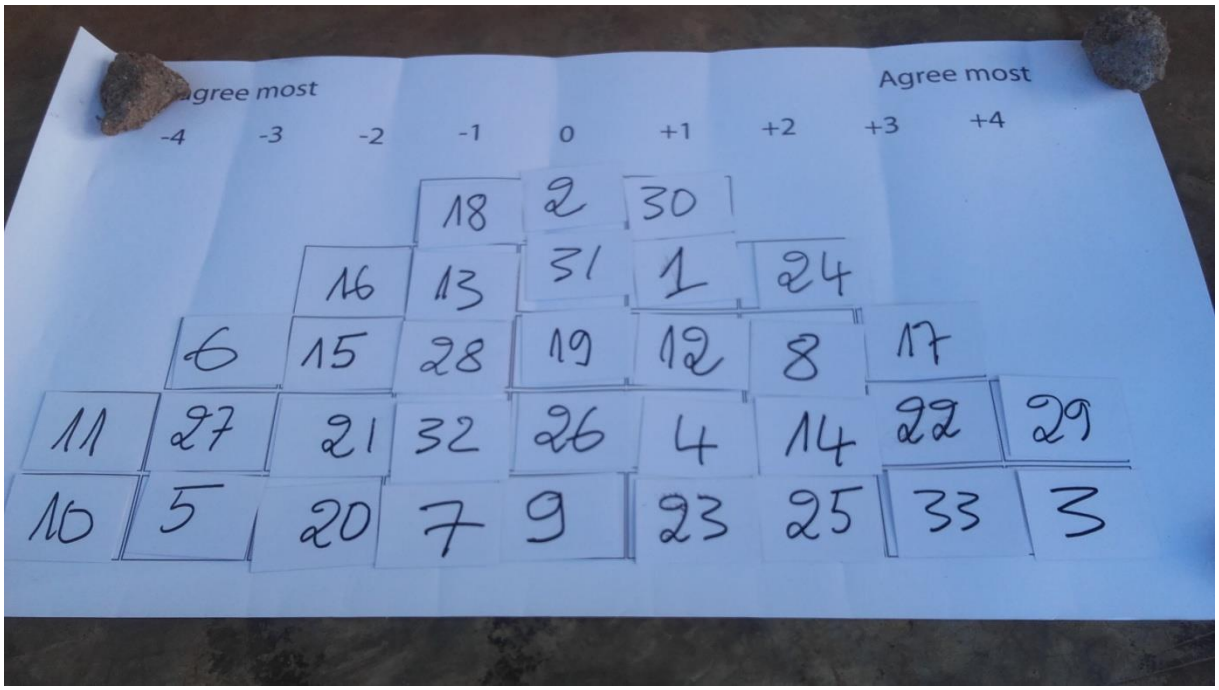


Figure 16: Exemple d'un Q-sort complété par un villageois Photo : © Mohamed-Thani

BIBLIOGRAPHIE

Allan, E., Manning, P., Alt, F., Binkenstein, J., Blaser, S., Bl??thgen, N., B??hm, S., Grassein, F., H??lzel, N., Klaus, V.H., Kleinebecker, T., Morris, E.K., Oelmann, Y., Prati, D., Renner, S.C., Rillig, M.C., Schaefer, M., Schloter, M., Schmitt, B., Sch??ning, I., Schrumpf, M., Solly, E., Sorkau, E., Steckel, J., Steffen-Dewenter, I., Stempfhuber, B., Tschapka, M., Weiner, C.N., Weisser, W.W., Werner, M., Westphal, C., Wilcke, W., Fischer, M., 2015. Land use intensification alters ecosystem multifunctionality via loss of biodiversity and changes to functional composition. Ecol. Lett. 18, 834–843. doi:10.1111/ele.12469

Allan, J.D., Flecker, A.S., David, J., Alexander, S., 1993. Biodiversity Conservation in Running Waters. Bioscience 43, 32–43. doi:10.2307/1312104

Audru, J.C., Bitri, A., Desprats, J.F., Dominique, P., Eucher, G., Hachim, S., Jossot, O., Mathon, C., N??dellec, J.L., Sabourault, P., Sedan, O., Stollsteiner, P., Terrier-Sedan, M., 2010. Major natural hazards in a tropical volcanic island: A review for Mayotte Island, Comoros archipelago, Indian Ocean. Eng. Geol. 114, 364–381. doi:10.1016/j.enggeo.2010.05.014

Baillie, J., Hilton-Taylor, C., Stuart, S.N., 2004. 2004 IUCN red list of threatened species: a global species assessment, Earth. doi:10.2305/IUCN.CH.2005.3.en

Bannack, S.A., S.Grant, G., 2002. Banack and Grant 2002_Pteropus tonganu.pdf. Jounal Wildife Manag. 66, 1154–1163.

Barnosky, A.D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G.O.U., Swartz, B., Quental, T.B., Marshall, C., McGuire, J.L., Lindsey, E.L., Maguire, K.C., Mersey, B., Ferrer, E. a, 2011. Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? Nature 471, 51–57. doi:10.1038/nature09678

Bourgoin, C., Parker, L., Martínez-Valle, A., Mwongera, C., Läderach, P., 2017. Une évaluation spatialement explicite de la vulnérabilité du secteur agricole au changement climatique dans l'Union des Comores, Les Pays-B. ed, CGIAR Research Program on Climate Change, Agriculture and Food Security (CCAFS). Wageningen. doi:10.1016/S1574

Boyles, J.G., Cryan, P.M., McCracken, G.F., Kunz, T.K., 2011. Economic Importance of Bats in Agriculture. Science (80-.). 332, 41–42. doi:10.1126/science.1201366

Broennimann, O., Fitzpatrick, M.C., Pearman, P.B., Petitpierre, B., Pellissier, L., Yoccoz, N.G., Thuiller, W., Fortin, M.J., Randin, C., Zimmermann, N.E., Graham, C.H., Guisan, A., 2012. Measuring ecological niche overlap from occurrence and spatial environmental data. Glob. Ecol. Biogeogr. 21, 481–497. doi:10.1111/j.1466-8238.2011.00698.x

Brooke, A.P., 2001. Population status and behaviours of the Samoan flying fox (Pteropus samoensis) on Tutuila Island, American Samoa. J. Zool. 254, 309–319. doi:10.1017/S0952836901000814

Brooks, T.M., Mittermeier, R. a, Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G. a B., Rylands, A.B., Konstant, W.R., Flick, P., Pilgrim, J., Oldfield, S., Magin, G., Hilton-Taylor, C., 2002. Habitat Loss and Extinction in the Hotspots of Biodiversity\rPérdida de Hábitat y Extinciones en Áreas Críticas para la Biodiversidad. Conserv. Biol. 16, 909–923. doi:10.1046/j.1523-1739.2002.00530.x

Brosseau, O., Chevallier, F., Flégeo, I., Giguet, S., Brosseau, O., 2017. Rencontre avec les pollinisateurs un pollinisateurs.

Brown, J.H., Kodric-brown, A., 2016. Turnover Rates in Insular Biogeography : Effect of Immigration on Extinction Author (s): James H . Brown and Astrid Kodric-Brown Published by : Wiley Stable URL : http://www.jstor.org/stable/1935620 REFERENCES Linked references are available on JSTOR fo. Ecology 58, 445–449.

Caro, T., Darwin, J., Forrester, T., Ledoux-Bloom, C., Wells, C., 2012. Conservation in the Anthropocene. Conserv. Biol. 26, 185–188. doi:10.1111/j.1523-1739.2011.01752.x

Craul, M., Chikhi, L., Sousa, V., Olivieri, G.L., Rabesandratana, A., Zimmermann, E., Radespiel, U., 2009. Influence of forest fragmentation on an endangered large-bodied lemur in northwestern Madagascar. Biol. Conserv. 142, 2862–2871. doi:10.1016/j.biocon.2009.05.026

Desvars, A., Duval, T., Punelle, C., Pascal, M., Vourc'h, G., 2009. The flying fox Pteropus seychellensis of Mayotte (Comoros): method of capture and blood sampling. J. Wildl. Dis. 45, 870–873. doi:10.7589/0090-3558-45.3.870

Dicks, L. V., Wright, H.L., Ashpole, J.E., Hutchison, J., McCormack, C.G., Livoreil, B., Zulka, K.P., Sutherland, W.J., 2016. What works in conservation? Using expert assessment of summarised evidence to identify practices that enhance natural pest control in agriculture. Biodivers. Conserv. 25, 1383–1399. doi:10.1007/s10531-016-1133-7

Epstein, J.H., Olival, K.J., Pulliam, J.R.C., Smith, C., Westrum, J., Hughes, T., Dobson, A.P., Zubaid, A., Rahman, S.A., Basir, M.M., Field, H.E., Daszak, P., 2009. Pteropus vampyrus, a hunted migratory species with a multinational home-range and a need for regional management. J. Appl. Ecol. 46, 991–1002. doi:10.1111/j.1365-2664.2009.01699.x

Estrada, A., Coates-Estrada, R., Meritt, D.J., 1993. Bat species richness and abundance in tropical rain forest fragments and in agricultural habitats at Los Tuxtlas, Mexico. Ecography (Cop.). 16, 309–318. doi:10.1111/j.1600-0587.1993.tb00220.x

Fagundes, C.K., Vogt, R.C., De Marco Júnior, P., 2015. Testing the efficiency of protected areas in the Amazon for conserving freshwater turtles. Divers. Distrib. 22, 123–135. doi:10.1111/ddi.12396

Fisher, B., Christopher, T., 2007. Poverty and biodiversity: Measuring the overlap of human poverty and the biodiversity hotspots. Ecol. Econ. 62, 93–101. doi:10.1016/j.ecolecon.2006.05.020

Frey, J.K., Bogan, M.A., Yates, T.L., 2007. Mountaintop island age determines species richness of boreal mammals in the American Southwest. Ecography (Cop.). 30, 231–240. doi:10.1111/j.2007.0906-7590.04721.x

Friday, E.T., James, O., Olusegun, O., Gabriel, A., 2011. Investigations on the nutritional and medicinal potentials of *Ceiba pentandra* leaf: a common vegetable in Nigeria. . Int. J. Plant Physiol. Biochem. 3, 95–101.

Gallai, N., Salles, J.M., Settele, J., Vaissière, B.E., 2008. Economic valuation of the vunerability

of world agriculture confronted with pollinator decline. Ecol. Econ. 68, 810–821. doi:10.1016/j.ecolecon.2008.06.014>

Giannini, T.C., Acosta, A.L., Garófalo, C.A., Saraiva, A.M., Alves-dos-santos, I., Imperatriz-fonseca, V.L., 2012. Pollination services at risk : Bee habitats will decrease owing to climate change in Brazil. Ecol. Modell. 244, 127–131. doi:10.1016/j.ecolmodel.2012.06.035

Goodman, S.M., Weyeneth, N., Ibrahim, Y., Saïd, I., Ruedi, M., 2010. A Review of the Bat Fauna of the Comoro Archipelago. Acta Chiropterologica 12, 117–141. doi:10.3161/150811010X504635

Goossens, B., Sharma, R., Othman, N., Kun-Rodrigues, C.C., Sakong, R., Ancrenaz, M., Ambu, L.N., Jue, N.K., O'Neill, R.J., Bruford, M.W., Chikhi, L.L., 2016. Habitat fragmentation and genetic diversity in natural populations of the Bornean elephant: Implications for conservation. Biol. Conserv. 196, 80–92. doi:10.1016/j.biocon.2016.02.008

Groot, R.S. de, Wilson, M.A., Boumans, R.M.J., 2002. A typology for the classification, description and valuation of ecosystem functions, goods and services. Ecol. Econ. 41, 393–408.

Gros-Desormeaux, J.-R., Tupiassu, L., Bastos, R.Z., 2015. L'île et le Vivant Revisités Dans la Théorie de la Biogéographie Insulaire: Les Symptômes du Syndrome D'insularité. Rev. Geoamazônia 3, 200–210. doi:10.17551/2358-1778/geoamazonia.v3n5p200-210

Gros, P., 2014. La pêche, une activité ancestrale en mutation Philippe. Cah. Agric. 23, 4–17. doi:10.1684/agr.2014.0678

Guinard, D., 2009. La filière bois en Europe et dans le monde. Ann. des Mines - Responsab. Environ. N° 53, 49–55. doi:10.3917/re.053.0049

Gurevitch, J., Padilla, D.K., 2004. Are invasive species a major cause of extinctions? Trends Ecol. Evol. 19, 470–474. doi:10.1016/j.tree.2004.07.005

Haddad, N.M., Brudvig, L. a., Clobert, J., Davies, K.F., Gonzalez, A., Holt, R.D., Lovejoy, T.E., Sexton, J.O., Austin, M.P., Collins, C.D., Cook, W.M., Damschen, E.I., Ewers, R.M., Foster, B.L., Jenkins, C.N., King, a. J., Laurance, W.F., Levey, D.J., Margules, C.R., Melbourne, B. a., Nicholls, a. O., Orrock, J.L., Song, D.-X., Townshend, J.R., 2015. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. Sci. Adv. 1, 1–9. doi:10.1126/sciadv.1500052

Hanson, C., Ranganathan, J., Iceland, C., Finisdore, J., 2009. ÉVALUATION DES SERVICES RENDUS PAR LES ÉCOSYSTÈMES AUX ENTREPRISES Guide Pratique pour l'identification des risques et opportunités issus de l'évolution des écosystèmes 48.

Hector, a., 1999. Plant Diversity and Productivity Experiments in European Grasslands. Science (80-.). 286, 1123–1127. doi:10.1126/science.286.5442.1123

Herfindal, I., Haanes, H., Røed, K.H., Solberg, E.J., Markussen, S.S., Heim, M., Sæther, B.-E., 2014. Population properties affect inbreeding avoidance in moose. Biol. Lett. 10, 20140786–20140786. doi:10.1098/rsbl.2014.0786

Hooper, D.U., Adair, E.C., Cardinale, B.J., Byrnes, J.E.K., Hungate, B.A., Matulich, K.L., Gonzalez, A., Duffy, J.E., Gamfeldt, L., O'Connor, M.I., O/'Connor, M.I., 2012. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. Nature 486, 105–108. doi:10.1038/nature11118

Hooper, D.U., Chapin III, F.S., Ewel, J.J., 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. Ecol. Monogr. 75, 3–35. doi:10.1890/04-0922

Jackson, N.D., Fahrig, L., 2016. Habitat amount, not habitat configuration, best predicts population genetic structure in fragmented landscapes. Landsc. Ecol. 31, 951–968. doi:10.1007/s10980-015-0313-2

Jacobs, S., Wolfstein, K., Vandenbruwaene, W., Vrebos, D., Beauchard, O., Maris, T., Meire, P., 2015. Detecting ecosystem service trade-offs and synergies: A practice-oriented application in four industrialized estuaries. Ecosyst. Serv. 16, 378–389. doi:10.1016/j.ecoser.2014.10.006

Jones, G., Teeling, E., 2006. The evolution of echolocation in bats. Trends Ecol. Evol. 21, 149–156. doi:10.1016/j.tree.2006.01.001

Kaboré, D., Sawadogo-Lingani, H., Diawara, B., Compaoré, C.S., Dicko, M.H., Jakobsen, M., 2011. A review of baobab (Adansonia digitata) products: Effect of processing techniques, medicinal properties and uses. African J. Food Sci. 5, 833–844. doi:10.5897/AJFSX11.004

Kamal, S., Grodzinska-Jurczak, M., 2014. Should conservation of biodiversity involve private land? A Q methodological study in Poland to assess stakeholders' attitude. Biodivers. Conserv. 23, 2689–2704. doi:10.1007/s10531-014-0744-0

Karanth, K.K., Nepal, S.K., 2011. Local residents perception of benefits and losses from protected areas in India and Nepal. Environ. Manage. 49, 372–386. doi:10.1007/s00267-011-9778-1

Koopman, K.F., 1984. Taxonomic and Distributional Notes Tropical Australian Bats. Am. Museum Novit. 1–48.

Kremen, C., Williams, N.M., Aizen, M.A., Gemmill-Herren, B., LeBuhn, G., Minckley, R., Packer, L., Potts, S.G., Roulston, T., Steffan-Dewenter, I., Vázquez, D.P., Winfree, R., Adams, L., Crone, E.E., Greenleaf, S.S., Keitt, T.H., Klein, A.M., Regetz, J., Ricketts, T.H., 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: A conceptual framework for the effects of land-use change. Ecol. Lett. doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01018.x

Kunz, T.H., de Torrez, E.B., Bauer, D., Lobova, T., Fleming, T.H., 2011. Ecosystem services provided by bats. Ann. N. Y. Acad. Sci. doi:10.1111/j.1749-6632.2011.06004.x

Losos, J.B., Ricklefs, R.E., 2009. Adaptation and diversification on islands. Nature 457, 830–6. doi:10.1038/nature07893

Louette, M., Meitre, D., Locque, R. (Eds.), 2004. La faune terrestre de l'archipel des Comores.

Musée Royal de l'Afrique Centrale, Tervuren.

Luque, G.M., Vayssade, C., Facon, B., Guillemaud, T., Courchamp, F., Fauvergue, X., 2016. The genetic Allee effect: A unified framework for the genetics and demography of small populations. Ecosphere 7. doi:10.1002/ecs2.1413

McAlpine, C., Catterall, C.P., Mac Nally, R., Lindenmayer, D., Reid, J.L., Holl, K.D., Bennett, A.F., Runting, R.K., Wilson, K., Hobbs, R.J., Seabrook, L., Cunningham, S., Moilanen, A., Maron, M., Shoo, L., Lunt, I., Vesk, P., Rumpff, L., Martin, T.G., Thomson, J., Possingham, H., 2016. Integrating plant- and animal- based perspectives for more effective restoration of biodiversity. Front. Ecol. Environ. 14, 37–45. doi:10.1002/16-0108.1

McConkey, K.R., Drake, D.R., 2006. Flying foxes cease to function as seed dispersers long before they become rare. Ecology 87, 271–276. doi:10.1890/05-0386

Meganathan, P.R., Pagan, H.J.T., McCulloch, E.S., Stevens, R.D., Ray, D.A., 2012. Complete mitochondrial genome sequences of three bats species and whole genome mitochondrial analyses reveal patterns of codon bias and lend support to a basal split in Chiroptera. Gene 492, 121–129. doi:10.1016/j.gene.2011.10.038

Meiri, S., 2017. Oceanic island biogeography: Nomothetic science of the anecdotal. Front. Biogeogr. 9, e32081. doi:10.5811/westjem.2011.5.6700

Michon, L., 2016. The Volcanism of the Comoros Archipelago Integrated at a Regional Scale, in: P. Bachèlery et al. (Ed.), Active Volcanoes of the Southwest Indian Ocean. pp. 333–343. doi:10.1007/978-3-642-31395-0

Mickleburgh, S., Hutson, A.M., Bergmans, W., Howell, K., Gerlach, J., 2008. Pteropus seychellensis, Seychelles Flying Fox. IUCN Red List Threat. Species.

Mikolajczak, A., Maréchal, D., Sanz, T., Isenmann, M., Thierion, V., Luque, S., 2015. Modelling spatial distributions of alpine vegetation : A graph theory approach to delineate ecologically-consistent species assemblages. Ecol. Inform. xxx, xxx–xxx.

Monsarrat, S., Pennino, M.G., Smith, T.D., Reeves, R.R., Meynard, C.N., Kaplan, D.M., Rodrigues, A.S.L., 2015. Historical summer distribution of the endangered North Atlantic right whale (Eubalaena glacialis): A hypothesis based on environmental preferences of a congeneric species. Divers. Distrib. 1–13. doi:10.1111/ddi.12314

Nevoux, M., Barbraud, J.-C., Barbraud, C., 2008. Breeding Experience and Demographic Response To Environmental Variability in the White Stork. Condor, The 110, 55–62. doi:10.1525/cond.2008.110.1.55.55

Nogales, M., Vidal, E., Medina, F.M., Bonnaud, E., Tershy, B.R., Campbell, K.J., 2013. Feral Cats and Biodiversity Conservation. Bioscience 63, 804–810. doi:10.1525/bio.2013.63.10.7

Norberg, L.-U.M., Brooke, A.P., Trewhella, W.J., 2000. Soaring and non-soaring bats of the family pteropodidae (flying foxes, Pteropus spp.): wing morphology and flight performance. J. Exp. Biol. 203, 651–664.

O'Brien, J., 2011. Bats of the Western Indian Ocean Islands. Animals. doi:10.3390/ani1030259

Oleksy, R., Racey, P.A., Jones, G., 2015. High-resolution GPS tracking reveals habitat selection and the potential for long-distance seed dispersal by Madagascan flying foxes Pteropus rufus. Glob. Ecol. Conserv. 3, 678–692. doi:10.1016/j.gecco.2015.02.012

Paré, S., Savadogo, P., Tigabu, M., Ouadba, J.M., Odén, P.C., 2010. Consumptive values and local perception of dry forest decline in Burkina Faso, West Africa. Environ. Dev. Sustain. 12, 277–295. doi:10.1007/s10668-009-9194-3

Parsons, J.G., Cairns, A., Johnson, C.N., Robson, S.K.A., Shilton, L.A., Westcott, D.A., 2006. Dietary variation in spectacled flying foxes (Pteropus conspicillatus) of the Australian Wet Tropics. Aust. J. Zool. 54, 417–428. doi:10.1071/ZO06092

Russell, A.L., Brown, V.A., Utzurrum, R.C.B., Brooke, A.P., Wolf, L.A., Mccracken, G.F., 2016. Comparative Phylogeography of *Pteropus samoensis* and *P. tonganus* (Pteropodidae: Chiroptera) in the South Pacific. Acta Chiropterologica 18, 325–335. doi:10.3161/15081109ACC2016.18.2.002

Ryan, C.M., Pritchard, R., McNicol, I., Owen, M., Fisher, J.A., Lehmann, C., 2016. Ecosystem services from southern African woodlands and their future under global change. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 371, 20150312. doi:10.1098/rstb.2015.0312

Samonds, K.E., Godfrey, L.R., Ali, J.R., Goodman, S.M., Vences, M., Sutherland, M.R., Irwin, M.T., Krause, D.W., 2013. Imperfect Isolation: Factors and Filters Shaping Madagascar's Extant Vertebrate Fauna. PLoS One 8. doi:10.1371/journal.pone.0062086

Sampson, S.D., Witmer, L.M., Forster, C.A., Krause, D.W., Connor, P.M.O., Dodson, P., 1998. Predatory Dinosaur Remains from Madagascar: Implications for the Cretaceous Biogeography of Gondwana. Science (80-.). 280, 1048–1051. doi:10.1126/science.280.5366.1048

Santos, G.M. de M., Carvalho, C.A., Aguiar, C.M., Macedo, L.S., Mello, M.A.R., 2012. Overlap in trophic and temporal niches in the flower-visiting bee guild (Hymenoptera, Apoidea) of a tropical dry forest. Apidologie 1–11. doi:10.1007/s13592-012-0155-8

Santos, H., Ibiez, C., Palmeirim, J., Godinho, R., Alves, P., Costa, H., de Paz, O., Perez-Suarez, G., Martinez-Alos, S., Jones, G., Rebelo, H., 2013. Influences of ecology and biogeography on shaping the distributions of cryptic species: three bat tales in Iberia. Biol. J. Linn. Soc. 1–57.

Schwitzer, C., Mittermeier, R.A., Johnson, S.E., Donati, G., Irwin, M., Peacock, H., Ratsimbazafy, J., Ndramanana, J.R., Jr., E.E.L., Chikhi, L., Colquhoun, I.C., Tinsman, J., Dolch, R., LaFleur, M., Nash, S., Patel, E., Randrianambinina, B., Rasolofoharivelo, T., Wright, C., 2014. Averting Lemur Extinctions amid Madagascar â€™ s Political Crisis. Science (80-.). 343, 842–843.

Sewall, B.J., Freestone, A.L., Moutui, M.F.E., Toilibou, N., Saïd, I., Toumani, S.M., Attoumane, D., Iboura, C.M., 2011. Reorienting Systematic Conservation Assessment for Effective Conservation Planning. Conserv. Biol. 25, 688–696. doi:10.1111/j.1523-

1739.2011.01697.x

Soule, M.E., Bolger, D.T., Alberts, A.C., Wright, J., Hill, S., 1988. Reconstructed dynamics of rapid extinctions of chaparral-requiring birds in urban habitat islands. Conserv. Biol. 2, 75–92.

Sournia, G., 1990. Les aires de conservation en Afrique francophone : aujourd â€™ hui et demain espaces à protéger ou espaces à partager ? Cah. d'Outre-Mer, 42, 451–463.

Stack, L.B., Dill, J., Pundt, L., Raudales, R., Smith, C., Smith, T., 2016. Greenhouse Floriculture Guide. Integr. Pest Manag. Insect Biol.

Tilman, D., Reich, P.B., Knops, J., Wedin, D., Mielke, T., Lehman, C., 2001. Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. Science 294, 843–845. doi:10.1126/science.1060391

Traoré, L., Ouedrago, I., Ouedrago, A., Thiombiano, et A., 2011. Perceptions, usages et vulnérabilité des ressources végétales ligneuses dans le Sud-Ouest du Burkina Faso. Int. J. Biol. Chem. Sci. 5, 258–278.

Trewhella, W.J., Reason, P.F., Davies, J.G., Wray, S., 1995. Observations on the timing of reproduction in the congeneric Comoro Island fruit bats, Ptevopus livingstonii and P. seychellensis cornorensis. J. Zool., L. 236, 327–331.

Trewhella, W.J., Rodriguez-Clark, K.M., Davies, J.G., Reason, P.F., Wray, S., 2001. Sypatric fruit bat species(Chiroptera: Pteropodidae) in the Comoro Islands (Western Indian Ocean): Diurnality, feeding interactions and their conservation implications. Acta Chiropterologica 3, 135–147.

Trewick, S., 2017. Plate Tectonics in Biogeography. Int. Encycl. Geogr. People, Earth, Environ. Technol. 1–9. doi:10.1002/9781118786352.wbieg0638

van der Geer, A.A.E., Lomolino, M. V., Lyras, G.A., 2017. "Island Life" before man: biogeography of palaeo-insular mammals. J. Biogeogr. 44, 995–1006. doi:10.1111/jbi.12857

Vitousek, P.M., Mooney, H. a, Lubchenco, J., Melillo, J.M., 1997. Human Domination of Earth' s Ecosystems. Science (80-.). 277, 494–499. doi:10.1126/science.277.5325.494

Voigt, C.C., Kingston, T., 2015. Bats in the Anthropocene: Conservation ofBatsina Changing World.

Weeks, A.R., Stoklosa, J., Hoffmann, A.A., 2016. Conservation of genetic uniqueness of populations may increase extinction likelihood of endangered species: the case of Australian mammals. Front. Zool. 13, 31. doi:10.1186/s12983-016-0163-z

Weigelt, P., Kreft, H., 2013. Quantifying island isolation - insights from global patterns of insular plant species richness. Ecography (Cop.). 36, 417–429. doi:10.1111/j.1600-0587.2012.07669.x

Wodzicki, K., Felten, H., 1975. The Peka, or Fruit Bat (Pteropus tonganus tonganus) (Mammalia, Chiroptera), of Niue Island, South Pacific. Pacific Sci. 29, 131–138.

Zhao, J., He, K., Peng, Y., Wu, X., Sun, S., 2016. Net neutral effects of a generalist vertebrate predator on seed production result from simultaneous suppression of plant antagonists and mutualists. Basic Appl. Ecol. 17, 344–351. doi:10.1016/j.baae.2015.11.003

Zhu, G., Li, H., Zhao, L., Man, L., Liu, Q., Aguirre-Gutiérrez, J., Grinnell, J., Thomas, C.D., Araújo, M.B., Warren, D.L., Glor, R.E., Turelli, M., Broennimann, O., Graham, C.H., Raxworthy, C.J., Guisan, A., Soberón, J.G., Hof, C., Rahbek, C., Araújo, M.B., Guisan, A., Thuiller, W., Blair, M.E., Zhang, X., Li, X.R., Wang, G.H., Wang, H.S., Zhang, Y.L., Jiang, Z.R., Turesson, G., Su, Z.H., Zhang, M.L., Sanderson, S.C., Zhao, Y.Z., Wei, L., Veloz, S.D., Brown, J.L., Zhu, Z.Y., Hijmans, R.J., Synes, N.W., Osborne, P.E., Papeş, M., Peterson, A.T., Powell, G. V., Rocchini, D., Dormann, C.F., Phillips, S.J., Anderson, R.P., Schapire, R.E., Anderson, R.P., Raza, A., Radosavljevic, A., Anderson, R.P., Warren, D.L., Raes, N., Steege, H. ter, Peterson, A.T., Papes, M., Soberón, J., Phillips, S.J., Dudik, M., Mandle, L., Schoener, T.W., Warren, D.L., Glor, R.E., Turelli, M., Sanderson, E.W., 2016. Mapping the ecological dimensions and potential distributions of endangered relic shrubs in western Ordos biodiversity center. Sci. Rep. 6, 26268. doi:10.1038/srep26268

Zinke, J., Reijmer, J.J.., Thomassin, B.A., 2003. System tracs sedimentology in the lagoon of Myatte associated with holocene transgression. Sediment. Geol. 160, 57–79.

Chapitre 2

2-Une analyse multi-échelle de la sélection de l'habitat chez deux mégachiroptères sympatriques révèle le besoin urgent d'une stratégie de conservation



Pteropus seychellensis comorensis

Ouzini Anjouan-Comores

Photo: © Mohamed-Thani

A habitat suitability analysis at multi-spatial scale of two sympatric flying fox species reveals the urgent need for conservation action

Mohamed Thani IBOUROI, Ali CHEHA, Guillelme ASTRUC, Said Ali Ousseni DHURHAM and Aurélien BESNARD

Article en révision à ***Biodiversity and Conservation***

Contexte

La mise en place d'une politique de gestion et de conservation de la diversité biologique nécessite une bonne compréhension de la nature des différentes interactions qui existent entre les peuplements animaux et leurs habitats naturels pour mieux appréhender les processus écologiques déterminant leurs distributions ainsi que leurs réponses face aux perturbations des habitats. En ce sens, les informations sur la distribution géographique et l'utilisation de l'espace par les individus seront extrêmement importantes pour identifier les facteurs impactant la sélection d'habitats et les tailles des populations et ainsi proposer des mesures adaptées à leur conservation.

Pteropus livingstonii et *Pteropus seychellensis comorensis* sont deux taxons de mégachiroptères endémiques des Comores et hautement menacés par une perte alarmante d'habitats naturels estimée à 9,3% par an. Ces deux espèces sont connues pour leur grande importance dans la pollinisation des plantes et dans la dispersion des graines. Cependant leurs différences dans leurs modes de dispersion, dans leurs déplacements et dans leurs écologies alimentaires amènent les deux espèces à jouer des rôles différents mais complémentaires dans la régénération des habitats et dans l'équilibre dynamique des écosystèmes. L'étude de leurs distributions spatiales, de leurs exigences en termes d'utilisations de l'espace est de ce fait nécessaire pour la mise en place de stratégies de conservation efficaces.

Ce chapitre présente les résultats d'une étude multi-échelle de la niche écologique des deux espèces de mégachiroptères et de leurs distributions potentielles. A large échelle au niveau des îles, j'ai évalué pour les deux espèces leurs aires de distribution ainsi que l'effet des différents facteurs éco-topographiques ou anthropiques sur cette distribution géographique. J'ai ensuite caractérisé finement, à l'échelle de quelques hectares, l'utilisation des habitats notamment pour clarifier les relations entre gîtes, éco-variables et le nombre d'individus observés. J'ai enfin estimé les effectifs minimum pour les deux espèces.

Matériels et Méthodes

A l'échelle des trois îles de l'Union des Comores, j'ai modélisé la probabilité de distribution des deux espèces en combinant des données de présences des animaux collectées dans différents types d'habitats (forêts naturelles, forêts dégradées, zones de plantations …) avec (1) des co-variables écologiques telles que la distance à la forêt naturelle, à la rivière, à la route, aux villages etc. et (2) topographiques telles que la pente et l'altitude. Cette modélisation est réalisée en utilisant la méthode de « *Species Distribution Modeling »* plus précisément la méthode de « *Ensemble of Small Models* » (ESMs par la suite), une approche particulièrement adaptée aux espèces rares. A une échelle plus fine (au niveau de quadras de 25m et des dortoirs), j'ai utilisé des « *Ecological Niche Factor Analysais ou ENFA* » mais aussi des modèles de régressions linéaires pour modéliser l'effet de certaines co-variables écologiques sur la sélection d'habitats et des dortoirs.

Résultats principaux

Les résultats obtenus à partir des ESMs montrent une claire discrimination de l'utilisation de l'espace par les deux espèces avec une distribution très restreinte située dans les forêts naturelles de hautes altitudes, dans les zones avec pentes raides, et tout près des rivières pour *P. livingstonii.* Pour *P. s. comorensis,* nous avons évalué une large distribution dans les zones à basses altitudes, dans les zones de plantations et villages. *Pteropus livingstonii* présente une aire de distribution de 159 km² dans les deux îles (Anjouan et Mohéli) et une taille de population faible estimé à 1300 individus. Quant à *P. s. comorensis*, son aire de répartition est de 620 km² dans les trois îles (Anjouan, Mohéli et Grande Comore) et la taille de sa population totaliserait plusieurs milliers d'individus (10.000 à 20.000 individus rien que sur les zones que j'ai étudiées).

La distribution géographique des deux espèces semble largement dépendre de la distribution des ressources alimentaires qu'elles exploitent ; des ressources très restreintes en forêt naturelle et constituées par des plantes endémiques pour *P. livingstonii* et au contraire, largement distribuées dans les zones de plantations et villages et constituées de plantes fruitières essentiellement cultivées par les humains pour *P. s. comorensis*.

P. livingstonii semble être l'espèce la plus menacée à relativement court terme du fait de son aire de distribution restreinte et de sa petite taille de population. Cependant, sa localisation en forêts de hautes altitudes dans des pentes raides souvent inaccessibles aux humains limite les menaces directes comme la destruction des dortoirs et à la chasse. Quant à *P. s. comorensis*, son adaptation aux habitats anthropisés la rende sujet à des dangers plus immédiats comme la destruction de ses dortoirs pour l'usage du bois mais aussi du fait que l'espèce subit une pression de chasse importante. Du fait de la vitesse alarmante de la perte des habitats naturels aux Comores et de l'importance de ces espèces dans la régénération des forêts naturelles et des plantes fruitières, les deux espèces et leurs habitats doivent être une priorité en matière de conservation.

A habitat suitability analysis at multi-spatial scale of two sympatric flying fox species reveals the urgent need for conservation action

Mohamed Thani IBOUROI[1,2], Ali CHEHA[3], Guillelme ASTRUC[1], Said Ali Ousseni DHURHAM [5] and Aurélien BESNARD[1]

1-EPHE, PSL Research University, CNRS, UM, SupAgro, IRD, INRA, UMR 5175 CEFE, F-34293 Montpellier, FRANCE

2-Institut des Sciences et Industrie du Vivant et de l'environnement, AgroParisTech, 19 Avenue de Maine 75015 Paris, France

3-Centre National de Documentation et de la Recherche Scientifique (CNDRS), Moroni, Comoros

5-Département de Biologie Animale et Ecologie, Faculté des Sciences, Université de Mahajanga, Campus Universitaire d'Ambondrona, BP 652, Mahajanga, Madagascar

1-ABSTRACT

In this study, we used a multi-spatial scale approach to investigate habitat suitability, roosting characteristics, and ecological niche in two flying fox species on the Comoros Islands *Pteropus livingstonii* and *P. seychellensis comorensis*. At a broad scale, we assessed the ecological niche and habitat suitability for both species using the Species Distribution Modeling method based on the recent Ensembles of Small Models (ESM) approach. At a fine scale, Ecological Niche Factor Analysis (ENFA) was applied to assess habitat selection by each species. Direct observation was used at each roost to estimate the total number of individuals and to identify the roost characteristics. At both broad and fine scales, the analyses highlighted clear niche partitioning by the two species. We found that *P. livingstonii* has a very limited distribution, restricted to steep, high-elevation slopes of the islands' remaining natural forests, while *P.s. comorensis* has a relatively large geographic range that extends over low-elevation farmlands and villages. Both species selected large, tall trees for roosting. The total number of individuals in the studied area was estimated to be 1367 *P. livingstonii* and 13,342 *P s. comorensis*. The results of our study demonstrated that these two species use different habitat types and ensure different ecosystem services in pollination and seed dispersion and thus are both critical for maintaining overall ecosystem dynamics. However, the currently high level of hunting pressure and roost disturbance makes them vulnerable to extinction. To ensure the viability of both species, conservation measures need to be taken by the Comoros government.

Keywords: Comoros Islands, habitat loss, Species Distribution Modeling, Ensembles of Small Models, anthropized habitats, ecosystem services.

Corresponding author: halibathani@yahoo.fr

2- INTRODUCTION

Many ecosystem services provided by wild animals are fundamental to human societies due to their ecological and economic importance in the effective functioning of agriculture or natural forests (Giannini et al. 2012; Zhao et al. 2016). Certain animals, such as flies and dragonflies, are notably considered as natural pest regulators as they predate plant parasites (Stack et al. 2016). Through predation, these species contribute to limiting plant disease and crop damage and are thus of major importance to human well-being (Dicks et al. 2016). Many nectarivore species, such as bees and other insects that feed on pollen and flowers, equally contribute to the local and global economy by providing services for cultivated plants (Giannini et al. 2012). For example, Kluser et al. (2010) have shown that 90% of the 100 most cultivated plants consumed by humans are pollinated by animals, and 70% of these by bees. Natural forests also depend on animals, especially those that feed on fruit and pollen, such as birds and mammals. These species favor the dispersion of pollen and seeds, contributing to maintaining the structure of natural vegetation, genetic connectivity, and ecosystem regulation (McConkey et al. 2012). Today, ecosystems on a global scale are subject to human alteration caused by the conversion of natural ecosystems to agricultural land (Jantz et al. 2015). This change in land use combined with hunting and poaching have led to a dramatic decline of animals in the affected areas (Ripple et al. 2016). This species loss in turn has an impact on ecosystem functioning.

Fruit bats are among the most important ecosystem service providers in the animal kingdom (Abedi-lartey et al. 2016). As pollinators and seed dispersers, they contribute significantly to the regeneration, reproduction and dispersion of plants, and thus have a major impact on ecosystem dynamics (Giannini et al. 2012). Of the fruit bats, the genus *Pteropus*, also known as the flying fox, includes 62 species, which are considered keystone species for tropical forest functioning (Kunz et al. 2011). For example, Kunz et al. (2011) reported that at least 549 plant species from 191 genera in 62 families are dispersed by fruit bats in neo-tropical areas; of these, 139 genera from 58 families are dispersed by flying foxes. Due to their long-distance movements from roosting to feeding sites, their large bodies, and the fact they live in large colonies, flying foxes can disperse a large number of seeds over large distances, thus ensuring connectivity between fragmented forest areas (Voigt and Kingston 2015; Abedi-lartey et al. 2016). Moreover, flying fox species pollinate

and disperse seeds of several plant species that have high economic or medicinal value: for example, *Tamarindus indica* and *Adansonia sp.* (Friday et al. 2011; Kaboré et al. 2011). Voigt and Kingston (2015) report that flying fox species disperse at least 289 species of plants, of which 186 provide direct economic benefit to humans (McConkey and Drake 2006).

Flying foxes are relatively diverse in their ecology, distribution and feeding behavior. Some are well adapted to anthropized landscapes, feeding on crops or plantations and roosting near villages. These species provide services to humans by their actions on cultivated plants (McConkey et al. 2012). Other species depend on natural forests and contribute to the maintenance of these (Majumdar et al. 2016; Roberts et al. 2016). The complementary actions of different flying fox species on ecosystem functioning (including anthropized ecosystems) is an argument in favor of conserving their diversity in order to promote global ecosystem regulation (McConkey and Drake 2006; Ancillotto et al. 2014). However, like several other tropical and sub-tropical animal species of relatively large size, they are highly threatened by habitat degradation especially deforestation and fragmentation as well as hunting (Ancillotto et al. 2014).

Pteropus livingstonii and *P. s. comorensis* are two bat species endemic to the Comoros Islands (Goodman et al. 2010). These two species can coexist in some of their roosting and feeding sites, but seem to differ in their ecology, diet and reproductive behavior (Trewhella et al. 2001). *P. livingstonii* is confined to the remaining mountain forests of the Anjouan and Mohéli Islands, while *P. s. comorensis* is widely distributed over all four islands of Comoros, as well as Mafia Island (Cheke 2011). Both species are threatened by habitat loss on these islands (Daniel et al. 2016). Their habitats face intense anthropogenic pressures and are subject to the highest deforestation rate in the world, with an estimated rate of forest loss of 9.3% per year (Daniel et al. 2016). *P. livingstonii* is classified as critically endangered on the IUCN Red List (International Union for the Conservation of Nature, Sewall et al. 2016). This is due to its small population (estimated at 1200 individuals) and small range (estimated at 113.6 km²) (Daniel et al. 2016). *P. s. comorensis* is listed as a 'Least Concern' species due to its wide distribution (Mickleburgh et al. 2008). The large body size of both bat species and the fact they live in large colonies means they are able to disperse a large quantity of seeds over wide areas (Hernández-Montero et al. 2015; Razafindratsima 2014), thus having a potentially crucial impact both on forest regeneration and the cultivation of plants. Yet despite their importance in ecosystem functioning in the Comoros,

their ecology and, especially, their habitat requirements at different spatial scales are poorly known. Such knowledge is essential in order to establish relevant conservation plans.

The aim of this study was to identify the habitat requirements of these two flying fox species at two spatial scales. At a broad scale, we assessed the ecological niche and habitat suitability of both species using Species Distribution Modeling (SDM) based on the recent Ensembles of Small Models (ESM) approach, which is particularly adapted to rare and localized species (Breiner et al. 2015). At a local scale, we investigated each species' habitat selection in terms of roosting characteristics. Finally, we used this information to identify the pressures on these two species and to propose actions crucially needed for their conservation.

3- MATERIALS AND METHODS

3.1- Study area

The Comoros archipelago is located in the Indian Ocean, midway between Madagascar and the eastern coast of Africa. This archipelago comprises four islands: Grande Comore, Mohéli, Anjouan (these three islands make up the Union of the Comoros), and Mayotte (an overseas department of France). Each of the islands is separated by a mean distance of about 60 km. Since their emergence some 8 million years ago, the islands have never been connected to a continental mainland nor to each other (Goodman et al. 2010). Due to their volcanic origin, these islands have considerable topographic variation (Michon 2016). Our study focused only on the three islands of the Union of the Comoros.

3.2- Data collection

Fieldwork took place from November 2014 to April 2015 and from January to April 2016. The sites were first chosen by habitat type based on satellite mapping, according to the literature on bat localization (Trewhella et al. 2001; Granek 2002), as well as on information obtained during inteviews with local people. At each chosen site, the presence or absence of both species were recorded along trails, roads and line transects in different types of habitats, including degraded vegetation, dense forest, and near villages. The prospection took place during the daytime, as well as some opportunistic nocturnal prospection. Data collection was carried out along trails and roads in open areas, while in dense vegetation, line transects 1–2 km in length were cleared out by our team. The starting

point of a transect was randomly determined, and the line followed the altitudinal gradient from the forest edge to the interior. Each trail, road and line transect was traveled by 3–4 observers to collect presence and absence data. When flying foxes were observed, a plot with a 25-m radius was delineated around the tree hosting the bats, and the geographic location was recorded using a Global Positioning System (GPS). These locations were considered as occurrence (or presence) data. During the surveys, we also delineated a 25-m plot midway along the distance traveled during a 30-minute prospection period since the last flying fox had been observed. This was considered an absence point. Habitat characteristics such as forest type (natural or degraded), density of trees, canopy height, canopy openness, and intensity of tree cutting were recorded for each plot. Tree density was considered as the number of trees with a diameter at breast height (dbh) of more than 15 cm. Intensity of tree cutting was estimated by counting the number of trees cut in each plot. Tree height and dbh were recorded for each tree that hosted bats. Tree height and the percentage of canopy openness were visually estimated by four people (two experienced researchers from our team and one or two local guides) and the mean value was recorded. The dbh of each tree was measured using a tape measure. The vernacular name of the roosting tree species was provided by the local guides and confirmed by our local assistant. The scientific names of the plants were later identified from their vernacular names in the University of Comoros herbarium laboratory.

3.2.1-Roosting counts

We counted individuals using binoculars at a distance of 20–100 m from each roosting tree. These counts were carried out from 9:00–12:00 a.m., a period during which flying foxes are inactive (Trewhella et al. 2001). Each member of the team performed multiple counts, and the final population estimate was the average number of individuals given by the four observers. Following the Utzurrum count method (Utzurrum et al. 2003), we increased the total count by 10% to take account of animals hidden from sight by foliage.

3.2.2-Ecological niche modeling at a broad scale

We used ecological and topographic predictors with presence-only data to perform SDM at a broad scale. Predictors were selected based on our own knowledge of the ecology of these species, on the literature (Trewhella et al. 2001; Sewall et al. 2011), and on

interviews conducted with the local population. We considered nine variables (seven ecological and two topographic variables). As Grande Comore and the other two studied islands are very different in terms of ecological and topographic contexts, we built separate models for Grande Comore and for the Anjouan-Mohéli group of islands. The selected variables were elevation and slope, and distance from intact natural forest, degraded vegetation, a cultivated area, the nearest village, the nearest roads, basaltic rock (Grande Comore only) and permanent or temporary rivers (Anjouan and Mohéli only). Ecological and anthropogenic variables were extracted from a georeferenced general layer map developed by Hawlitschek et al. (2011) resampled to a 25m pixel resolution using ArcGIS software. The elevation and slope were extracted from 90m digital elevation model data from the NASA Shuttle Topographic Mission (SRTM; US Geographical Survey 2004) also resampled to a 25m pixel resolution. We performed a first analysis using all the records for each species, and a second analysis using only the locations of roosting sites for *P. livingstonii* in order to evaluate the habitat requirements of this species in terms of roosts at a broad scale. This latter analysis was performed only for *P. livingstonii* because roosting sites for this species are clearly separated from its feeding sites, unlike *P. s. comorensis*.

3.3-Statistical analysis

Species Distribution Modeling using Ensemble of Small Models

As *P. livingstonii* is a rare and elusive species and its number of known roosting sites is low (21 roosting sites: Daniel et al. 2016), the occurrence data for this species was very low. The combination of limited occurrence data and a large number of predictors (here, 9) in SDM can lead to model overfitting (Breiner et al. 2015). To work around these limitations, some researchers reduce the number of predictors by removing certain variables from the analysis (usually those most correlated), but this can lead to loss of information. To overcome this difficulty, we used the recent method of Ensembles of Small Models (ESMs) (Breiner et al. 2015). This approach consists of fitting all potential bivariate models (28 in our case) and then averaging them using weights based on model performance (Breiner et al. 2015). We used Generalized Linear Models (GLMs) with binomial distribution and a logit link to build our SDMs (Guisan and Edwards 2002). GLM is well established for modeling species distribution and evaluating ecological niche and has been widely implemented with presence and absence data as well as with presence-only data in the context of SDM (Crawford and

Hoagland 2010; Guisan and Edwards 2002). As accurate absence data was not available to build such a model in our case, a collection of pseudo-absences was sampled to fit the model (Barbet-Massin et al. 2012). According to Barbet-Massin et al. (2012), models fitted with a large number of randomly sampled pseudo-absences produced the most accurately predicted distribution. In our study, we randomly sampled 2000 pseudo-absences from the study area to fit our model, apart from the SDM for roosting Livingstone's fruit bats. For this latter case, 1000 pseudo-absence points were randomly sampled in the area to fit the ESMs due to the small amount of occurrence data (N=24). We then considered 80% of the data to run the model and 20% for the model evaluation. We ran the model using 100 repetitions of random pseudo-absence selection (Guisan and Thuiller 2005). The model's predictive performance was assessed using the area under the curve (AUC) of the receiver operating characteristic (ROC) (Phillips et al. 2006). These indices evaluate the ability of the model to differentiate between sites where a species is present and those where it is absent. Models with an AUC value close to 1 are considered perfect predictors of the observed data, while models with a value around 0.8 are considered good predictors (Elith et al. 2006). We also examined sensitivity (true positives) and specificity (false negatives) to evaluate model performance and accuracy. To estimate the surface area of suitable habitats for the two species and their niche overlap, the continuous maps of species distribution generated by our ESMs were converted into binary maps (suitable/unsuitable) using threshold values obtained using the higher true skill statistic approach (HTSS) as recommended by Liu (Liu et al. 2013).

To model habitat selection at plot scale, we performed an Ecological Niche Factor Analysis (ENFA), a method based on the Hutchinson niche theory (1957) and defining the ecological niche of a species as a hypervolume in the multidimensional space of environmental variables in which the species is able to maintain a viable population (Basille et al. 2008). These analyses quantify marginality and specialization, allowing the comparison of realized niches within the available environmental conditions (Hirzel et al. 2002). More specifically, marginality describes the difference between a species' habitat use and the average environmental conditions in the study area, while specialization measures the narrowness of the niche (Basile et al. 2008). The ENFA were performed using a set of four landscape metrics: canopy height, canopy openness, tree density and tree cutting. A permutation test (with 1000 permutations) was performed for marginality to test for its

significance. In addition to ENFA, we performed a Spearman's rank test to test the correlation between the number of fruit bats and both dbh and tree height at the scale of a dormitory. Statistical tests were considered significant when the p-value was < 0.05. All analyses were conducted using Environmental R 3.3.2 (R Development Core Team, 2016) with the Ecospat package (Broennimann et al., 2016) and Biomod2 package (Thuiller et al. 2016) for SDM at the broad scale, and the ade4 and adehabitat packages (Calenge et al. 2015) at the plot scale.

4- RESULTS

4.1- *Pteropus s. comorensis*

The number of individuals ranged between 11 and 749 per colony, with an average of 184 individuals per colony. In total, we observed 12,129 individuals (13,342 according to Utzurrum count) at 66 different sites on the three islands (Grande Comore, Anjouan and Mohéli, Table 1).

A total of 77 occurrences were recorded on Grande Comore. On this island, the model's AUC averaged to 0.87±0.03, suggesting a good ability of the model to differentiate between species presence and absence. On the Anjouan-Mohéli group, 93 occurrences were recorded. On these islands, a moderate AUC value averaged to 0.64±0.05 was obtained for this species. Sensitivity was high for the two models (sensitivity = 088±0.07 for Grande Comore and 084±0.07 for the Anjouan-Mohéli group), whereas specificity was high on Grande Comore (0.79 ±0.01), but low for Anjouan-Mohéli (0.45 ±0.02).

Based on the SDMs and response curves, the results indicated that the optimal habitat for this species is areas close to villages and roads, near degraded forests and plantations. This pattern was the same for Grande Comore and Anjouan-Mohéli islands (Fig 1). According to response curves, this species avoids primary and mountain forests. On Grande Comore, the predicted suitable area for *P. s. comorensis* is a narrow continuous band close to the coast, extending from southern to northern regions (Fig 4). This suitable area is estimated to cover 206 km², encompassing different types of habitats that include degraded land, cultivated areas, and villages. For the Anjouan-Mohéli group, the suitable area for this species covers the entire lowlands, including all villages, agricultural areas, and degraded vegetation. The surface area is estimated to cover 420 km².

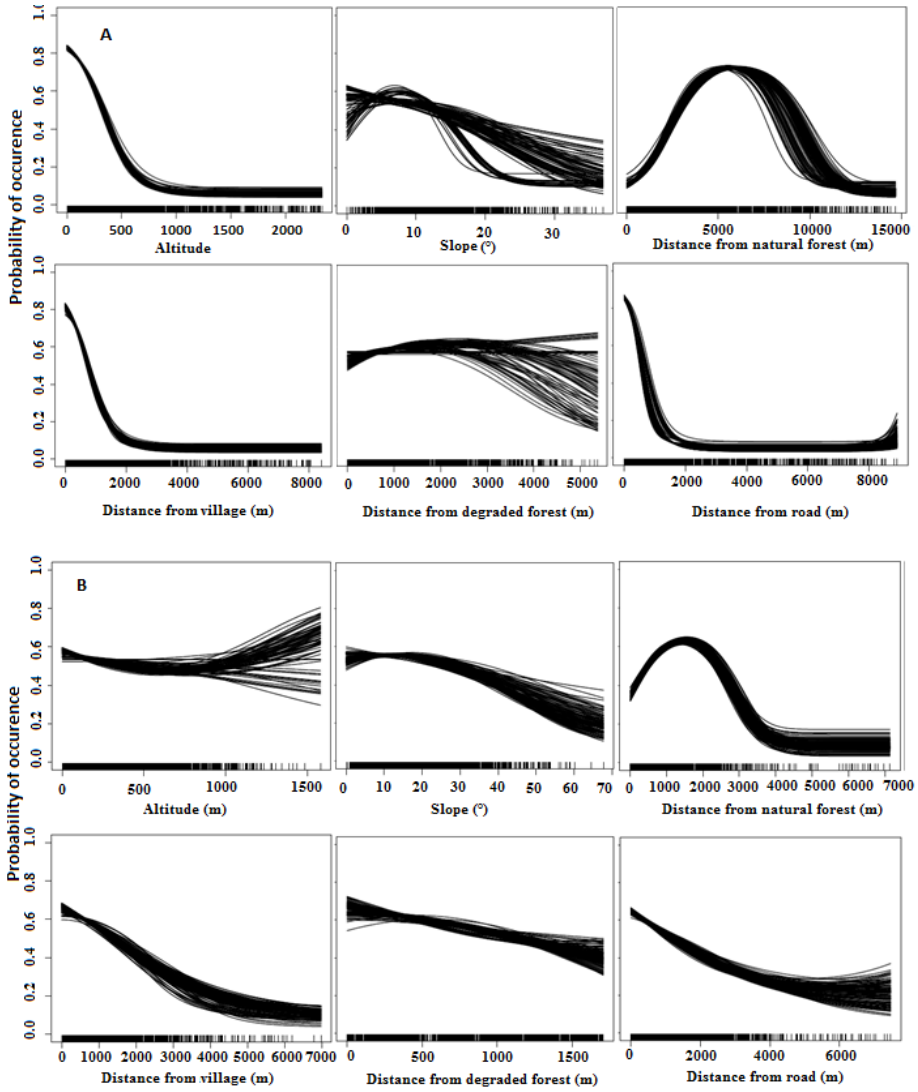


Fig 1: Relationship between the occurrence probability of *P.s.comorensis* and ecological and topographic predictors according to the Ensembles of Small Models (ESM) approach: A – Grande Comore Island, B – Anjouan-Mohéli Islands

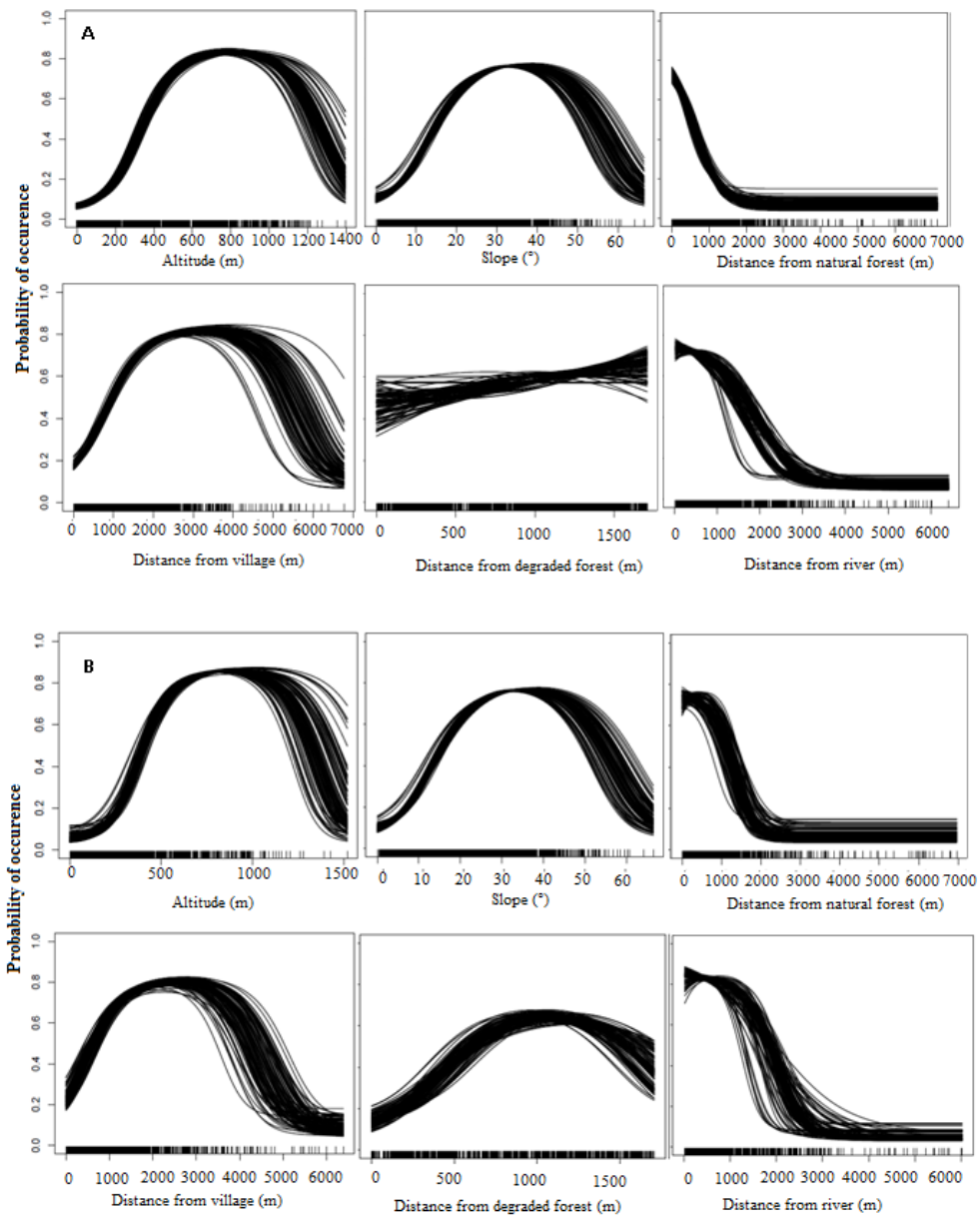


Fig 2: Relationship between the occurrence probability of *P.livingstonii* and the ecological and topographic predictors according to the Ensembles of Small Models (ESM) approach: A – the entire dataset, B – roosting sites only

The permutation test for marginality in the ENFA model was significant ($p < 0.01$). However, both marginality and specialization were relatively low (0.16 and 1.9 respectively), and the species was found to occupy a large part of the available habitat (Fig 5). Tree density, tree cutting and canopy height represented the most explanatory predictors for the two axes of the ENFA. Tree cutting and tree density were positively correlated to the marginality axis (correlation coefficient of marginality: $r= 0.60$ for tree cutting; $r=0.69$ for tree density). Canopy height was positively correlated to the specialization axis (correlation coefficient of specialization: $r=0.90$), indicating that this species preferentially selects habitat with a high canopy.

We recorded 21 different plant species used as roosts by *P. s. comorensis* (Table S1). The number of individuals at a roosting site was correlated to both plant height and dbh (Spearman correlation test: $S = 19948$, $p < 0.01$ for plant height and $S = 1628000$, $p <0.001$ for dbh), indicating that *P. s. comorensis* preferentially roosts on large, tall trees (mean occupied tree height = 23.98±6.4 m and mean dbh = 86.46± 49.48 cm).

Table 1: Number of *P.livingstonii* and *P.s.comorensis* individuals per site and per island.

Roost sites	***P.livingstonii* counts**	***P.s.comorensis* counts**
Ada	23	--
Bazimini	64	--
Dindri	4	33
Hombo	105	--
Kanagani	15	366
Kanagani2	6	
Kowé	63	--
Limbi	27	17
Lingoni	104	
Mpagé	108	--
Mromaji	44	231
Moya	82	
Outsa	8	69
Ouzini	81	128
Salamani1	29	52
Salamani2	3	--
Hakidogo	103	20
Haserandrengé	349	--
Nioumachouwa	25	--
Ajoho	--	11
Bambao mtsanga	--	40
Bimbini	--	126
Chaweni	--	2
Djimlime	--	71
Domoni	--	159
GG	--	37
Mahale	--	69
Mremani	--	39
Mromaji	--	231
Mutsamudu	--	249
Nyatranga	--	202
Ongojou	--	48
Ongoni	--	239
Sima	--	157
Bandamadji	--	110
Bangwa	--	88
Chezani	--	78
Djomani_Chamlé	--	731
Fassi	--	52
Foumboudzivouni	--	162
Itsandra	--	124

Itsandzeni	--	40
Itsinkoudi	--	98
Itsoundzou	--	134
LaGrille	--	70
Madjoma	--	98
Mbeni	--	270
Mboude-Dimani	--	185
Mde	--	156
Mdjoiyezi	--	437
Midjendjeni	--	742
Mitsamihouli	--	80
Mohoro	--	162
Moindzaza	--	355
Moroni	--	364
Mtsangadjou	--	48
Nioumadzaha	--	503
Nioumadzaha 2	--	670
Ntsaoueni	--	629
Pidjani	--	72
Sada	--	249
Sadani-Oichili	--	103
Salimani-Hambou	--	109
Sidjouwou	--	121
Barakani	--	162
Boingoma	--	79
Damou	--	690
Djando	--	185
Djoyezi	--	79
Fomboni	--	108
Hamba	--	148
Howani	--	199
Miringoni	--	81
Moihani	--	37
Ndremeani	--	115
Ndrondroni	--	232
Nioumachouwa	--	152
Wallah	--	375
Wanani	--	82
Total count on Anjouan	766	2345
Total count on Grande Comore	--	7040
Total count on Mohéli	477	2744
Overall total	1243	12129

4.2- *Pteropus livingstonii*

The colonies of *P. livingstonii* ranged between 3 and 349 individuals, with an average of 65 individuals per colony. We observed a total of 1243 individuals (1367 according to Utzurrum count) during our field surveys of 19 sites (Table 1). For this species, we recorded a total of 54 occurrences on the Anjouan-Mohéli islands (the full dataset) and 24 occurrences of roosting sites. For this species, SDM performance had an average AUC value of 0.85±0.03, indicating good model performance when all data was modeled. Regarding the roosting sites only, the model had an average AUC value of 0.84±0.05. Sensitivity and specificity showed high values both for all data (mean sensitivity = 0.94±0.05; mean specificity = 0.74±0.02) and for roosting site data only (mean sensitivity = 0.98±0.01; mean specificity = 0.70±0.03). Response curves for the roosting site only and the entire occurrence dataset showed similar patterns (Fig 2). Detailed examination of the response curves revealed that the most suitable habitats for *P. livingstonii* are found in natural forests, on steep slopes ranging from 30 to 50°, at altitudes ranging from 500 to 1100 m above sea level, and in proximity to a river (Fig 2).

The predicted suitable habitat area for Livingstone's fruit bats was restricted to the central regions of Anjouan and Mohéli Islands, i.e. primary, mountainous forests, with a total surface area estimated at 159 km². On Anjouan Island, this area included all remaining primary forests, some degraded forests in the northern region of Nioumakelé (including Adda and Ouzini forests, and the forest of the eastern part of Limbi), the forest located in the northern region of Moya (Moya, Nindri-Kowe and Lingoni forests) as well as the forest of Mpage and Mdjimandra. A few small areas of high suitability were predicted in the northern part of the island, including the forest located near Gnantranga village, although *P. livingstonii* has never been reported in this area. On Mohéli Island, the predicted suitable area for this species was restricted to the primary forest and some degraded forests of Mledjelé in the central part of the island. This area includes the forest located north of Miringoni village in the west of the island, and the forest located west of Siri-Ziroudani village in the east of the island (Fig 3). Due to the large difference in ecological niche and habitat requirements of the two bat species, their suitable area overlaps by only 7.40 km².

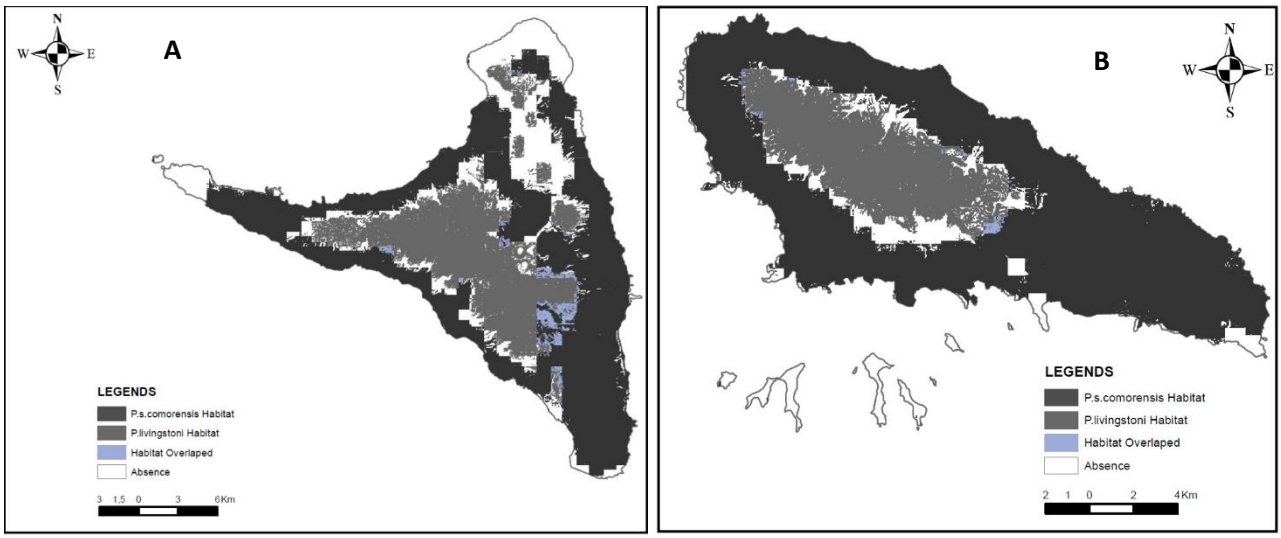


Fig 3: Predicted suitable habitat for *P.livingstonii* and *P. s. comorensis* on Anjouan (A) and Mohéli (B) Islands

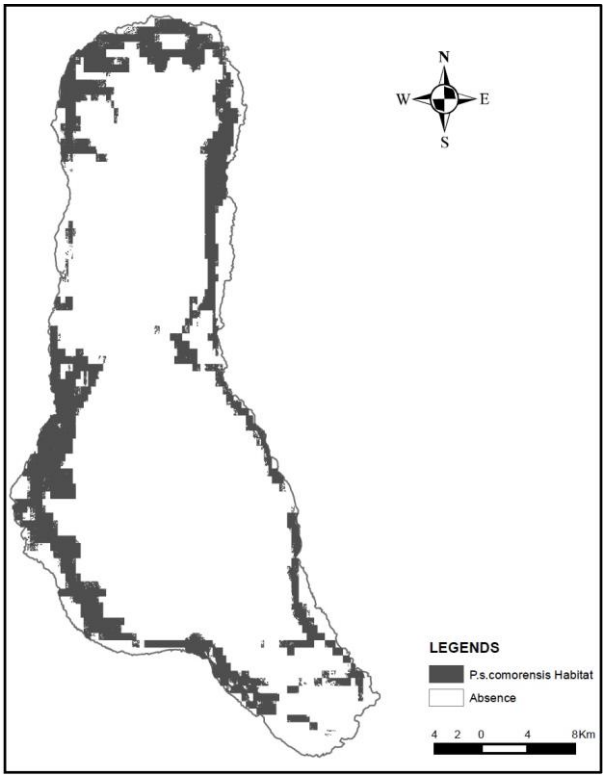


Fig 4: Predicted suitable habitat for *P. s. comorensis* on Grande Comore Island

The permutation test for marginality in the ENFA was highly significant ($p < 0.001$). Overall, marginality was quite low, but specialization was high (0.26 and 3.97 respectively). Of the four landscape metrics used to evaluate potential distribution, two variables contributed most to marginality and specialization: canopy openness and tree density (Fig 5). Canopy openness was negatively correlated to the marginality axis ($r=-0.81$), while tree density was positively correlated to the first eigenvalue of specialization ($r=0.87$). The distribution of *P. livingstonii* was thus found to be relatively limited to areas with high tree density and closed forest cover.

We recorded 15 different tree species used by *P. livingstonii* for roosting (Table S2). Tthe number of individuals per roosting site was highly correlated to tree height (Spearman correlation test, $S = 19948$, $p < 0.01$ and $S = 1765800$, $p <0.001$), indicating that this species roosts preferentially on tall trees. No evidence of correlation between number of bats and tree dbh was observed (Spearman correlation test, $S = 25640$, $p = 0.21$).

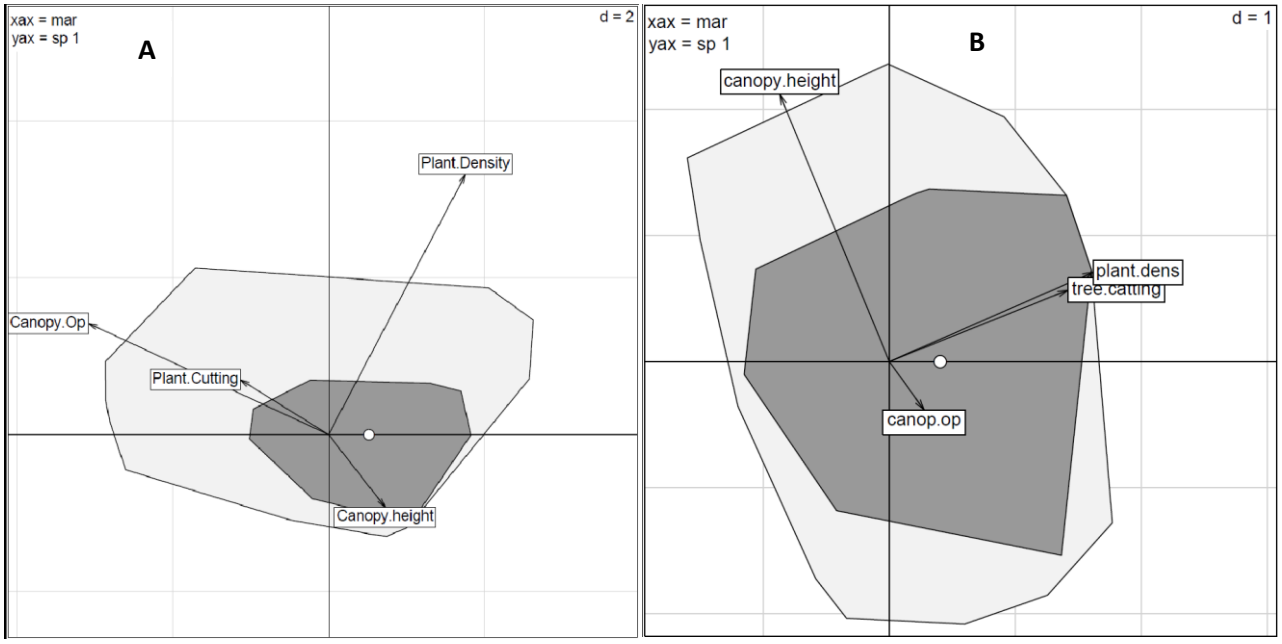


Fig 5: Biplots of the Ecological Niche Factor Analyses (ENFA) showing potential distribution and the available area for *P.livingstonii* (A) and *P.s.comorensis* (B). The correlation between each ecological predictor and marginality and the first specialization axis are presented in the graph (Canopy.Op = canopy openness).

6- DISCUSSION

6.1- Pteropus s. comorensis

A number of studies have suggested that habitats dominated by intensive agriculture within urban areas are used by many fruit bat species. For instance, *P. rufus* in Madagascar and *P. giganteus* and *Cynopterus sphinx* in northern India use habitats dominated by intensive agriculture within open urban areas (Majumdar et al. 2016; Roberts et al. 2016). This also seems to be the case for *P. s. comorensis*. Indeed, our SDM analysis at a broad scale suggested a distribution strongly correlated to degraded forests, low elevations, and proximity to villages and roads. In addition, according to our ENFA at a fine scale, this species is relatively generalist in terms of use of vegetation cover. This may be explained by the fact that it feeds on a large diversity of plants (38 plant species) distributed over different types of habitats, including degraded forests, areas near villages and – principally – grasslands and plantations (Trewhella et al. 2001). Our results confirm that this species uses a wide range of roosting plants (21 plant species), and that these plants are located in different types of habitats, including farmland. We found that *Ceiba pentandra*, *Pterocarpus indicus* and *Albizia sp.* were the plants most used by *P. s. comorensis* colonies for roosting (Table S1). These species are commonly found on agricultural land and in open areas.

We counted 12,129 *P. s. comorensis* in the three studied islands of Comoros. Increasing the total count at each roost by 10% according to Utzurrum et al. (2003), we estimated a total of 13,342 individuals of this species. These results represent the first individual counting of the *P. s. comorensis* in Comoros to date. However, as the goal of our study was not to collect data regarding population size, but rather to collect presence–absence data for SDM modeling, we used a spatial sampling strategy that cannot be considered robust in terms of obtaining an unbiased estimation of population size. First, we did not systematically sample the islands. As this species has a relatively large distribution on the three islands, some colonies could have been missed. The method we adopted (consisting of visiting all the villages and interviewing the inhabitants) should allow a fairly accurate picture of major roosts, but we cannot exclude that some relatively small roosts might have been missed. Second, due to logistical constraints, it was not possible to conduct simultaneous counts at the island scale. Since bats can move between colonies, this could

have led to double counts or to the underestimation of some roosts. Third, given that these bats live in large colonies (of up to 700 individuals in our counts), some individuals might have been missed during the roosting counts even though these were performed by 3–4 people and were then corrected according to Utzurrum's method. The roosting count in this study therefore probably does not reflect the true abundance of the species, but rather the minimum population. It could, however, provide the basis for future monitoring of this species. Specific surveys such as a bat census on 1km x 1km randomly selected grids would be necessary to obtain reliable population data for the species.

The colonies of *P. s. comorensis* roosted in tall, old trees, probably because these can hold a large number of individuals and also because they better allow the bats to avoid human hunters. Yet a roosting preference for large, tall trees makes the species highly vulnerable as such plants are regularly cut down both in forests and near villages. For example, on Anjouan Island, the kapok trees (*Ceiba pentandra*) that hosted large numbers of *P. s. comorensis* in our counts experienced extensive felling between 1990 and 2000 for economic and political reasons, leading to a sharp decrease in abundance of *P. s. comorensis*. Traditionally, fruit bat species were protected by cultural taboos and were therefore not hunted by the local population. Yet according to our interviews with inhabitants (unpublished results), *P. s. comorensis* is currently hunted and eaten by villagers. These findings highlight that despite its relatively high abundance and large potential distribution range (600 km² according to our results), the viability of this species strongly depends on human practices that can rapidly evolve, thus its viability is not guaranteed. The fact that this species occupies habitats close to humans and largely depends on anthropized habitats makes it particularly vulnerable to the risk of extinction due to regular hunting and roost disturbance through tree cutting. Currently, it is classified as a species of Least Concern (LC) in the IUCN Red List; however, we feel that a conservation campaign is urgently needed to secure its population viability. The two key conservation measures would be for the government to prohibit or regulate tree cutting, especially of trees such as *C. pentandra, ficus sp*., etc. most used as flying fox roosts, as well as to regulate hunting of bats.

6.2- Pteropus livingstonii

P.livingstonii is a forest-dependent species restricted to the steep slopes of the remaining high-altitude forests on Anjouan and Mohéli Islands (Sewall et al. 2011).

Currently, colonies of this species are also found in some degraded habitats and agricultural lands located near these forests (Daniel et al. 2016). Our results based on SDM and ENFA confirm the strong relationship between this species and the steep slopes of high-elevation forests. Three main hypotheses could explain this restriction to the slopes of these forests: competition with *P. s. comorensis*, the species' flight morphology traits, and lastly, 'real' selection of these habitats.

According to some previous studies, the restriction of *P.livingstonii* to high-altitude forests might be the result of competition behavior with the *P.s.comorensis* (Carroll and Thorpe 1991; Trewhella et al. 2001), which is far more abundant. However, according to our results, the suitable habitat for the two species overlaps by only 7.4 km². Moreover, our findings show that although both species share certain plant species for roosting, much of roosting plants are specific to each species, limiting competition. According to Trewhella et al. (2001) and our interviews with local people (unpublished results), although the two species show some overlap of food resources, they largely feed on different plant species. So even if there is potential competition between the two species, it may not be strong enough to lead to the exclusion of *P. livingstonii* from low-elevation habitats.

Norberg et al. (Norberg et al. 2000) have mentioned that morphological traits of this species and its use of soaring flight might cause it to select steep slopes. Yet according to our interviews with the local population (unpublished results), this species was historically found near villages at low elevations when natural forests were still present. Moreover, no roosting sites for this species were found to be located on unforested slopes (Granek 2002). So this species' preference for slopes might be better explained by its selection of forest than by a selection for flight facility in relation to its flight morphology traits. Our SDM (at a broad spatial scale) suggests a strong relationship between the distribution of this species and natural forests. Additionally, according to our ENFA model (at plot scale), this species strongly selects habitats with a high plant density, while canopy openness is avoided. Together, these results suggest that *P. livingstonii* is highly specialized to a habitat with dense forest vegetation and avoids open areas. Moreover, according to Trewhella et al. (2001) and confirmed by our study, *P. livingstonii* uses a limited number of plant species for food and roosting (Table S2), and these are mostly restricted to the dense mid- and high-altitude evergreen rainforests of Comoros (Trewhella et al., 2001). This strong selection for natural forests could then indirectly explain the selection of slopes at altitude, since

undisturbed natural forests in Comoros are largely restricted to relatively high elevations and steep slopes as these areas are inaccessible for wood harvesting or agriculture.

Our roosting counts recorded a total of 1243 individuals for this species in 19 visited sites on two islands. Applying the count method of Utzurrum et al., this would represent 1367 individuals. In a recent paper, Daniel et al. (2016) suggested a total of 1260 individuals at 21 sites on the two islands for this species. Another previous roosting count conducted in 1998 at 15 sites for this species suggested a total number of individuals ranging between 1200 and 1500 (Granek 2002). Thus, all three studies provide a congruent total number of individuals. However, our population count resulted in some differences with the other two studies in terms of the number of individuals recorded at site scale. For instance, we estimated 349 and 104 individuals in the sites of Hasserandregé and Hakidogo respectively (wet season 2015) against 45 and 3 individuals in the study by Daniel et al. (dry season 2012), and 80 and 15 individuals in the study by Granek (wet season 1998) at the same sites. Due to field difficulties, we cannot rule out the possibility of errors in our counts as they were carried out mostly in the rain during the wet season and also because bats can be hidden by foliage. Secondly, seasonal fluctuation of individual attendance at sites, as shown by Granek (2002) and Daniel et al. (2016) can also generate count differences. Lastly, as our survey was carried out four years after that of Daniel et al. and 20 years after the study of Granek, individuals might have moved to different sites: for instance, because of food availability (Nelson et al. 2000) or disturbances to roosting sites (Voigt and Kingston 2015). These latter two hypotheses are the most plausible explanation as the counts at island scale are congruent between the three studies. However, this congruence does not imply that the population size is stable as the number of known roosts increased over this time period from 15 (Granek 2002) to 21 (Daniel et al. 2016, our own study) without any increase in the overall population size.

The abundance of Livingstone's fruit bats was correlated with tall trees. Populations of this species occupied trees with a mean height of 23.60±5.7 m and a mean dbh of 70±20.1 cm. As for *P.s.comorensis*, individuals of this species roosted preferentially on large trees, limiting potential disturbance by humans (Luszcz and Barclay 2015). Other advantages of large trees are that they are able to host a large number of bats and have the potential to exist for a long time (Voigt and Kingston 2015). The disadvantage is that large, tall trees are those most sought after for harvesting, construction and other uses.

The range of the Livingston's fruit bat was estimated to be 159 km² over the two islands of Anjouan and Mohéli (22% of the total surface area). This range consists largely of the remaining forests – natural or degraded. Unfortunately, with the exception of some sites on Mohéli Island that are currently managed by the Mohéli National Park, the remaining forests where *P. livingstonii* is found are highly disturbed by the local population, especially on Anjouan Island. The forests that remain on Anjouan still persist due to the fact that they are difficult for humans to access. Yet given that the rate of habitat loss on these islands (9.3% per year) is estimated to be the highest in the world, that the human population is increasing on Anjouan (6.5% per year), and that the human population density was estimated to reach 517 hab/km² by 2016, it can be assumed that the range of *P. livingstonii* will significantly decrease in the near future due to the high demand for land use and intensive tree exploitation if conservation measures are not set up urgently.

P.livingstonii has recently been reclassified with a status of 'critically endangered' on the IUCN Red List (Sewall et al. 2016). Although this species is nationally considered a high priority for conservation, this remains at the level of written statements, without any concrete action from the Comoros government (Ibouroi, pers. obs.). While some conservation initiatives, such as protecting specific roosting sites hosting large numbers of *P. livingstonii* in Anjouan have been deployed by local NGOs (Daniel et al. 2016), these are very localized. They are insufficient to ensure global conservation for this highly threatened species if they are not accompanied by strong national and political willingness at a larger scale. To maintain Comorian rainforests and the biodiversity they host, including flying foxes, a national conservation plan is urgently needed.

7- MANAGEMENT IMPLICATIONS

The two flying fox species in the Comoros archipelago use different types of habitat and thus ensure different ecosystem services. The two species are not interchangeable – each plays a specific role in ecosystem functioning that is critical in maintaining the overall ecosystem dynamics. *P. livingstonii* appears highly threatened in the relative short-term due to its low population abundance, its small spatial range, and the high rate of habitat loss in the Comoros. On the other hand, the population of this species is located on the steep slopes of high-altitude forests where access by humans is difficult. In addition, according to our interviews with the local population, this species is not hunted by Comorian people. In contrast, *P. s. comorensis* seems to be less threatened due to a high population abundance and large spatial distribution. Yet its dependence on anthropized habitats and the high rate of hunting pressure and roost disturbance by local people could rapidly change its situation depending on human demographics, agricultural practices, and the local economy. To ensure the viability of both species, conservation measures would need to be taken by the Comoros government. It should be noted that in the Comoros, there are no actively protected terrestrial areas. In 2016, the Comoros government inaugurated the first national park on the island of Mohéli and including the Mledjelé forest. However, on the island of Anjouan, where the majority of *P. livingstonii* population is located and where *P. s. comorensis* population abundance is low and faces high hunting and roost disturbance pressure, no protected areas have yet been established.

The conservation management initiatives we propose are to make the forest of Hasserandrengue and a 2-km zone around it a priority area inside the Mohéli National Park to ensure habitat and biodiversity viability on this island. On Anjouan Island, the forest fragment located north of the villages of Nindri, Kowe, Lingoni and Moya and the forest located northeast of the village of Bazimini and southeast of the village of Mpage should also become priority zones and included in the Protected Area System that is currently being established on the Union of the Comoros. These areas host almost the entire population of *P. livingstonii*, the majority of the population of the *P. s. comorensis* and the endemic fauna and flora they rely on. In addition to these protected areas, environmental education and outreach efforts should be carried out to provide local people living around forests basic knowledge about the importance of natural forests and biodiversity, including flying foxes.

Acknowledgments

We would like to thank the Comoros National Direction of Environment and Forests for the permission to conduct our fieldwork. A significant part of the fieldwork was funded by the Rufford Foundation through a Research Support Grant. We are also grateful to Frank Breiner and Cyril Bernard for their guidance in the Ensembles of Small Models and Geographic Information System methods respectively. We would also like to thank Ihsane Lahlou (from the Comorian NGO Dahari) for his assistance during the initial fieldwork, as well as everyone who assisted in the study: Andilyat Mohamed Abdérémane at the University of Comoros herbarium laboratory for his help determining the scientific names of plants, Ishaka Said and Jean Amed.

LITERATURE CITED

Abedi-lartey M, Dechmann DKN, Wikelski M, et al (2016) Long-distance seed dispersal by straw-coloured fruit bats varies by season and landscape. Glob Ecol Conserv 7:12–24. doi: 10.1016/j.gecco.2016.03.005

Ancillotto L, Cistrone L, Mosconi F, et al (2014) The importance of non-forest landscapes for the conservation of forest bats: lessons from barbastelles (Barbastella barbastellus). Biodivers Conserv 24:171–185. doi: 10.1007/s10531-014-0802-7

Bajocco S, Ceccarelli T, Smiraglia D, et al (2016) Modeling the ecological niche of long-term land use changes: The role of biophysical factors. Ecol Indic 60:231–236. doi: 10.1016/j.ecolind.2015.06.034

Barbet-Massin M, Jiguet F, Albert CH, Thuiller W (2012) Selecting pseudo-absences for species distribution models: How, where and how many? Methods Ecol Evol 3:327–338. doi: 10.1111/j.2041-210X.2011.00172.x

Basile M, Calenge C, Andersen R, Gaillard J-M (2008) Assessing habitat selection using multivariate statistics : Some refinements of the ecological-niche factor analysis. Ecol Modell 211:233–240. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2007.09.006

Basille M, Calenge C, Marboutin É, et al (2008) Assessing habitat selection using multivariate statistics: Some refinements of the ecological-niche factor analysis. Ecol Modell 211:233–240. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2007.09.006

Breiner FT, Guisan A, Bergamini A, Nobis MP (2015) Overcoming limitations of modelling rare species by using ensembles of small models. Methods inEcology andEvolution 6:1210–1218. doi: 10.1111/2041-210X.12403

Broennimann O, Cola V Di, Petitpierre B, et al (2016) Package " ecospat ." 2.1.0:1–81.

Calenge AC, Dray S, Fortmann-roe S (2015) Package " adehabitat ."

Calenge C, Dufour AB, Maillard D (2005) K-select analysis: A new method to analyse habitat selection in radio-tracking studies. Ecol Modell 186:143–153. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2004.12.005

Carroll JB, Thorpe IC (1991) The conservation of Livingstone's fruit bat Pteropus livingstonii Gray: A report on an expedition to the Comores in 1990,. Dodo,Journal Jersey Wildl Preserv Trust 27:26–40.

Crawford PHC, Hoagland BW (2010) Using species distribution models to guide conservation at the state level : the endangered American burying beetle (Nicrophorus americanus) in Oklahoma. Insect Conserv 1989:511–521. doi: 10.1007/s10841-010-9280-8

Daniel BM, Green KE, Doulton H, et al (2016) A bat on the brink? A range-wide survey of the Critically Endangered Livingstone's fruit bat Pteropus livingstonii. Oryx 1–10. doi: 10.1017/S0030605316000521

Dicks L V., Wright HL, Ashpole JE, et al (2016) What works in conservation? Using expert assessment of summarised evidence to identify practices that enhance natural pest control in agriculture. Biodivers Conserv 25:1383–1399. doi: 10.1007/s10531-016-1133-7

Dray S, Four A-BD-, Thioulouse J (2016) Package "ade4." 1–409.

Eisenring M, Altermatt F, Westram AM, Jokela J (2016) Habitat requirements and ecological niche of two cryptic amphipod species at landscape and local scales. Ecosphere 7:1–13. doi: 10.1002/ecs2.1319

Elith J, H. Graham C, P. Anderson R, et al (2006) Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. Ecography (Cop) 29:129–151. doi:

10.1111/j.2006.0906-7590.04596.x
Evangelista PH, Young NE, Schofield PJ, Jarnevich CS (2016) Modeling suitable habitat of invasive red lionfish Pterois volitans (Linnaeus , 1758) in North and South America ' s coastal waters. Aquat Invasions. doi: http://dx.doi.org/10.3391/ai.2016.11.3.09
Fithian W, Elith J, Hastie T, Keith D a. (2014) Bias Correction in Species Distribution Models: Pooling Survey and Collection Data for Multiple Species. doi: 10.1111/2041-210X.12242
Foley JA, Asner GP, Costa MH, et al (2007) Ecologcial impacts of wind energy development on bats: questions, research needs, and hypotheses. Front Ecol Environ 5:315–324. doi: 10.1890/1540-9295(2007)5
Friday ET, James O, Olusegun O, Gabriel A (2011) Investigations on the nutritional and medicinal potentials of *Ceiba pentandra* leaf: a common vegetable in Nigeria. . Int J Plant Physiol Biochem 3:95–101.
Giannini TC, Acosta AL, Garófalo CA, et al (2012) Pollination services at risk : Bee habitats will decrease owing to climate change in Brazil. Ecol Modell 244:127–131. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2012.06.035
Goodman SM, Weyeneth N, Ibrahim Y, et al (2010) A Review of the Bat Fauna of the Comoro Archipelago. Acta Chiropterologica 12:117–141. doi: 10.3161/150811010X504635
Granek (2000) Granek-2000_An analysis of Pteropus livingstonii roost habitat-Indicators_version Française.pdf. Ya Mkobe 6:131–137.
Granek E (2002) Conservation of Pteropus livingstonii based on roost site habitat characteristics on Anjouan and Moheli, Comoros islands. Biol Conserv 108:93–100. doi: 10.1016/S0006-3207(02)00093-9
Guisan A, Edwards TC, Jr, Hastie T (2002) Generalized linear and generalized additi v e models in studies of species distributions : setting the scene. Ecol Modell 157:89–100.
Guisan A, Thuiller W (2005) Predicting species distribution : offering more than simple habitat models. Ecol Lett 8:993–1009. doi: 10.1111/j.1461-0248.2005.00792.x
Hernández-Montero JR, Saldaña-Vázquez RA, Galindo-González J, Sosa VJ (2015) Bat-fruit interactions are more specialized in shaded-coffee plantations than in tropical mountain cloud forest fragments. PLoS One 10:1–37. doi: 10.1371/journal.pone.0126084
Hirzel AH, Hausser J, Chessel D, Perrin N (2002) Ecological-Niche Factor Analysis: How To Compute Habitat-Suitability Maps Without Absence Data? Ecology 83:2027–2036. doi: 10.1890/0012-9658(2002)083[2027:ENFAHT]2.0.CO;2
Jantz SM, Barker B, Brooks TM, et al (2015) Future habitat loss and extinctions driven by land-use change in biodiversity hotspots under four scenarios of climate-change mitigation. Conserv Biol 29:1122–1131. doi: 10.1111/cobi.12549
Jiménez-Valverde A (2012) Insights into the area under the receiver operating characteristic curve (AUC) as a discrimination measure in species distribution modelling. Glob Ecol Biogeogr 21:498–507. doi: 10.1111/j.1466-8238.2011.00683.x
Kaboré D, Sawadogo-Lingani H, Diawara B, et al (2011) A review of baobab (Adansonia digitata) products: Effect of processing techniques, medicinal properties and uses. African J Food Sci 5:833–844. doi: 10.5897/AJFSX11.004
Kunz TH, de Torrez EB, Bauer D, et al (2011) Ecosystem services provided by bats. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1223:1–38.
Lindhe-Norberg UM, Brooke AP, Trewhella WJ (2000) Soaring and non-soaring bats of the family pteropodidae (flying foxes, Pteropus spp.): wing morphology and flight performance. J Exp Biol 203:651–664.

Liu A, Li D, Wang H, et al (2002) Ornithophilous and Chiropterophilous Pollination in Musa itinerans (Musaceae), a Pioneer Species in Tropical Rain Forests of Yunnan , Southwestern China ’. Biotropica 34:254–260.
Liu C, White M, Newell G (2013) Selecting thresholds for the prediction of species occurrence with presence-only data. 778–789. doi: 10.1111/jbi.12058
Lomba A, Pellissier L, Randin C, et al (2010) Overcoming the rare species modelling paradox : A novel hierarchical framework applied to an Iberian endemic plant. Biol Conserv 143:2647–2657. doi: 10.1016/j.biocon.2010.07.007
Luszcz TMJ, Barclay RMR (2015) Influence of forest composition and age on habitat use by bats in southwestern British Columbia. Cambodian Jounal Zool 153:1–40. doi: 10.1139/cjz-2015-0167
Majumdar K, Majumder J, Datta BK (2016) Vegetation composition, structure and distribution status of trees used by two tropical fruit bat species in degraded habitats of Northeast India. Zool Ecol 8005:1–14. doi: 10.1080/21658005.2016.1148978
Maugé LA, Ségoufin J, Vernier E, Froget C (1982) Geomorphologie et origine des bancs du nord-est du canal de Mozambique — Ocean Indien occidental (geomorphology and origin of the reef-banks of the north-eastern Mozambique Channel — Western Indian Ocean). Mar Geol 47:37–55.
McConkey KR, Drake DR (2006) Flying foxes cease to function as seed dispersers long before they become rare. Ecology 87:271–276. doi: 10.1890/05-0386
McConkey KR, O’Farrill G (2016) Loss of seed dispersal before the loss of seed dispersers. Biol. Conserv. 201:38–49.
McConkey KR, Prasad S, Corlett RT, et al (2012) Seed dispersal in changing landscapes. Biol. Conserv. 146:1–13.
Michon L (2016) The Volcanism of the Comoros Archipelago Integrated at a Regional Scale. In: P. Bachèlery et al. (ed) Active Volcanoes of the Southwest Indian Ocean. pp 333–343
Mickleburgh S, Hutson AM, Bergmans W, et al (2008) Pteropus seychellensis, Seychelles Flying Fox.
Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, et al (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403:853–858.
Niphadkar M, Ficetola GF, Bonardi A, et al (2016) Effects of landscape context on the invasive species Lantana camara in Biligiri Rangaswamy Temple Tiger Reserve , India. Trop Ecol 57:9–21.
Oleksy R, Racey PA, Jones G (2015) High-resolution GPS tracking reveals habitat selection and the potential for long-distance seed dispersal by Madagascan flying foxes Pteropus rufus. Glob Ecol Conserv 3:678–692. doi: 10.1016/j.gecco.2015.02.012
Pearson RG, Thuiller W, Ara??jo MB, et al (2006) Model-based uncertainty in species range prediction. J Biogeogr 33:1704–1711. doi: 10.1111/j.1365-2699.2006.01460.x
Peterson AT, Papeş M, Soberón J (2008) Rethinking receiver operating characteristic analysis applications in ecological niche modeling. Ecol Modell 213:63–72. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2007.11.008
Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. Ecol Modell 190:231–259. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026
R Development Core Team (2016) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Found Stat Comput Vienna Austria 0:{ISBN} 3-900051-07-0. doi: 10.1038/sj.hdy.6800737

Razafindratsima OH (2014) Seed dispersal by vertebrates in Madagascar ' s forests : review and future directions. Madag Conserv Dev 9:90–97. doi: http://dx.doi.org/10.4314/mcd.v9i2.5

Ripple WJ, Abernethy K, Betts MG, et al (2016) Bushmeat hunting and extinction risk to the world ' s mammals Subject Category : Subject Areas : Open Sci 3:160498. doi: 10.1098/rsos.160498

Roberts SH, Jacobs MD, Clark RM, et al (2016) A review of the *Pteropus rufus* (É. Geoffroy, 1803) colonies within the Tolagnaro region of southeast Madagascar – an assessment of neoteric threats and conservation condition. Madagascar Conserv Dev 11:1–10. doi: 10.4314/mcd.v11i1.7

Sewall B, Freestone AL, Moutui MF, et al (2011) Rainforest Reserves for Critically Endangered Comorian Fruit Bats Rainforest Reserves for Critically Endangered Comorian Fruit Bats. 1–21.

Sewall BJ, Young R, Trewhella WJ, et al (2016) Pteropus livingstonii, Livingstone's Flying Fox. IUCN Red List Threat Species 2016 e.T18732A22081502.

Stack LB, Dill J, Pundt L, et al (2016) Greenhouse Floriculture Guide.

Terwee CB, Bot SDM, de Boer MR, et al (2007) Quality criteria were proposed for measurement properties of health status questionnaires. J Clin Epidemiol 60:34–42. doi: 10.1016/j.jclinepi.2006.03.012

Thuiller AW, Georges D, Engler R, et al (2016) The biomod2 package: the updated object-oriented version of BIOMOD package. 1–104.

Trewhella WJ, Rodriguez-Clark KM, Corp N, et al (2005) Environmental education as a component of multidisciplinary conservation programs: Lessons from conservation initiatives for critically endangered fruit bats in the western Indian Ocean. Conserv Biol 19:75–85. doi: 10.1111/j.1523-1739.2005.00548.x

Trewhella WJ, Rodriguez-Clark KM, Davies JG, et al (2001) Sypatric fruit bat species(Chiroptera: Pteropodidae) in the Comoro Islands (Western Indian Ocean): Diurnality, feeding interactions and their conservation implications. Acta Chiropterologica 3:135–147.

Utzurrum RCB, Wiles GJ, Brooke AP, Worthington DJ (2003) Count Methods and Population Trends in Pacific Island Flying Foxes. Monit trends bat Popul United States Territ Probl Prospect 3:49–62.

Voigt CC, Kingston T (2015) Bats in the anthropocene: Conservation of bats in a changing world.

Zhao J, He K, Peng Y, et al (2016) Net neutral effects of a generalist vertebrate predator on seed production result from simultaneous suppression of plant antagonists and mutualists. Basic Appl Ecol 17:344–351. doi: 10.1016/j.baae.2015.11.003

Chapitre 3

3-Variabilité génétique des Populations du genre *Pteropus* dans l'archipel des Comores

3.1-L'échantillonnage génétique non invasif chez deux chauves-souris frugivores permet d'obtenir un taux de génotypage élevé et un taux d'erreurs faible lors de l'amplification de l'ADN.

Noninvasive genetic sampling of two flying fox species provides a high rate of genotyping success and a low error rate during amplification

Mohamed Thani IBOUROI, Claudine MONTGELARD, Ali CHEHA, Véronique ARNAL, Aurélien BESNARD

Soumis à ***Acta Chiropterologica***

Contexte

Le développement d'une stratégie de conservation des espèces nécessite différentes informations telles que la diversité génétique, le degré de consanguinité, la structuration des populations ; nécessaires pour évaluer le niveau de rupture de flux de gènes entre sous populations. Ces d'informations sont aussi nécessaires pour déterminer le potentiel adaptatif des espèces ainsi que leur capacité à faire face aux modifications des habitats. Les échantillons nécessaires à ces analyses génétiques sont traditionnellement obtenus par la capture physique des individus. Cependant, ces captures physiques sont souvent couteuses et peuvent perturber voire même tuer les animaux de manière accidentelle; ce qui pose des problèmes éthiques en particulier lorsque l'on travaille sur des espèces rares ou menacées d'extinction. L'utilisation d'une approche « non invasive » peut représenter une solution alternative pertinente aux méthodes traditionnelles pour acquérir les échantillons nécessaires.

Dans cette partie de la thèse, j'ai adopté une approche d'échantillonnage non invasive plus particulièrement celle basée sur l'utilisation des fèces des animaux et des marqueurs génétiques de types mitochondriaux et microsatellites pour tester sa faisabilité et son efficacité dans l'obtention des données génétiques chez deux espèces de mégachiroptères menacées d'extinction des Comores (*Pteropus livingstonii* et *P. seychellensis comorensis*).

Matériels et Méthodes

Chez les deux espèces de *Pteropus*, de la matière fécale fraiche a été collectée sous chaque arbre gite. Des bâches en plastique de 3mx3m ont été placées en dessous de l'arbre gite des chauves-souris entre 18h et 18h30. Celles-ci ont ensuite été vérifiées très tôt le matin (à partir de 5h) et environ 15 échantillons de crottes ont été prélevés sur chaque site. Ces échantillons sont conservés suivant deux manières différentes. Une partie des

échantillons collectés est conservée dans des tubes contenant du silica gel et une autre partie est conservée dans des tubes contenant de l'éthanol à 96°. Au laboratoire, ces échantillons ont ensuite été conservés à une température de –4°C en attendant l'extraction de l'ADN quelques jours après.

L'extraction d'ADN est rélisé en utilisant un kit QIAGEN (*DNeasy mericon Food* N°69514). Les échantillons ont été amplifiés en utilisant la méthode de « *Polimorphism Chain Reaction* ou PCR» avec un locus mitochondrial (~400 pb) et 7 locus microsatellites (A1, C6, PH9, A2, CSP7, A3, et B29). Nous avons testé l'efficacité de deux méthodes de conservation de l'ADN (alcool et silica gel) ainsi que leurs effets sur le taux des succès du PCR avec l'ADN mitochondrial (mtDNA).

Résultats principaux

Le succès d'amplification est moyen chez les deux espèces pour le mtDNA (55 et 38 % pour *P.livingstonii* et *P. s. comorensis* respectivement). Nos analyses suggèrent une légère différence (mais significative) entre les deux méthodes de conservation d'ADN. Le succès d'amplification est plus élevé pour les échantillons conservés en alcool qu'en silicagel. De la même manière, nos analyses suggèrent que la période d'échantillonnage impacte significativement le succès d'amplification pour les échantillons conservés en alcool. Plus spécifiquement, le succès d'amplification est plus élevé pour les échantillons collectés en période sèche qu'en période humide. La durée de conservation des échantillons (4 à 12 semaines) n'avait quant à elle aucune influence sur le succès d'amplification pour des échantillons conservés en alcool. En ce qui concerne les locus microsatellites, le succès du génotypage est de 74% pour *P.livingstonii* et 95% pour *P. s. comorensis* en utilisant les échantillons qui ont été amplifiés avec succès avec le mtDNA.

Les résultats obtenus durant cette étude ont permis de montrer que la méthode de NIGS est faisable chez les chauves-souris frugivores des zones tropicales. Bien que le succès d'amplification avec le mtDNA soit modéré (~50%), ce taux est comparable à ceux obtenus dans différentes études sur des espèces rares et tropicales voir même dans des régions tempérées. Par cette étude, nous avons pu démontrer que les deux méthodes de conservation d'ADN (Ethanol et Silica gel) sont utilisables chez des espèces frugivores des zones tropicales pour acquérir les données génétiques nécessaires pour proposer des stratégies de conservation. Le succès d'amplification faible obtenu pour les échantillons

conservés en silicagel pourrait être lié à la méthode d'échantillonnage et à l'importante quantité d'humidité qui a probablement conduit à la saturation des échantillons. Ceci peut aussi expliquer la différence significative observée entre les échantillons collectés en saison humide et en saison sèche. J'ai présenté quelques recommandations sur les manières de collecter, de conserver les échantillons sur le terrain. Par exemple, lors des collectes des échantillons, j'ai suggéré de placer des tissus en dessus des plastiques pour faciliter le séchage des échantillons mais aussi permettre la rétention de l'humidité. J'ai donné quelques recommandations et particulièrement concernant l'ADN conservé dans du silica gel notamment de vérifier régulièrement les échantillons pour qu'ils ne soient pas saturés. Par cette étude, j'ai aussi montré l'utilité de tester d'abord les échantillons avec des marqueurs mitochondriaux afin de vérifier la présence d'ADN non dégradé mais aussi d'identifier l'espèce dans le cas où le taxon étudié est identifiable avec les marqueurs mitochondriaux avant de procéder aux génotypages qui sont un processus couteux.

Noninvasive genetic sampling of two flying fox species provides a high rate of genotyping success and a low error rate during amplification

MOHAMED THANI IBOUROI[1,2], CLAUDINE MONTGELARD[1], ALI CHEHA[1], VERONIQUE ARNAL[1], AURELIEN BESNARD[1]

1 - EPHE, PSL Research University, CNRS, UM, SupAgro, IRD, INRA, UMR 5175 CEFE, F-34293 Montpellier, France

2-Institut des Sciences et Industrie du Vivant et de l'environnement, AgroParisTech, 19 Avenue de Maine 75015 Paris, France

Corresponding author: halibathani@yahoo.fr

1-ABSRACT

Noninvasive genetic sampling techniques are useful tools for providing genetic data that are crucially needed for determining suitable conservation actions. Yet these methods may be highly unreliable in certain situations for instance, when working with fecal samples of frugivorous species in tropical areas. In this study, we tested the applicability of noninvasive genetic sampling on two Comoros Islands flying fox species: *Pteropus livingstonii* and *P.seychellensis comorensis* in order to establish guidelines for using these methods on tropical bat species. Both mitochondrial (mtDNA) and microsatellite markers were tested using two common feces conservation protocols (ethanol and silica gel), and the polymerase chain reaction (PCR) success and genotyping error rates were assessed. The average proportion of mtDNA PCRs positive results was 55% for *P.livingstonii* and 38% for *P.s.comorensis*, and higher amplification success was obtained for samples preserved in ethanol as compared to silica gel. The average genotyping success rate was high (74% for *P.livingstonii* and 95% for *P.s.comorensis*) and the genotyping error rate was low for both species. Despite our results confirm the effectiveness of using noninvasive genetic sampling methods to study flying fox species, the protocol we used can be optimized to provide higher efficiency. Some recommendations related to field sampling protocols and laboratory methods are proposed in order to optimize amplification rate and minimize genotyping errors.

Keywords: Comoros Islands, frugivorous bats, fecal samples, genetic data, cytochrome b, microsatellites

2-INTRODUCTION

Establishing effective habitat management and wildlife conservation measures requires information such as population size, genetic diversity and long-term demographic data (Sharma *et al.,* 2012). Such information has traditionally been gathered using capture–recapture surveys or genetic sampling of tissue or blood, approaches that require the physical capture of individuals, which is time-consuming and difficult for elusive species (Marucco *et al.,* 2009). Moreover, physical capture often disturbs and can sometimes even injure or kill animals, thus posing ethical issues, especially as regards threatened animals. Today, genetic data can be successfully obtained noninvasively from diverse animal sources, such as hair or fecal materials, minimizing the risk and stress for animals (Taberlet *et al.,* 1999). Noninvasive genetic sampling (NIGS) thus represents an alternative option to traditional methods for acquiring genetic data (Marucco *et al.,* 2009). NIGS is easy to implement and is now widely used to assess management and conservation issues for many species, such as brown bears or *Ursus arctos* (Taberlet *et al.,* 1997), insectivorous bats (Puechmaille and Petit, 2007), or large primates (*Pan troglodytes*, Morin *et al.,* 2001). Yet while NIGS has become increasingly popular for wildlife monitoring over the two last decades (Boston *et al.*, 2012), few studies have used these methods to focus on bat populations from tropical and subtropical forests (Baldwin *et al.,* 2010). This paucity is likely due to difficulties related to the low quantity and poor quality of DNA contained in certain noninvasive samples. In particular, fecal samples from frugivorous animals are often degraded or contain many PCR inhibitors. In one hand, fecal samples of frugivorous animals can retain some non-digested contains of fruits that could attract insects. The presence of insects in the fecal samples could speed up the DNA degradation and lead to the deposition of different inhibitors (Palomares *et al.,* 2002). In another hand, fecal from frugivorous animals are often soft in terms of consistency or even liquid. This could accelerate DNA degradation because of the high level of humidity in the sample (Morin *et al.,* 2001; Palomares *et al.,* 2002). All together, these factors can lead to genotyping errors such as a high rate of allelic dropout (ADO) and false alleles (FA) (Morin *et al.,* 2001). This can result in potential bias in genetic and demographic results (Boston *et al.,* 2012). For example, Baldwin *et al.* (2010) used NIGS with the feces of the grey-headed flying fox (*Pteropus poliocephalus*) and found a high rate of genotyping errors (a total genotyping error rate of 49%, a total ADO

rate of 45% and a total FA rate of 3.7%). To our knowledge, the study of Baldwin *et al.* (2010) represents the only published study investigating a flying fox species genetics using NIGS (Baldwin *et al.,* 2010). The difficulties encountered in fecal DNA extraction have limited the use of such approaches in tropical bat species. It is thus crucial to improve methods for obtaining genetic data on elusive fruit bat species in tropical regions.

Pteropus livingstonii and *P. seychellensis comorensis* are two fruit bat species endemic to the Comoros Islands, where their importance to ecosystem functioning as pollinators and seed dispersers has been demonstrated (Sewall *et al.,* 2011). Despite their key role in maintaining of ecosystem regulation in the Comoros, to date no study has been undertaken in these islands regarding these species' genetic diversity or population dynamics, making it difficult to recommend appropriate management plans. This lack of knowledge is partly due to the difficulty of carrying out capture–recapture surveys in these species' habitats, since individuals are often located on large, tall trees (*P.s.comorensis*) or in highly inaccessible, dense forests (*P.livingstonii,* Sewall *et al.,* 2011). Bearing in mind the problems related to potential genotyping errors using noninvasive sampling of feces, we felt this method could be considered as a possible alternative to direct monitoring in order to provide genetic data for the two species, which would then allow the development of relevant conservation measures.

To this end, we tested the applicability of NIGS on these two flying fox species with the following aims: (1) to test the impact of two common feces conservation protocols (96° ethanol and silica gel), of storing duration and on sampling period and locations on PCR success with mitochondrial DNA cytochrome b; (2) to assess the genotyping success rate and the proportion of genotyping errors (ADO and FA) for both species using nine microsatellite loci; and (3) to provide guidelines to optimize the use of such techniques on fruit bat species, especially in tropical regions.

3- MATERIALS AND METHODS

The field sessions were conducted on the three islands of the Comoros archipelago (Anjouan, Grande Comore and Mohéli) during three periods: November 2014 to May 2015, December 2015 to April 2016, and July to October 2016. Feces samples were collected at 18 sites (12 sites for *P.livingstonii* and 6 sites for *P.s.comorensis*). At each site, a plastic trap was placed below each roosting tree from 6:00 pm to 8:00 am, collecting up to 15 samples of

fecal material. We define fecal sample here as one dropping from an individual of flying fox. When two or more droppings from the same individual were found, only one was sampled. More specifically, when two or more droppings were closed in the trap (~0.5 m) and have the same colors and form, we supposed that they came from the same individual and only one sample was taken. These fecal samples were then placed into 5-ml tubes containing different preservation agents: 96° ethanol or silica gel. The samples were kept at room temperature (between 20 and 30 °C) in the Comoros Islands before being transported to France and frozen (-4 °C) until processing for DNA extraction.

The DNA from the samples was extracted at a laboratory facility specializing in the analysis of degraded and sensitive DNA ("ADN dégradé" platform of the LaBex CeMEB, Montpellier, France). The DNA was extracted using a QIAGEN kit (DNeasy mericon Food Kit 69514) following the manufacturer's protocol. It was amplified through polymerase chain reaction (PCR) using both mitochondrial loci (mtDNA, 460 bp cytochrome b) and 9 microsatellite loci. For the mtDNA amplification, a 10-µL mix containing 5 µl of the PCR buffer from the 'QIAGEN Master Mix Kit' (2X master mix, 1.5 µM MgCl 2, Taq, dNTPs), 0.5 µM of the primer CBPL1 (5' TAC ATC CCA GCC AAC CCA CTA 3'; designed for this study), 0.5µM of the primer H15915 (5' AAC TGC AGT CAT CTC CGG TTT ACA AGA C 3'; (Irwin *et al.,* 1991)), 3 µl of H2O and 1 µl of DNA was run in a Thermocycler. PCR process followed these conditions: an initial denaturation at 94 °C for 2 minutes, followed by 35 cycles of denaturation (94 °C, 60s), annealing (45 °C, 60s), elongation (72 °C, 90s) and a final elongation at 72 °C for 10mn. PCR products were separated by electrophoresis in 1–2 % agarose gels in TBE buffer. Gels were visualized under UV and photographed with a digital image system. Each sample was examined according to its band from the agarose gel to perform dilution. PCR products were diluted depending on the intensity of each band. For a band of high intensity, we added a volume of 8 µl of H2O plus 2 µl of PCR product to have a final volume of 10 µl of diluted PCR product and for a band of low intensity we added 4 µl of H2O plus all PCR product (~6µl) for sequencing. The diluted PCR products were sent to Eurofins Genomics (Ebersberg, Germany) for sequencing. Electropherograms were visually checked for errors and contigs were assembled using CodonCode Aligner 4.2.5 (CodonCode Corporation). The proportion of PCR success rate was calculated considering the number of samples showing positive sequences divided by the total number of samples. For species

identification, we used MEGA software (Tamura *et al.,* 2013) to build a haplotype phylogenetic tree with maximum likelihood methods, following the HKY+I model.

For the genotyping process, 9 microsatellite loci (described for *P. rodricensis*, a genetically close species to both *P.s.comorensis* and *P.livingstonii*; O'Brien *et al.,* 2007) were tested. All forward primers were fluorescently labeled and combined with reverse primers in three multiplex PCRs at different temperatures (Table 1). Each PCR mix for each multiplex contained a final volume of 10 µl: 5µl of PCR buffer "QIAGEN Master Mix Kit" (2X master mix, 1.5 µM MgCl 2, Taq, dNTPs), 0.2 µM of the primer mixes, 1 µl of DNA and 3 µl of H2O. The PCR mix was run in a Thermocycler in the following conditions: an initial denaturation at 95° C for 15 minutes, followed by 35 cycles of denaturation (94 °C, 30s), annealing (90s at 52 °C, 50 °C and 54 °C respectively for Multiplex 1, Multiplex 2 and Multiplex 3, Table 1), elongation (1 min at 72 °C), and a final elongation step of 30 min at 60 °C. PCR products were diluted to a maximum of 1/200 for bands of high intensities and to a minimum of 1/10 if the band was not visible at all. Products were run in a 16 capillary sequencer (3130 xl Genetic Analyzer, Applied Biosystems) at the platform "Genotypage-Séquençage" of the LabEx CeMEB with the standard size GS400 (-250)LIZ500 and the alleles of each sample were scored with GeneMapper v4.5 (Applied Biosystems). To assess the reliability and error rates of the genotyping of the fecal samples, each sample was independently genotyped using the multiple-tubes procedure *(*Taberlet *et al., 1997).* PCR were run at least three times. In some cases results were negative for at least one of the three runs. In this situation, we carried out some additional runs for the corresponding samples to obtain three or more positive PCR.

The genotyping errors were classified as (1) allelic dropout (ADO) when heterozygous alleles from at least three independent repeated genotyping procedures showed homozygous alleles, or (2) false alleles (FA) if a homozygote from a triplicate genotyped set showed heterozygote alleles (Broquet and Petit, 2004). These errors types were quantified according to Broquet and Petit formula (Broquet and Petit, 2004).

Effect of the conservation method, sampling period and preservation time on the mtDNA success rate

During our field sampling, we did not get the same sample size for ethanol and silica gel. The main objective of our field session was to collect reliable samples for genotyping and for microsatellite analysis. After the first field session, the preliminary results of some

amplification tests showed that ethanol was more efficient in terms of sample conservation than silica gel, then during our last field session, all samples were stored in ethanol only.
To assess the effect of preservation time, sampling period, Island where fecal were collected and the conservation protocol on the mtDNA PCR success rate, we performed a Generalized Linear Model with binomial distribution and logit link. As we did not have sufficient number of samples for feces preserved in silica gel during the second and third sampling sessions, tests were performed only on samples stored in ethanol for preservation time, Island effect and sampling period. As silica gel samples were all extracted 3 to 4 months after collection, we tested for the effect of preservation method on samples stored 12, 13 and 14 weeks in both ethanol and silica gel. For the effect of sampling period, samples collected between November to February (high rainfall season) were compared to samples collected between March to September (dry season). All statistic test were performed for *P.livingstonii* only as we did not have sufficient samples to perform statistical analyses on *P.s.comorensis*. Test was considered significant if p-value<0.05. All statistical analysis were performed using R (R Development Core Team, 2016).

4-REUSLTS

4.1- PCR success with mtDNA

A total of 337 fecal samples were collected on the three islands of Comoros: 244 for *P.livingstonii* (178 from Anjouan Island and 66 from Mohéli Island) and 93 samples for *P.s.comorensis* (20 from Anjouan, 50 from Grande Comore and 23 from Mohéli). The average proportion of mtDNA PCRs with positive results was 55% (135/244) for *P.livingstonii* compared to 38% (36/93) for *P.s.comorensis* (Table 2).

Statistical analyses revealed that conservation protocol had a strong influence on the mtDNA success. mtDNA PCR amplification success was significantly lower in silica-gel (0.37 95%CI [0.28-0.47]) then in alcohol (0.79 95%CI [0.59-0.91], on samples stored for 12, 13 and 14 weeks, z=14.22, ddf=1, p<0.001). Storing duration have no significant impact on the DNA preservation in Ethanol (z= 0.16, ddf =1 p-value=0.68, the amplification rate varied from 0.70 for 4 weeks to 0.64 for 14 weeks). According to our statically analysis, the sampling period significantly impacted mtDNA success rate, mtDNA success rate was significantly lower for samples collected during wet period (0.58, 95%CI [0.49-0.68]) compared to dry period (0.84

95%CI [0.71-0.91], z= 8.12, ddf =3 p-value=0.04). When mtDNA amplification success was modelled depending on the Islands, mtDNA success rates significantly differed between Anjouan (0.64 95%CI[0.55-0.72]) and Moheli (0.80 95%CI [0.62-0.91], z= 8.12, ddf =3 p-value=0.04).

4.2-Phylogenetic analysis with mtDNA

We built a phylogenetic tree with 156 amplified sequences obtained from feces (resulting in a total of four haplotypes for *P.s.comorensis* and 11 haplotypes for *P.livingstonii*) as well as 20 cytochrome b sequences from GenBank (10 sequences for *P.livingstonii*, and 10 sequences for *P.s.comorensis*). The resulting tree (Haplotype phylogenetic tree as well as all GenBank sequences are shown in electronic supplementary material) confirmed that all samples belonged to one of the two species, but also revealed that eight samples collected under *P.livingstonii* dormitory trees and assigned to this species in the field were in fact from *P.s.comorensis* (identification error of 5%). All sequences are available into GenBank (accession numbers: MF471481 - MF471633).

4.3- Genotyping success and error rates with microsatellite loci

To increase the probability of positive PCR results and to minimize costs and time, only the samples with positive results for mtDNA PCR were amplified with microsatellite loci. This allowed us to ensure that we amplified fecal samples with sufficiently non-degraded DNA.

Table 1: Properties of the nine multiplexed microsatellite loci: SR.PLV= Allele size range for *P.livingstonii,* SR.PSC= Allele size range for *P.s.comorensis, locus source ; O'Brien et al 2007*

Multiplex(M)	Locus	**Annealing temperature**	PRP.CLR	SR.PLV	SR.PSC
	A1	52 °C	Red	145–163	157–163
M1	**C6**	52 °C	Blue	208–314	283–286
	PH9	52 °C	Green	215–265	213–241
	A2	50 °C	Blue	171–187	171–189
M2	**A8**	50 °C	Red	NA	NA
	CSP7	50 °C	Green	250–278	258–292
	A3	54 °C	Red	277–359	327–361
M3	**B29**	54 °C	Blue	210–254	224–330
	PH4	54 °C	Black	NA	NA

From the 171 positive mtDNA samples (for the two species), microsatellites were amplified for 142 of these, including 120 out of 135 positive mtDNA samples for *P.livingstonii*, and 22 out of 36 positive mtDNA samples for *P.s.comorensis*.

Genotype consensus was established with 7 loci (Table 2) on 90 out of 120 samples for *P.livingstonii* compared to 21 out of 22 samples for *P.s.comorensis*. The two remaining loci (A8 and PH4) did not provide reliable genotypes and were discarded in further analysis. The genotyping success rate was high for all loci for both species, varying from 72% (locus A3 and PH9) to 75% (locus A1, A2 and B29) with an average of 74% for *P.livingstonii*, and from 72% (A3) to 100% (C6, PH9, A2, CSP7 and B29) with an average genotyping success rate of 95% for *P.s.comorensis*. The overall genotyping error rate was low for both species. The average proportion of allelic dropout (ADO) and false alleles (FA) appeared to vary between markers (Table 2). For *P.livingstonii*, the frequency of ADO and FA were respectively 2.2% and 0.22%. An average of 0.6% and 0.3% of ADO and FA respectively was recorded for *P.s.comorensis* (Table 2).

Table 2: MtDNA amplification success rate using different DNA preservation methods (top of table) and microsatellite genotyping success per locus (bottom of table): ADO = allelic dropout; FA = false alleles rate; GTS = frequency of genotyping success; GTSR = percentage of genotyping success, NA = not available

mtDNA	*P.livingstonii*			*P.s.comorensis*		
	Ethanol 96°	Silica gel	Total	Ethanol 96°	Silica gel	Total
Anjouan	74/115 (64%)	19/63 (30%)	93/178 (52%)	13/20 (65%)	NA	13/20 (65%)
Mohéli	25/32 (78%)	17/34 (50%)	42/66 (63%)	1/5 (20%)	6/18 (33%)	7/23 (33%)
Grande Comore	NA	NA	NA	NA	16/50 (32%)	16/50 (32%)
Total	99/147 (67%)	36/97 (37%)	135/244 (55%)	14/25 (56%)	22/68 (32%)	36/93 (38%)

Microsatellites	*P.livingstonii*				*P.s.comorensis*			
Locus	GTS	GTSR	ADO	FA	GTS	GTSR	ADO	FA
A1	90/120	75%	0.012	0.000	21/22	95%	0.000	0.000
C6	89/120	74%	0.006	0.000	22/22	100%	0.000	0.000
PH9	87/120	73%	0.027	0.000	22/22	100%	0.000	0.000
A2	90/120	75%	0.013	0.000	22/22	100%	0.000	0.000
CSP7	89/120	74%	0.008	0.006	22/22	100%	0.043	0.000
A3	88/120	73%	0.040	0.007	16/22	72%	0.00	0.021
B29	90/120	75%	0.050	0.003	22/22	100%	0.00	0.000
Total	89/120	74%	0.022	0.002	21/22	95%	0.006	0.003

5- DISCUSSION

Results presented (Table 2) indicate moderate and low mtDNA PCR success rate for *P.livingstonii* and *P.s.comorensis* respectively. These results are however comparable to those obtained on certain mammal species using mtDNA, including insectivorous bats in Europe (*Myotis capaccinii*: 50%, Viglino *et al.,* 2016), but are lower than those obtained for others (*Myotis mystacinus* and *Myotis nattereri:* 72–88%, Boston *et al.,* 2012). These contrasting results could be explained by differences in diet of the studied species. According to many studies, the PCR success rate is highly affected by different PCR inhibitors that can occur in fecal materials depending on the diet of the species, and these inhibitors are probably in high quantity in feces of frugivorous animals (Puechmaille and Petit, 2007, Morin et al 2001). Then the type of habitat where the samples were collected and the sampling conditions can impact DNA preservation. Some studies indicate for instance that roost conditions (e.g. humidity, temperature, etc.) as well as abundances of insects and rainfall can impact DNA preservation (Boston *et al.,* 2012; Viglino *et al.,* 2016). A last, the interval between the time the samples were collected and the DNA were extracted, and/or the protocol used to preserve the sample (ethanol or silica gel) and the conditions of DNA extraction (Boston *et al.,* 2012) can also strongly impact amplification success.

5.1-Impact of sampling condition, preservation methods and storing duration on amplification success rate

According to previous studies (Murphy *et al.,* 2003), high humidity could have an effect on DNA conservation in fecal samples leading to low PCR success rate and it might explain the relatively low mtDNA amplification success we obtained. It is difficult to provide a precise value of the humidity in the forest during data collection since we did not precisely collect this information during field session. Yet according to the Climatetemp.com, the studied Islands have an average humidity of 76% during wet season. This average value at the island scale probably represents the lowest value we get during the field since several samples (especially those of *P. livingstonii*) were collected in rainy forest at high altitude. Moreover, during the sample collection, it rained almost every night and the weather was fogy and very humid. We tested the relationship between the mtDNA success rate and the Island where samples were collected and our results highlighted a low but significant difference between the islands. Samples collected in the forests of Anjouan showed a lower

rate of mtDNA amplification than those of Moheli. The forests of Anjouan are notably characterized by higher rainfalls and humidity than forests of the Island of Moheli which are characterized by moderate rainfalls (UNEP 2002). This impact of humidity is also confirmed by our analysis regarding sampling period. According to our statistical analysis, samples collected during dry periods show higher mtDNA amplification success than samples collected during rainfall periods. This is probably due to the fact that rainfall periods are characterized by high humidity; of course; but also high temperatures, and a high abundance of insect that could impact DNA (Palomares *et al.,* 2002).

Our results show higher mtDNA amplification success for samples preserved in ethanol as compared to silica gel. These results are in line with those obtained by Roeder *et al*. (2004) showing that fecal samples in silica gel were poorly preserved for tropical species. In contrast, Puechmaille and Petit (2007) obtained high amplification success rates for samples preserved in silica gel for insectivorous bats in Europe (Goodman *et al.,* 2012; Puechmaille and Petit, 2007; Ruedi *et al.,* 2012). In our case, the low mtDNA amplification success rate from samples stored in silica gel in comparison to those stored in ethanol can also be explained by the very high level of humidity of the collected samples. Because our samples were exposed to a high level of humidity and mildews, silica gel probably desiccates feces too slowly and may have not been able to prevent further DNA degradation, as opposed to ethanol (Murphy *et al*., 2002).

According to Murphy *et al.* (2002), fecal samples that have been preserved for a long time (up to six months) show lower success rates for mtDNA amplification (Brinkman *et al.,* 2009). Yet Puechmaille *et al.* (2007) found no difference in mtDNA amplification success between samples stored 6 month versus 18 month in silica gel prior to DNA extraction (Puechmaille *et al.*, 2007). In our case, due to administrative procedures related to exporting the samples, samples were stored at ambient temperature for a long period (between 3 and 4 months) before being processed in the lab. However, our statistical analysis testing for the impact of storing duration on amplification success was not significant as in Puechmaille *et al.* (2007), on shorter period though.

5.2- Effect of laboratory process on mtDNA success rate

Low mtDNA success rate can also be explained by the DNA extraction protocol. We used the DNeasy Mericon Food with our fecal samples as this Kit had already been

successfully tested with mammal feces samples in our lab. Testing different extraction kits and performing some modifications of the extraction protocol might allow improving the rate of successful extraction we get. So in future analysis involving noninvasive genetic sampling, we recommend testing different extraction protocols to select the more appropriate one for the species.

Amplifying a shorter mtDNA fragment could also have resulted in a higher amplification success (Broquet *et al.,* 2007). Yet our microsatellite loci ranged from 170 to 345 bp (see O'Brien *et al.,* 2007), we thus assumed that a successful amplification of 400-450bp of mtDNA, should be a relevant proxy of amplification success of these microsatellites. When working with shorter microsatellite loci or if the goal of the study is to test different protocols with mtDNA, we recommend the use of shorter sequences fragment that could lead to higher amplification success.

5.3- Importance of testing samples with mtDNA before genotyping

Our phylogenetic results highlights that the two species can share the same roosting trees even in sites at which *P.livingstonii* is believed to live alone. This founding highlight the importance of testing samples with mtDNA before genotyping when working with NIGS. Testing with mtDNA amplification not only allows the identification of the species to be confirmed, but also enables the selection of the samples with the best potential DNA for subsequent microsatellite amplifications. These steps could in turn allow reducing genotyping errors, the main challenge in noninvasive genetic sampling. However, identifying species using mtDNA analysis is possible only when the species can be diagnosed with mtDNA markers (Afonso *et al.,* 2017; Puechmaille and Teeling, 2014). This is not the case when introgression occurs on the targeted species that can conduct to misidentification of the species (Puechmaille and Teeling, 2014). In our case, since microsatellite loci analyses are expensive compared to mtDNA, the use of the mtDNA was the best option to verify the presence of DNA in fecal samples and to identify species despite the time wasted in this step. Indeed, studies of O'Brien *et al.* (2009), Chen *et al.* (2011) and Almeida et al. (2014) showed that mtDNA allows successfully identifying the two targeted species using cytochrome b gene (Almeida *et al.,* 2014; Chan *et al.,* 2011; O'Brien *et al.,* 2009). Yet, in some situations (when the use of mtDNA is not relevant to separate some species or when

working on a single species) the use of microsatellites can be sufficient to select for good quality DNA (Afonso *et al.,* 2017).

5.4- Genotyping and error rates with microsatellite loci

We successfully amplified only 7 microsatellites loci among the 9 we tested (Table 1). Two microsatellites markers (A8 and PH4) were not amplified probably because of some inadequate PCR conditions. Firstly, regarding the PH4 locus, we obtained positive results with the PCR during genotyping but the majority of samples presented more than two alleles even with monoplex run, indicating that our primer amplified different region of the marker probably due to an inadequate annealing temperature. For the A8 locus, although some positive results were obtained for some samples, the majority of samples gave negative results (no pics), this was probably due to some inadequate condition such as annealing temperature or simply because the locus was not appropriate to the two studied species since it was not developed for these species (O'Brien *et al.,* 2007).

Our genotyping success rates (Table 2) for both species are high in comparison to those obtained by Baldwin *et al.,* (2010) for the grey-headed fox (*Pteropus poliocephalus*: 57%) and by Viglino *et al.*, (2016) for mouse-eared bats (*Myotis capaccinii, M. emarginatus* and *M. daubenonii*: 53%). However, our results are comparable to those obtained in other studies for different mammal species: European insectivorous bats (*Rhinolophus hipposideros:* 96%, Puechmaille and Petit, 2007; *Myotis mystacinus:* 72–88% and *Myotis nattereri:* 72–90%, Boston *et al.,* 2012) and large primates (*Pan troglodytes:* 79%, Morin *et al.,* 2001).

Two main hypotheses could explain the high genotyping success rate obtained in our study. First, using only mtDNA-positive samples for microsatellite genotyping allowed good quality samples to be selected prior to genotyping, increasing the success rate. Second, the high rate of genotyping success and low genotyping error rate obtained during our study (table 2) could be explained by DNA extraction protocols and conditions, which are, according to Boston *et al.* (2012), two of the most important factors impacting genotyping success. Our fecal samples were extracted in strictly monitored conditions in a laboratory specialized in degraded and sensitive DNA (the "ADN dégradé" platform of the LabEx CeMEB, Montpellier, France). Furthermore, the DNA was extracted using a specialized kit for food DNA extraction, which has been recommended for noninvasive DNA extraction

(Zarzoso-Lacoste *et al.,* 2013). Using an appropriate extraction kit allows genotyping errors to be reduced, which increases the accuracy of genetic results (Puechmaille and Petit, 2007; Boston *et al.,* 2012).

6- CONCLUSION

Our results confirm the potential of using NIGS to provide genetic and demographic data on frugivorous tropical bats, including flying foxes; data which is urgently needed in order to recommend relevant conservation actions. The risk of NIGS is that an accumulation of genotyping errors can lead to bias and false interpretations with potentially negative consequences. For example, a high rate of false alleles might lead to inflated observed heterozygosity, incorrect genetic diversity or inaccurate population size estimations, resulting in inappropriate conservation management measures. It is thus crucial to develop relevant protocols for such noninvasive sampling techniques. Despite we show that NIGS are relevant, we have the feeling that the protocol we used can be optimized to provide higher rate of amplification.

Collecting fecal sample from frugivorous animals such as flying fox in humid forest at wet season is sensitive because fecal are relatively liquid due to the frugivorous diet and because of the rainfall. In such conditions, using plastic trap for feces collection, as we did, might not be the optimal protocol. We should rather use a cloth just above the plastic which could allow fecal samples to dry quickly by filtration. We also recommend sampling during dry season if possible. When using silica gel conservation method, we recommend that samples must be checked regularly to verify for potential saturation. In some case, silica gel must be replaced to avoid mildew and saturation. However, this process must be done with caution to avoid sample contamination. During our analysis we do not found any influence of conservation duration on the PCR success rate, but according to some studies PCR success rate decreases with the conservation duration, so we recommend a minimum of conservation duration to minimize DNA degradation. In the lab process, we recommend to test for different extraction Kits and protocols to select the more efficient one. According to Taberlet *et al*. (1997), the use of a multiple-tubes approach allows the genotyping error rate to be verified, increasing result accuracy and minimizing false interpretations. However, this protocol can be time-consuming and costly if a pilot study is not carried out before genotyping. We recommend the use of mtDNA amplification to first identify samples with

good quality DNA for the targeted species if species can be identified with mtDNA and to select these before genotyping, thus reducing subsequent time and costs.

Acknowledgments

We would like to thank the Comoros National Direction of Environment and Forests, the Earth Sciences Department of the University of the Comoros for permission to carry out fieldworks and to export feces samples (authorization number 002/KM/15/DNEF). Much of the fieldwork was funded by the Rufford Foundation through a Research Support Grant. Lab analyses are partly funded by the Islamic Development Bank (IDB). The data used in this study was generated at the facility of the platform of “Genotypage-Séquençage” and “ADN dégradé” of the LabEx CeMEB Montpellier, France.

LITERATURE CITED

Afonso, E., Goydadin, A.-C., Giraudoux, P., Farny, G., 2017. Investigating Hybridization between the Two Sibling Bat Species Myotis myotis and M. blythii from Guano in a Natural Mixed Maternity Colony. PLoS One 12, e0170534. doi:10.1371/journal.pone.0170534

Almeida, F.C., Giannini, N.P., Simmons, N.B., Helgen, K.M., 2014. Each flying fox on its own branch: A phylogenetic tree for Pteropus and related genera (Chiroptera: Pteropodidae). Mol. Phylogenet. Evol. 77, 83–95. doi:10.1016/j.ympev.2014.03.009

Baldwin, H.J., Hoggard, S.J., Snoyman, S.T., Stow, A.J., Brown, C., 2010. Non-invasive genetic sampling of faecal material and hair from the grey-headed flying-fox (Pteropus poliocephalus). Aust. Mammal. 32, 56–61. doi:10.1071/AM09015

Boston, E.S.M., Puechmaille, S.J., Scott, D.D., Buckley, D.J., Lundy, M.G., Montgomery, I.W., Prodöhl, P. a., Teeling, E.C., 2012. Empirical Assessment of Non-Invasive Population Genetics in Bats: Comparison of DNA Quality from Faecal and Tissue Samples. Acta Chiropterologica 14, 45–52. doi:10.3161/150811012X654259

Brinkman, T.J., Schwartz, M.K., Person, D.K., Pilgrim, K.L., Hundertmark, K.J., 2009. Effects of time and rainfall on PCR success using DNA extracted from deer fecal pellets. Conserv. Genet. 11, 1547–1552. doi:10.1007/s10592-009-9928-7

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. doi:10.1007/s10592-006-9146-5

Broquet, T., Petit, E., 2004. Quantifying genotyping errors in noninvasive population genetics. Mol. Ecol. 13, 3601–3608. doi:10.1111/j.1365-294X.2004.02352.x

Chan, L.M., Goodman, S.M., Nowak, M.D., Weisrock, D.W., Yoder, A.D., 2011. Increased population sampling confirms low genetic divergence among Pteropus (Chiroptera: Pteropodidae) fruit bats of Madagascar and other western Indian Ocean islands. PLoS Curr. 21, 1–17. doi:10.1371/currents.RRN1226

Goodman, S.M., Puechmaille, S.J., Friedli-Weyeneth, N., Gerlach, J., Ruedi, M., Schoeman, M.C., Stanley, W.T., Teeling, E.C., 2012. Phylogeny of the Emballonurini (Emballonuridae) with descriptions of a new genus and species from Madagascar. J. Mammal. 93, 1440–1455. doi:10.1644/11-MAMM-A-271.1

Irwin, D.M., Kocher, T.D., Wilson, A.C., 1991. Evolution of the Cytochrome b Gene of Mammals. J. Mol. Evol. 32, 128–144.

Marucco, F., Pletscher, D.H., Boitani, L., Schwartz, M.K., Pilgrim, K.L., Lebreton, J.D., 2009. Wolf survival and population trend using non-invasive capture-recapture techniques in the Western Alps. J. Appl. Ecol. 46, 1003–1010. doi:10.1111/j.1365-2664.2009.01696.x

Morin, P.A., Chambers, K.E., Boesch, C., Vigilant, L., 2001. Quantitative polymerase chain reaction analysis of DNA from noninvasive samples for accurate microsatellite

genotyping of wild chimpanzees (Pan troglodytesverus). Mol. Ecol. 10, 1835–1844. doi:10.1046/j.0962-1083.2001.01308.x

Murphy, M.A., Waits, L.P., Kendall, K.C., 2003. The influence of diet on faecal DNA amplification and sex identification in brown bears (Ursus arctos). Mol. Ecol. 12, 2261–2265. doi:10.1046/j.1365-294X.2003.01863.x

Murphy, M.A., Waits, L.P., Kendall, K.C., Wasser, S.K., Hibgee, J.A., Bogden, R., 2002. An evaluation of long-term preservation methods for brown bear (Ursus arctos) faecal DNA samples. Wildl. Soc. Bull. 3, 435–440.

O'Brien, J., Mariani, C., Olson, L., Russell, A.L., Say, L., Yoder, A.D., Hayden, T.J., 2009. Multiple colonisations of the western Indian Ocean by Pteropus fruit bats (Megachiroptera: Pteropodidae): The furthest islands were colonised first. Mol. Phylogenet. Evol. 51, 294–303. doi:10.1016/j.ympev.2009.02.010

O'Brien, J., McCracken, G.F., Say, L., Hayden, T.J., 2007. Rodrigues fruit bats (Pteropus rodricensis, Megachiroptera: Pteropodidae) retain genetic diversity despite population declines and founder events. Conserv. Genet. 8, 1073–1082. doi:10.1007/s10592-006-9263-1

Palomares, F., Godoy, J.A., Piriz, A., O'Brien, S.J., Johnson, W.E., 2002. Faecal genetic analysis to determine the presence and distribution of elusive carnivores: Design and feasibility for the Iberian lynx. Mol. Ecol. 11, 2171–2182. doi:10.1046/j.1365-294X.2002.01608.x

Puechmaille, S.E.J.P., Mathy, G.M., Petit, E.R.I.C.J.P., 2007. Good DNA from bat droppings. Acta Chiropterologica 9, 269–276.

Puechmaille, S.J., Petit, E.J., 2007. Empirical evaluation of non-invasive capture – mark – recapture estimation of population size based on a single sampling session 843–852. doi:10.1111/j.1365-2664.2007.01321.x

Puechmaille, S.J., Teeling, E.C., 2014. Non-invasive genetics can help find rare species: A case study with Rhinolophus mehelyi and R. euryale (Rhinolophidae: Chiroptera) in Western Europe. Mammalia 78, 251–255. doi:10.1515/mammalia-2013-0040

R Development Core Team, 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Found. Stat. Comput. Vienna Austria 0, {ISBN} 3-900051-07-0. doi:10.1038/sj.hdy.6800737

Roeder, A.D., Archer, F.I., Poinar, H.N., Morin, P.A., 2004. A novel method for collection and preservation of faeces for genetic studies. Mol. Ecol. Notes 4, 761–764. doi:10.1111/j.1471-8286.2004.00737.x

Ruedi, M., Friedli-weyeneth, N., Teeling, E.C., Puechmaille, S.J., Goodman, S.M., 2012. Molecular Phylogenetics and Evolution Biogeography of Old World emballonurine bats (Chiroptera : Emballonuridae) inferred with mitochondrial and nuclear DNA. Mol. Phylogenet. Evol. 64, 204–211. doi:10.1016/j.ympev.2012.03.019

Sewall, B., Freestone, A.L., Moutui, M.F., Toilibou, N., Said, I., Attoumane, D., Toumani, S.M., Iboura, C.M., 2011. Rainforest Reserves for Critically Endangered Comorian Fruit Bats Rainforest Reserves for Critically Endangered Comorian Fruit Bats 1–21.

Sharma, R., Arora, N., Goossens, B., Nater, A., Morf, N., Salmona, J., Michael W.Bruford, Schaik, C.P., Krutzen, M., Chikhi, L., 2012. Effective Population Size Dynamics and the Demographic Collapse of Bornean Orang-Utans (PDF Download Available).pdf. PLoS One 7, 1–11.

Taberlet, P., Camarra, J.J., Griffin, S., Uhres, E., Hanotte, O., Waits, L.P., DuboisPaganon, C., Burke, T., Bouvet, J., 1997. Noninvasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population. Mol. Ecol. 6, 869–876. doi:10.1111/j.1365-294X.1997.tb00141.x

Taberlet, P., Waits, L.P., Luikart, G., 1999. Noninvasive genetic samplig: look before you leap. TREE 14, 223–227.

Viglino, A., Caniglia, R., Ruiz-Gonzalez, A., Russo, D., Galaverini, M., Toffoli, R., Culasso, P., Bernardi, P. De, Patriarca, E., Agnelli, P., Farina, F., Mastrobuoni, G., Martinoli, A., Randi, E., 2016. What can we learn from faeces ? Assessing genotyping success and genetic variability in three mouse-eared bat species ... Hystrix, Ital. J. Mammal. 7. doi:10.4404/hystrix-27.2-11835

Zarzoso-Lacoste, D., Corse, E., Vidal, E., 2013. Improving PCR detection of prey in molecular diet studies: Importance of group-specific primer set selection and extraction protocol performances. Mol. Ecol. Resour. 13, 117–127. doi:10.1111/1755-0998.12029

3.2- Profil génétique contrasté entre deux espèces de chauves-souris frugivores sympatriques: Implication pour la conservation des populations menacées



Pteropus livingstonii

Mpagé, Anjouan, Comores

Photo: © Mohamed-Thani

Contrasted genetic patterns between two endemic and sympatric flying fox species from the Comoros Islands: implications for conservation of threatened populations of islands

IBOUROI Mohamed Thani, BESNARD Aurélien, CHEHA Ali, ARNAL Veronique, LAGADEC Erwan, TORTOSA Pablo, LE MINTER Gildas, HAMIDOU HAMADA Soulé, DHURHAM Said Ali Ousseni, MONTGELARD Claudine

Article à soumettre à ***Biological Conservation***

Contexte

L'archipel des Comores héberge une diversité biologique importante en termes de taxons endémiques avec une diversité de paysages naturels qui présentent de grandes affinités avec la zone biogéographique de Madagascar. Le pays subit cependant une importante perte d'habitats naturels et a été classé en numéro 1 des pays dont la vitesse de perte d'habitats est importante (9,3% par an). *Pteropus livingstonii* et *P. seychellensis* comorensis sont deux espèces de roussettes géantes parmi les taxons les plus victimes de ces pertes d'habitats. Parmi ces deux espèces de mégachiroptères, *Pteropus livingstonii* est particulièrement vulnérable vis-à-vis de la perte des habitats à cause de sa distribution géographique très restreinte dans les forêts naturelles de hautes altitudes et ceci dans seulement deux des quatre îles Comores (Anjouan et Mohéli). Cette dernière espèce présente de plus une taille de population faible (1300 individus), qui la rend très vulnérable à court terme aux perturbations. De plus, sa possibilité de dispersion en réponse aux perturbations est limitée du fait de son isolement géographique entre les deux îles des Comores (Anjouan et Mohéli). Quant à *P. s. comorensis*, elle dispose d'une large distribution dans les quatre îles mais aussi dans l'île de Mafia en Tanzanie et peut s'adapter facilement à différents types d'habitats (zone de plantations, forêt dégradée, villages etc.). Elle apparaît donc comme moins menacée à court terme.

Une perte importante de l'habitat d'une espèce mais aussi sa fragmentation entraine une réduction des effectifs de la population et son isolement géographique. Cette population réduite et isolée géographiquement va voir sa diversité génétique se réduire, conduisant ainsi à une augmentation des phénomènes stochastiques tels que la dérive génétique ; ce qui accroit la vulnérabilité par perte du pouvoir adaptatif avec augmentation du risque d'extinction de l'espèce. Cependant, du fait de la vitesse alarmante de la perte

d'habitats naturels aux Comores, l'étude de la diversité génétique pour les deux espèces est particulièrement pertinente dans un but de déterminer leur taux de vulnérabilité vis-à-vis de ces pertes d'habitats. Les études de la structuration génétique permettent de proposer les différentes unités de gestion à considérer pour des plans efficaces de conservation.

Cette partie de la thèse a pour objectifs d'évaluer la diversité genetique et la structuration des populations des deux espèces entre les îles de l'archipel des Comores. Nous avons utilisé les resultats obtenus dans cette études pour discuter des differentes pressions impactant ces espèces et de proposer des messures adaptées à leur conservation.

Materiels et Méthodes

Au cours de cette étude, nous avons realisé un echantillonnage de tissus et de fèces pour les deux espèces. Pour les methodes de terrain et analyse en laboratoire (voire chapitre 3.1)

Résultats principaux

Les résultats obtenus dans cette études montrent des patrons de structures génétiques différents chez les deux espèces. *P. s. comorensis* présente une faible differentiation génétique entre les quatre îles et ceci est souligné par les deux types de marqueurs génétiques employés. Cette differentiation est plus faible dans les îles plus proches que les îles éloignées. Selon l'analyse des réseaux, les populations des quatres îles partagent les mêmes haplotypes.

Contraiment à ces resultats, *P. livingstonii* presente un taux de differentiation génétique élevé observé sur les deux types de marqueurs. Selon nos resultats issus du marqueur mitochondraux, aucun haplotype n'est partagé entre les populations des deux îles où se localise *P. livingstonii*.

Quant aux analyses sur la diversité génétique, cette étude suggere une diversité genetique relativement faible pour les deux espèces, plus faible chez *P. s. comorensis* que chez *P. livingstonii*.

Trois hypotheses expliquent ces differents patrons de structure genetiques chez ces espèces phylogenetiquement proches : des raisons morphologiques liées à la capacité de vol, des raisons liées à la disponibilité des ressources notamment alimentaires et dortoirs ou des raisons liées à leurs histoirs de colonisations des îles.

Pteropus s. comorensis est caracterisé par un type de vol rapide mais peu efficace pour se deplacer sur de longues distances. Cette capacité de dispersion permet surement aux individus de traverser la bande de mer séparant Mohéli de la Grande Comore et Ajouan de Mohéli mais n'est surement pas suffisante pour la traverser regulièrement la distance separant Anjouan de Mayotte, Grande Comore et Ajouan et Mayotte et Grande Comore. De plus cette espèces est caracterisée par une taille de population elevée ce qui peut entrainer de la competition entre les individus pour les ressources notamment alimentaires. D'autre part, l'espèce se localise dans des zones hautement anthropisées et se nourit des plantes majoritairement cultivées par les humains, ce qui conduit egalement à des fortes compétitions avec les Hommes pour les ressources. Enfin, la localisation de cette espèce dans des zones antropisées impacte les animaux du fait qu'un grand nombre de dortoirs sont abattus pour l'utilisation du bois. Tous ces facteurs pourrait conduire cette espèces à disperser pour trouver des zones plus favorables même separées par des longues distances telles que entre Ajouan et Mohéli ou Grande Comore et Mohéli.

P. livingstonii est quant à elle caracterisé par un type de vol plané, lent mais efficace pour pouvoir traverser sur de longues distances. Ceci montre que les caracteristiques morphologiques de cette espèce ne permet pas d'expliquer le taux de structure genetique elevé observé entre les îles. L'espèce est caracterisée par une taille de population faible, limitant la compétition entre individus. Elle est aussi caractérisée par une distribution dans des zones montagneuse où l'acces aux humains est difficile ce qui limite la destruction des dortoirs et la chasse, reduisant potentiellement les tendance à la dispersion chez cette espèce. Enfin, cette espèce s'alimente dans des plantes sauvages et endemiques des îles très localisées dans des milieux forestières, ce qui limite la competition avec les humains et pourrait ainsi reduire encore plus les tendances à disperser sur de longues distances.

Les deux espèces de chauves-souris sont caractérisées par une diversité génétique faible en comparaison avec d'autres espèces de roussette de la même région. Etant des espèces insulaires, cette faible diversité les rend vulnérables des actions humaines. Etant donnée la vitesse de perte d'habitat dans ces îles, nos résultats suggèrent que des actions concrètes de conservation sont nécessaires pour assurer la survie à long terme de ces populations.

Pour *P. s. comorensis*, sa faible structuration génétique nous amène à suggérer la conservation de l'espèce sous une seule unité de gestion avec une conservation de son habitat, dans sa globalité au niveau national.

Quant à *P. livingstonii*, du fait d'une forte structure génétique entre les deux îles mais aussi du fait que les deux îles ne soient pas soumises aux mêmes vitesses de perte d'habitats, nous suggérons une stratégie de conservation sous deux unités de gestion. En particulier nous suggérerons de prioriser l'île d'Anjouan pour des actions concrètes de conservation du fait d'une diversité génétique plus élevée dans cette île mais aussi du fait d'une perte d'habitats bien plus marquée dans cette île que dans l'autre.

Enfin, nous suggérons de restaurer la connectivité de cette espèce par replantation des zones situées entre les différents sites dortoirs proches afin de maintenir le niveau actuel de diversité génétique.

Contrasted genetic patterns between two endemic and sympatric flying fox species from the Comoros Islands: implications for conservation of threatened populations of islands

IBOUROI Mohamed Thani [1,2], BESNARD Aurélien[1], CHEHA Ali[3], ARNAL Veronique[1], LAGADEC Erwan[4], TORTOSA Pablo[4], LE MINTER Gildas[4], HAMIDOU HAMADA Soulé[5], DHURHAM Said Ali Ousseni[6] and MONTGELARD Claudine[1]

1-EPHE, PSL Research University, CNRS, UM, SupAgro, IRD, INRA, UMR 5175 CEFE, F-34293 Montpellier, FRANCE

2-Institut des Sciences et Industrie du Vivant et de l'environnement, AgroParisTech, 19 Avenue de Maine 75015 Paris, France

3-Centre National de Documentation et de la Recherche Scientifique (CNDRS), Moroni Comores

4-Centre de Recherche et de Veille sur les maladies émergentes dans l'Océan Indien (CRVOI), Plateforme de Recherche CYROI, Sainte Clotilde, Réunion Island, France

5- Faculté des Sciences et techniques, Université des Comores BP 2585 Moroni Comores

6-Département de Biologie Animale et Ecologie, Faculté des Sciences, Université de Mahajanga, Campus Universitaire d'Ambondrona, BP 652, Mahajanga, Madagascar

1-ABSTRACTS

Pteropus livingstonii and *P. seychellensis comorensis* are two endemic fruit bat species among the most threatened animals of the Comoros archipelago. The two species are subjected to strong anthropogenic pressure with a high rate of habitat loss, one of the highest in the word. Little is known about their population genetics and structures making difficult the establishment of relevant conservation strategies. In this study, we characterized the genetic diversity and population differentiation between flying fox populations of the four islands of the Comores using both mitochondrial DNA (mtDNA) and microsatellite markers. Our results from mtDNA and microsatellite loci revealed different patterns of genetic structures for the two species. *P. s. comorensis* showed low genetic structuring between islands while we identified high levels of mtDNA and microsatellite genetic differentiations between islands for *P. livingstonii*. Overall genetic analysis shows a low genetic diversity for both fruit bats species. Several non eclusive factors may have led to theses contrasted genetic patterns between the two species, such as differences in feeding and roosting ecology, variable population sizes and possibly different population evolutionary history. Our results regarding genetic diversity support the idea that natural forest loss and roost disturbances are among the factors that impact the most fruit bats in these islands by reducing population abundance which in turns induce inbreeding. we suggest to consider the two populations of *P. livingstonii* from the two islands (Anjouan ad Mohéli) as two different management units and first focus conservation efforts on the Anjouan population. The four populations of *P. s. comorensis* could be considered as a single management unit. We conclude that the two fruit bat species and their habitat are of high priority in term of conservation at the Comoros archipelagos scale.

Key words: Comoros islands, Fruit bats, Population genetics, Mitochondrial DNA, Microsatellites,

2- INTRODUCTION

All ecosystems at global scale, including tropical and sub-tropical forests, are facing a huge rate of deterioration. In consequence, the majority of species they host is experiencing dramatic declines (Bender et al 1998, Wiegand et al. 2005). The current global extinction rate for animals and plants is estimated to be 100 to 1000 times greater than those of the pre-human times (Baillie et al., 2004; Hooper et al., 2012; McAlpine et al., 2016). These species extinctions are mainly induced by anthropogenic pressures especially the conversion of natural habitats into agricultural lands and urban areas (Gaston et al., 2003; Mattison and Norris, 2005). These transformations have two main effects on populations: (i) the reduction of suitable habitat surfaces through habitat loss that in turn leads to lower carrying capacity that eventually affects population viability and (ii) the creation of isolated habitat patches through habitat fragmentation that reduces the connectivity and prevents gene flow between sub-populations (Brown and Kodric-brown, 2016; Cushman, 2006; Weigelt and Kreft, 2013).

Insular animals are among the most threatened fauna at relatively short term. These species are often characterized by small population sizes that make populations prone to allee effect and susceptible to disturbance in terms of demography (Donlan and Wilcox, 2008; Nogales et al., 2013). In addition, their dispersal ability in response to habitat degradation is limited because of their geographical isolation (Paulay, 1994). This limited dispersal ability has negative impacts on terms of population viability by reducing gene flows between sub-populations. It induces the loss of genetic diversity favoring stochastic phenomena such as genetic drift or inbreeding depression (Brown and Kodric-brown, 2016; Jackson and Fahrig, 2016). This subsequently conducts to a decrease of species' evolutionary potential and eventually affects its ability to cope with the current and future habitat change, thus decreasing its long term viability (Soule et al., 1988; Weigelt and Kreft, 2013). In these conditions, habitat loss and fragmentation may rapidly lead to disastrous demographic and genetic alterations in species from islands that may conduct to their extinction (Donlan and Wilcox, 2008).

Species of the genus *Pteropus* or "*flying foxes"* are among island bat species affected both by geographic isolation and the disastrous consequences of habitat degradation induced by humans (Mildenstein et al., 2005). Most of these species are confined to remote

oceanic islands in both the indian and pacific oceans (Voigt and Kingston, 2015). According to the International Union of Conservation of Nature (IUCN), among the insular flying foxes, four species are nowadays extinct - ***Pteropus tokudae*** from the Guam Islands (extinct by 1970), ***P. subniger*** from the Mauritius and La Reunion Islands (extinct between 1864 and 1873), ***P. brunneus*** from the Percy Islands (extinct around 1880) and ***P. pilosus*** from the Palau Islands (extinct before 1874, IUCN 2017). In addition, five flying fox species are classified as "critically endangered" and five others as "endangered" in the IUCN red list (IUCN 2017). All these species are endemic to islands. Among the members of the genus *Pteropus*, five and twenty species are classified as "near threatened" and "vulnerable" respectively and most of these species are also located in islands (IUCN 2017). Flying fox species are mostly endemic species from islands and currently suffer very high extinction risks (Brown et al 2011). Details investigations of pressures acting on these species as well as the definition of relevant conservation actions are crucially needed to assure their viability.

Although most species of flying fox are known for their high dispersal abilities and their long distance movements between separated islands allowing sub-populations to be genetically connected (Brown et al., 2011; Fox et al., 2012; Larsen et al., 2014; Sinclair et al., 1996), other island flying foxes are known to be genetically isolated even between relatively adjacent islands (Russell et al., 2016). For example, in the southwest pacific, close genetic affinities were found between two subspecies of *Pteropus tonganus* from Fiji and Solomon archipelagos that are separated by approximately 2500 km (Ingleby and Colgan, 2003). *P. tonganus* from Solomon and Fiji archipelago and *P. conspicillatus* from Australia and New Guinea are also genetically similar while Solomon and Australia are separated by approximately 1700 km and Solomon and New-Guinea by about 800 km. In contrast, in the group of islands of the indian ocean, flying fox species exhibit considerable levels of endemism even between close islands such as Comoros and Madagascar separated by approximately 300 km (Ingleby and Colgan, 2003; O'Brien, 2011).

Pteropus livingstonii and *P. seychellensis comorensis* are two flying fox species endemics to the Comoros Islands. These two sympatric species show marked differences in terms of roosting and feeding behavior and population evolutionary history (O'Brien et al., 2009; Trewhella et al., 2001). *Pteropus livingstonii* is confined into mountain forests of two islands among the four of the Comoros archipelago, Anjouan and Mohéli Islands (separated approximately by 43 km). This species has a small geographic distribution (113.6km²) and a

small population size (1300 individuals, Daniel et al 2016). It is classified as “critically endangered” in the red list of the IUCN (IUCN 2017, Sewall et al., 2016).

In contrast, *P. seychellensis comorensis* is widely distributed over the four islands of Comoros (Grande Comore, Anjouan, Mohéli and Mayotte) separated by a mean distance of 60 km (range 40 to 80km). Some populations of this sub-species are also located in the Mafia Islands (Tanzania), located aproximatively 550 km from the Grande Comore (Cheke 2011). *P. s. comorensis* has thus a relatively large geographic distribution compared to *P. livingstonii*. Population size for this species is unknown but exceed tens of thousands individuals (Ibouroi et al, submitted) and the species is classifed as “Least Concern” in the IUCN red list because of this large distribution (Mickleburgh et al. 2008, IUCN 2017).

These two species are pollinators and seed dispersers and are thus of crucial importance both for the forest regeneration and for plantations (Sewall et al., 2007). They are however facing one of the highest rates of natural habitat loss (9.3% per year) in the world (FAO 2010; Daniel et al., 2016) and will probably suffer a dramatic decline in the coming years if an urgent conservation measures are not taken in consideration (Sewall et al., 2007, Daniel et al., 2016). Yet despite these pressures, their ecology, population status or genetic structure are poorly known.

Here we present the first population genetic study for *Pteropus livingstonii* and *P. seychellensis comorensis* using both mitochodrial and microsatellite markers. We aim at assessing for both species the level of genetic diversity and the genetic structure between the Comoros Islands and to discuss the different pressures acting on these flying fox species in order to propose some management measures. Evaluating the level of genetic diversity is important to assess whether the species exhibit a risk of allee effect or not but also to assess their ability to cope with environmental changes in the future (Gaubert et al., 2016) while the level of genetic structure and gene flow between sub-populations is necessary to identify the different management units to consider when proposing conservation actions.

3- MATERIALS AND METHODS

3.1- Field sampling

Field sampling was conducted in the four islands of the Comoros archipelago between 2014 and 2016. Tissue and fecal samples were collected on the two flying fox

species for genetic analysis. For fecal sample collections, a plastic trap was placed below each roosting tree from 6:00 pm to 8:00 am in order to collect up to 15 samples of droppings for each species. These fecal samples were then placed into 5-ml tubes containing 96° ethanol or silica gel. The samples were kept at room temperature (between 20 and 30 °C) in the Comoros Islands before being transported to France and frozen (-4 °C) until DNA extraction. For tissue sample collections, individuals were captured using a black nylon mist net (mesh of 45 mm, 12 m long, 3m high, four pockets). Small ear muscle samples from each captured individual were then collected and placed into 1.5 ml tube containing 96° and 70° ethanol for individuals from the three Islands of the Union of Comoros and Mayotte, respectively. All captured individuals were directly released at the capture location few minutes after capture.

3.2-Laboratory process

For fecal samples, DNA was extracted at the "Degraded DNA platform" of the LABEX CeMEB (University of Montpellier) using a kit QIAGEN (DNeasy mericon Food N°69514). DNA from tissue samples was extracted using the DNeasy blood and tissue kit (N°69506) in the "Service des Marqueurs Génétiques en Ecologie" of the CEFE (Montpellier). For both types of DNA, we followed manufacturer's protocols. For both tissue and fecal samples, DNA were amplified with Polymorphism Chain Reaction (PCR) using mitochondrial DNA (460 bp cytochrome b, mtDNA) and 7 microsatellite loci (A1, C6, PH9, A2, CSP7, A3, and B29) developed for *P. rodricensis* (O'Brien et al 2007). For more details regarding the laboratory process see Ibouroi et al. (submitted).

3.3-Analytical methods

3.3.1mtDNA analysis

For fecal samples, all amplified sequences were checked to belong to the targeted species using GenBank sequences, namely 20 cytochrome b sequences for *P .s. comorensis* and 10 cytochrome b sequences for *P. livingstonii (Table s1)*. We constructed a phylogenetic tree based on maximum likelihood methods in the software MEGA (Tamura et al., 2013) with the HKY+I model in order to assess the phylogenetic relationships between our samples from different islands but also between our samples and all sequences extracted from GenBank for the two species. To compare our genetic diversity results to those from other

species of flying foxes from the indian ocean islands and Asia, extracted mtDNA sequences for different flying fox species from GenBank (Table 1) were aligned according to sequence sizes we get in our analyses (~400 bp). For each species, genetic diversity was assessed by the basic statistic mtDNA parameters including the number of haplotype (H), haplotype diversity (Hd), nucleotide diversity (pi) and the number of segregation sites (s) using the program DNASP 5.10.01 (Librado and Rozas, 2009).

Population differentiation among islands was assessed using the paired-Fst test implemented in the program DNASP. To assess relationships among flying fox haplotypes and the genetic structure between islands, a median-joining method was built using the program NETWORK (Bandelt et al., 1999).

3.3.2-Microsatellite analysis

The presence of null alleles across all loci was checked using the program Micro-Checker v.2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2004). Genetic diversity was measured as the mean number of alleles per locus (Na), observed (Ho) and expected (He) heterozygosity, and inbreeding coefficient (Fis) using the program GenAlEx 6.1 (Peakall and Smouse, 2012). Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was tested with 1000 iterations in the program Genepop 4.010 (Rousset, 2008). Pairwise Fst between island populations were calculated using the program GenAlEx 6.1. We also conducted an analysis of molecular variance (AMOVA) to investigate the allocation of the molecular genetic variation among islands using the program GenAlEx 6.1. Population differentiation was considered as significant when p-value was below 0.05. The genetic structure of populations was assessed using a Bayesian clustering method without priors regarding sampling location using the program STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). Population structure was evaluated using a set of defined clusters K varying from K=1 to 7 for each species. STRUCTURE was run with 10 replicates for each value of K with a burn-in length of 1,000,000 followed by 1,000,000 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) iterations. The most likely value of K was determined by tracing the graph of the log likelihood for each K (Ln(K)) as a function of K using the package pophelper (Francis, 2016) in the environment R 3.3.2 (R Development Core Team, 2016).

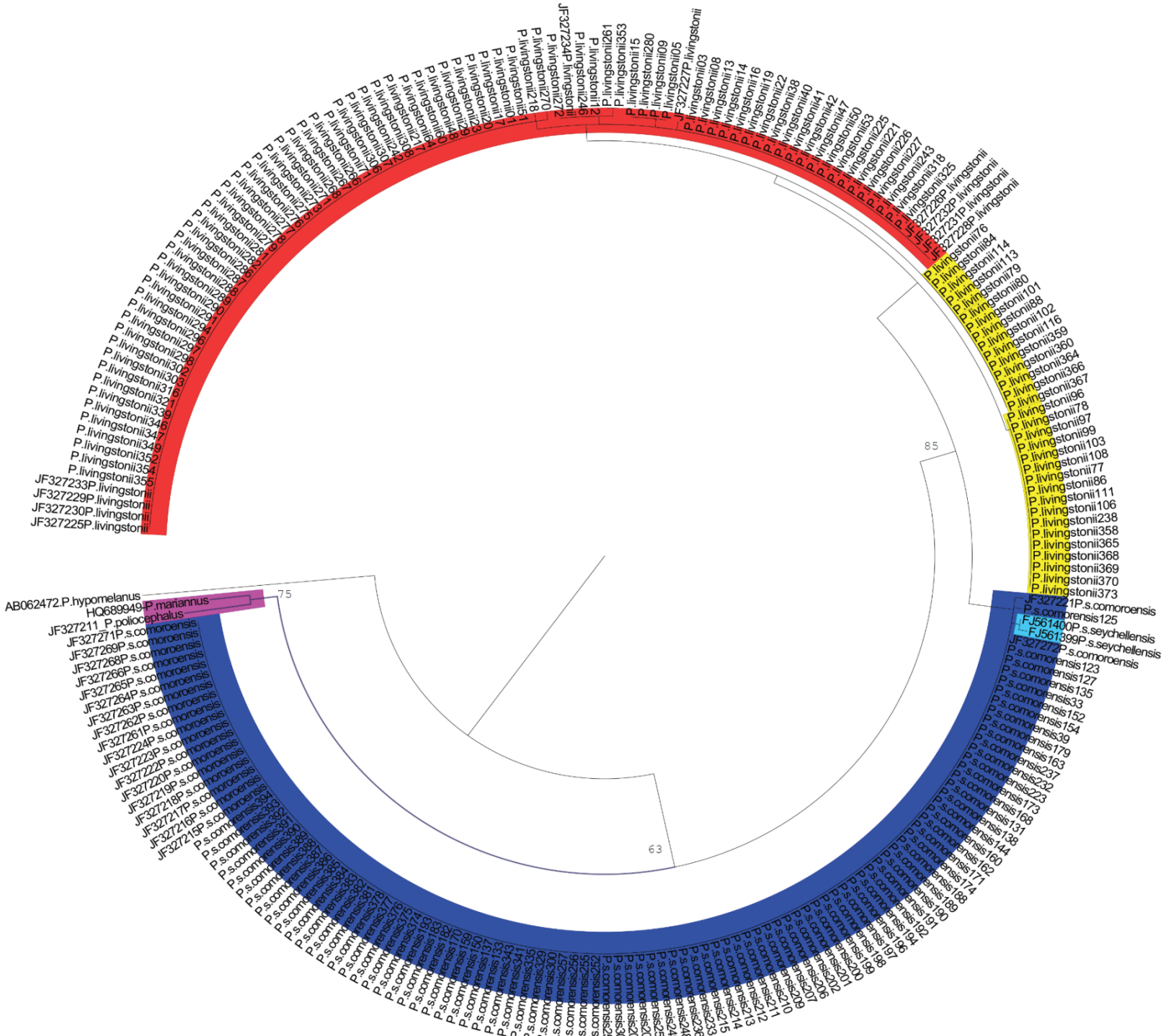
We also used BOTTLENECK v1.2.02 (Piry et al., 1999) to test for a recent bottleneck for *P. livingstonii*. For *P. s. comorensis,* we did not test for recent bottleneck because one locus deviated from the HWE and another one was monomorph for three populations (Table

S2) and we assumed that the five remaining loci are not sufficient to test for bottleneck for this species (Cornuet and Luikart 1996). For *P. livingstonii*, measured heterozygosity (He) under the HWE was compared to the expected heterozygosity (Heq) under the mutation-drift equilibrium using the infinite allele model (IAM, Kimura & Crow 1964) and the stepwise mutation model (SMM, Kimura & Ohta 1978) with 1000 iterations to assess heterozygosity excess or deficiency. In non-bottlenecked population, He=Heq (Maltagliati, 2002). A He significantly greater than a Heq (excess of heterozygotes) indicates that the population has suffered a recent bottleneck (Maltagliati, 2002). A Wilcoxon rank test was applied to test for the difference between calculated (He) and expected (Heq). The test was considered significant when p-value was below 0.05.

4- RESULTS

4.1- Sequence authentication

The phylogenetic tree built using all sequences obtained during this study and with GenBank sequences is shown in Figure 1. This phylogenetic tree highlighted that all fecal samples belonged to one of the two species. These sequences are available into GenBank (accession numbers: MF471481 - MF471633). Phylogenetic results demonstrated that *P. s. comorensis* populations from the four islands of Comoros display no geographic structure contrary to its congener *P. livingstonii* for which sequences appeared highly structured between the two islands (Anjouan and Mohéli).



85
75
63
AB062472.P.hypomelanus
HQ689949.P.mariannus
JF327211_P.poliocephalus
JF327221P.s.comoroensis
P.s.comorensis125
FJ561400P.s.seychellensis
FJ561399P.s.seychellensis
JF327272P.s.comoroensis

Figure 1: Contrasting phylogeny between *P. livingstonii* (from Anjouan and Mohéli) and *P.s .comorensis* from the four Islands of Comoros using mtDNA (400 bp cytochrome b). All studied sequences are shown in the graph with the number of sequence and the name of the species. Sample sequences from GenBank are presented with accession number and the name of the species. Sequences for *P. s. comorensis* did not show any structuration between Islands and all are shown in blue color. Two sequences of the sub-species of the Seychelles Island (*P. s. seychellensis*) are presented in sky blue within this group. Sequences for *P. livingstonii* show a high level of structuration between Islands and sequences from Anjouan for this species are presented in red color and sequences from Mohéli are shown in yellow. Bootstrap values > 50 are shown.

4.2-*P. s. comorensis*

4.2.1-Genetic diversity

Details of genetic diversity estimates using both mtDNA and microsatellites are shown on table 1 and table s2. On the 109 *P. s. comorensis* studied sequences (Table 1), we detected two variable sites, resulting in a total of five haplotypes. Haplotype diversity (Hd) was low and varied between islands from 0.41 (Mayotte Island) to 0.60 (Mohéli Island) with an average of 0.50 for the four islands of Comoros. Nucleotide diversity was also low for each island (from 0,001 to 0,002, Table 1).

Table 1: Genetic diversity metrics using both mtDNA and microsatellite loci for the two flying fox species from different Islands of Comoros.

	Genetic Diversity											**Bottleneck**				
	mtDNA					**Microsatellites**						IAM			SMM	
P. livingstonii	Ns	N.H	S	Hd	pi	N	Na	Ho	He	FIS	References	H'e	Heq	P-value	Heq	P-value
Anjouan	90	10	14	0,610	0,003	49	5,285	0,487	0,466	-0,036		0,470	0,500	0,300	0,640	0,120
Moheli	32	3	2	0,610	0,002	23	3,714	0,449	0,483	0,089		0,510	0,420	0,210	0,520	0,220
Total	**122**	**13**	**15**	**0,760**	**0,007**	**72**	**4,500**	**0,468**	**0,475**	**0,102**						
P. s. comorensis																
Anjouan	37	3	2	0,550	0,002	7	4	0,540	0,520	0,080						
Mohéli	13	2	1	0,540	0,002	10	3	0,390	0,390	0,090						
Grande Comore	40	2	1	0,510	0,001	30	5	0,380	0,450	0,1587*						
Mayotte	19	2	1	0,400	0,001	21	4	0,330	0,420	0,2241**						
Total	**109**	**5**	**2**	**0,510**	**0,001**	**68**	**4**	**0,410**	**0,440**	**0,177***						
P. rodricensis																
Total	**5**	**3**	**2**	**0,800**	**0,005**			**0,571**	**0,634**		**O'Brien et al., 2007**					
P. vampyrus																
Total	**34**	**25**	**24**	**0,970**	**0,008**											
P. rufus																
Total	**60**	**9**	**8**	**0,577**	**0,003**											
P. conspicillatus																
Total								**0,783**	**0,799**		**Fox et al., 2012**					

N=Number of individuals, Na=Number of alleles, Ne=Effective number of alleles, No=Observed heterozygosity, He=Expected heterozygosity, H'e= Expected heterozygosity with the bottleneck program, FIS=Inbreeding coefficient, Ns=Number of sequences, NH=Number of haplotypes, Hd=Haplotype diversity, pi=Nucleotide diversity, S=number of segregating sites, * P <0.05, ** P < 0.01, *** P< 0.001. For *P. livingstonii* and *P. s.comorensis*, 10 and 20 sequences respectively come from GenBank.

Regarding the microsatellite markers, among the 7 studied loci, 1 locus (C6) was monomorph for the population of Anjouan, Mohéli and Mayotte and 1 locus (PH9) deviated from HWE in the four islands because of a heterozygosity deficiency (p-value<0.05). All remaining 5 loci were at the HWE (Table s2). The number of allele per locus varied from 2 to 13 with an average of 4.14 but differed between islands. The lowest number of alleles (Na=3) was found in Mohéli Island while the highest value (Na=5) was found in the Grande Comore Island. Expected (He) and observed (Ho) heterozygosities differed also between islands with an average of 0.44 and 0.41 respectively. The lowest value of He is found in the Mohéli Island (He= 0.39) while the highest values were found in the Anjouan Island (He=0.52).

4.2.2- Population structure

Populations from the four islands exhibit low to moderate genetic differentiations for mtDNA markers (Fst varied from 0.02 to 0.12) and according to the median-joining method (haplotype network), the four populations share the same haplotypes (Fig. 3 A). Populations from the Mohéli and Grande Comore Islands (separated by about 40 km) were the closest pair of islands populations (Fst=-0.057), while populations from the Anjouan and Mayotte Islands (separated by 67 km) were the most genetically distant ones (Fst=0.12).

For microsatellite loci, according to the AMOVA test, genetic variation among populations for this species is low (4%). Calculated Fst varied also from low to moderate values for the different population pairs of islands (Table 2). The Anjouan and Mohéli Islands were the closest population (Fst<0.001, p-value =0.44) while the Anjouan and Mayotte Islands were the most distant populations (Fst=0.10, p-value=0.001). According to our Bayesian assignment test (STRUCTURE), the analysis did not detect any cluster and the value of Ln(K) suggested K=1 as the most likely number of clusters (Fig. 2B). These results indicated that populations from the four islands of Comoros for this species share the same haplotypes for mtDNA and are genetically closed for microsatellite loci despite some moderate differentiations.

4.3- *P. livingstonii*

4.3.1- Genetic diversity

Details of the genetic diversity estimates using both mtDNA and microsatellites are presented in table 1 and table s2. For the 122 *P. livingstonii* studied cytb sequences (Table 1), we detected 15 different segregation sites resulting in a total of 13 haplotypes. We obtained moderate value of Hd, differing between islands from 0.59 to 0.60 in Anjouan and Mohéli respectively.

Regarding the microsatellite markers, all loci were polymorphic. As for *P. s. comorensis*, the locus (PH9) deviated from HWE for the Anjouan Island but not for Mohéli. This deviance from HWE is due to an excess of homozygosity. We also detected null alleles for the same locus (PH9) for the Anjouan Island but not for Mohéli. The number of alleles per locus varied from 2 to 9 and average to 5 alleles (Table s2). The number of alleles differed between islands. The lowest mean number of alleles was found in the Mohéli Island (Na=3.7) while the highest value (Na=5.3) was found in the Anjouan Island. Average expected (He) and observed (Ho) heterozygosities were respectively 0.47 and 0.48 for the two islands.

4.3.2- Population structure

With the 122 mtDNA cytochrome b sequences, we found high genetic structure between islands (Fst= 0.8) and according to the median-joining method, no haplotype was shared by the two populations from the two islands of Comoros (see fig 1).

Regarding the microsatellite loci, according to the AMOVA test, the total genetic variation was 17% among population. The estimated pairwise Fst value was high between the two islands (Fst= 0.17, p-value = 0.001). The Bayesian assignation with STRUCTURE suggested that the most likely number of cluster was 2 corresponding to Anjouan and Mohéli Islands (Fig. 2 D and E).

All these results together suggested that populations from the two islands do not share the same haplotypes for mtDNA and are genetically distinct both according to mtDNA and microsatellite loci.

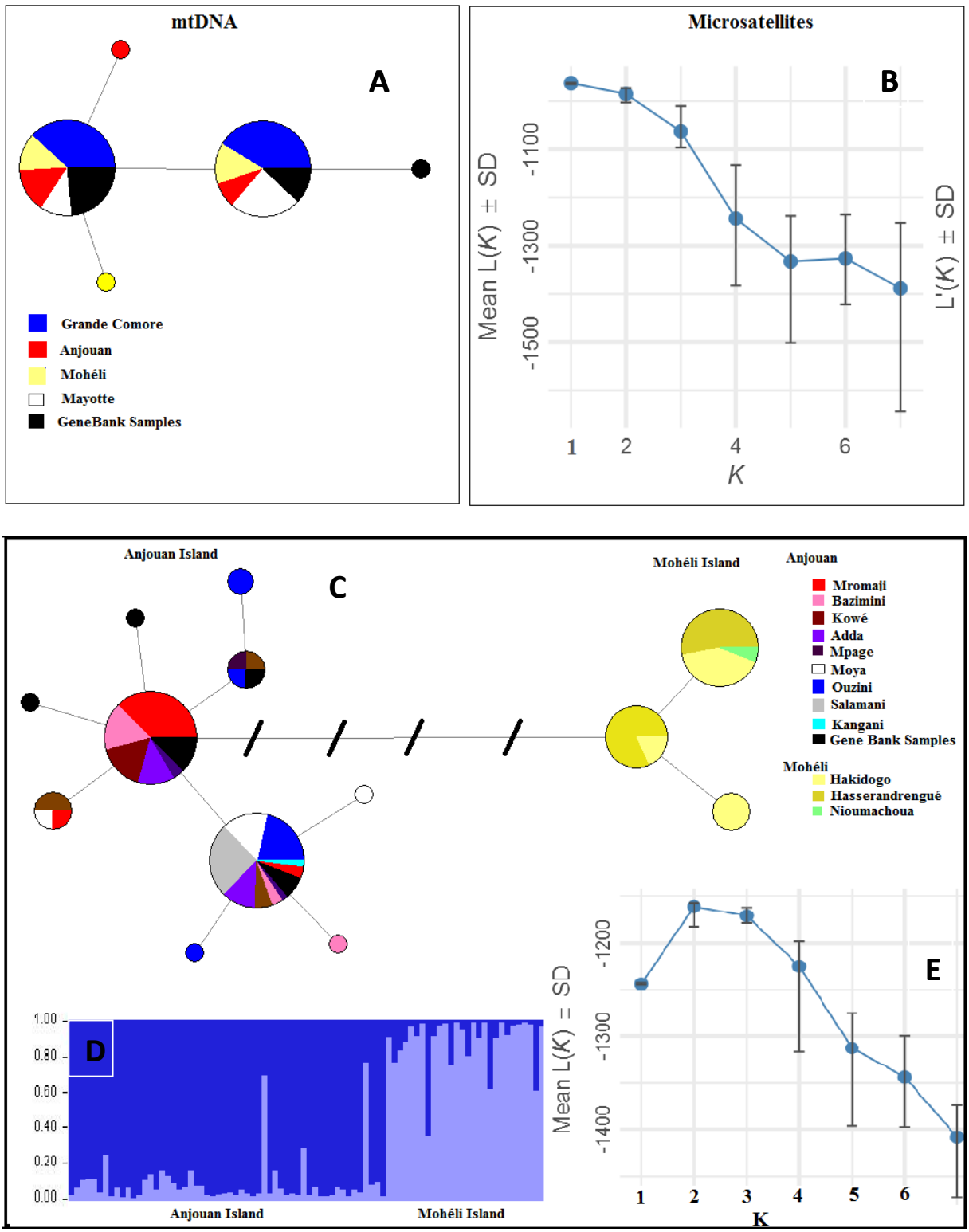


Fig. 2: Genetic differentiation for the two species using both mtDNA and microsatellite loci. A: Median-joining network of the cytochrome b haplotypes of the *P. s. comorensis; B: graph of* the likelihood Ln(K) as a function of K for the *P.s.comorensis (best: K=1), C:* Median-joining network of the cytochrome b haplotypes of *P.livingstonii, D: Bayesian genotype clustering Results of P.livingstonii with STRUCTURE program (K = 2); D: barplots showing … ; E:graph of* the likelihood Ln(K) as a function of K for the *P.livingstonii (best: K=2)*

4.4- Population Bottleneck

Our results showed that *P. livingstonii* did not exhibit an excess of heterozygosity thus did not suffer a recent bottleneck in the two studied islands (Table 1).

4.5- Comparison between the two studied species and other flying fox

Haplotype diversities were high for *P. rodricensis* (Hd=0.97, N=30) and *P. vampyrus* (Hd=0.80, N=5) compared to the two species we studied here. On the contrary, the value of Hd observed for the Malagasy flying fox *P. rufus* (Hd=0.58, N=60, Table 1) was comparable to results obtained for our studded species.

5- DISCUSSION

5.1- Comparison of the genetic structures of *P. livingstonii* and *P. s. comorensis*

Our results both from mtDNA and microsatellite loci revealed marked different patterns of genetic structures for two flying fox species occupying the same archipelago despite they are phylogenetically close and share the same life history traits. *P. s. comorensis* showed low genetic structuring between islands. This low level of genetic differentiation is in line with the results obtained by Chan et al. (2011) using only mtDNA sequences showing low genetic structure between populations from the four islands for this species (Chan et al., 2011). Goodman et al. (2010) obtained similar results for another megachiropteran bat (*Roussettus obliviosus*) from three islands of Comoros (Grande Comore, Anjouan and Mohéli) and concluded that the strips of sea separating these three islands (ranging from 40 to 80 km) do not represent a barrier to dispersal for this species having good flying abilities (Steven M. Goodman et al., 2010). Yet, contrary to the results obtained for *P. s. comorensis*, we identified high levels of mtDNA and microsatellite genetic differentiations between the two Comoros Islands (Anjouan and Mohéli) for *P. livingstonii*.

Such a contrast of genetic structure between two phylogenetically closed species over the same area has already been observed in some flying foxes. Notably, Russell et al. (2016) showed using both mtDNA and microsatellite markers that *P. tonganus* had a low level of genetic structure between the Fiji Islands (separated by about 5 to 100 km) and between the Samoa Islands (separated by about 15 to 100 km), while *P. samoensis* showed a high level of structure between these same islands. Three, not mutually exclusive, hypotheses can be suggested to explain these contrasted genetic patterns observed between the two comorian fruit bat species: (1) differences in dispersal abilities induced by differences in wing morphology, (2) differences in feeding and roosting ecology but also differences in abundances, (3) differences in terms of population evolutionary history, especially regarding island colonization events.

5.1.1- Impact of wing morphology on population genetic structuring

Norberg et al. (2000) showed that the two flying fox species studied here have sharply different wing loading patterns and mentioned that this wing design influences their

dispersal ability (Norberg et al., 2000). *P. s. comorensis* is characterized by a high wing loading associated to non-soaring and flapping flight. These wings allow rapid flight but are inefficient to travel over long distances (Norberg et al., 2000). Interestingly, the level of genetic differentiation for this species is lower between Anjouan and Mohéli Islands and Grande Comore and Mohéli Islands (see Table 2) that are separated by (only) 43 and 40 km respectively. In contrast, the highest genetic differentiations are observed for the Anjouan-Grande Comore and Mayotte-Anjouan pairs of islands that are separated by the largest distances in the archipelago (80km for Grande Comore-Anjouan and 67km for Anjouan-Mayotte). Although the number of islands is too small to test for isolation by distance between populations, these results suggest such a genetic separation related to the distance between islands. These results are thus in line with the fact that wing shapes and flapping flight of *P. s. comorensis* might allow some individuals to cross over the distances between Anjouan and Mohéli or Grande Comore and Mohéli but might not be powerful enough to allow individuals to regularly cross the distances between Mohéli and Mayotte or between Anjouan and Mayotte. These results are in agreement with those obtained by Russell et al. (2016) for the *P. tonganus*. According to Norberg et al. (2000), *P. tonganus* is caracterized by a high wing loading associated to a non-soaring and flapping flight as *P. s. comorensis*. These characteristics allow the species to move between the different islands of the Fiji archipelago separated by 5 to 100 km and explain the low genetic structure between these islands (Steven M Goodman et al., 2010; Russell et al., 2016).

In contrast to the *P. s. comorensis*, *P. livingstonii* is characterized by a low wing loading and high aspect ratio associated to a soaring flight rather than flapping flight (Norberg et al., 2000). Such flight features are less maneuverable but are more efficient to fly over long distances as it allows animals to save energy (Norberg et al., 2000, Russell et al., 2016). Bat species with low wing loading and soaring flight are thus usually associated with low population genetic structuring even between highly distant patches (Russell et al., 2016). Our results are however in contradiction with these conclusions as *P. livingstonii* populations of the two islands of Anjouan and Mohéli distant by only 43km, are genetically well differentiated.

5.1.2- Impact of feeding ecology on genetic structuring

Feeding and roosting ecology of a species represent key factors to explain population structure and meta-population functioning (Kleyheeg et al., 2015). For fruit bats, when food and/or roost resources are limited, or spread over time and space, individuals might be forced to disperse to track resource distribution (Bessa et al., 2015; Kleyheeg et al., 2015). Both species studied here forage on fruits and nectars, resources that typically show high degrees of variation over time and space (Trewhella et al., 2001). *P. s. comorensis* is characterized by a large population size (thousands of individuals, Ibouroi et al. unpublished results) and largely depends on cultivated plants and human-made habitats. Because of its large population sizes, competition for resources is likely strong between individuals. Moreover, foraging on cultivated plants implies a strong "competition" with rural human populations that might rapidly deplete local resources. On the other hand, roost tree for this species are located in villages and mostly in coastal regions where they are highly exposed to human disturbances. Frequent roost tree cutting in these areas might also induce dispersion. Therefore, these two factors might drive some individuals to disperse over large distances and might promote the dispersion between the islands to find new resources. Russell et al. (2016) highlight that the low genetic structure observed between islands for *P. tonganus* might be the result of higher rates of predation by humans, dogs, and cats constraining individuals of the species to disperse.

Contrary to its congener *P. s. comorensis*, *P. livingstonii* population sizes of the two islands of Comoros are very smalls (about 900 individuals in Anjouan and 400 in Mohéli; Ibouroi et al. unpublished results). Because of these small population sizes, competition between individuals might be limited. Moreover, roosting trees for this species are located far from villages in natural forests at high elevations where human access is difficult. With limited competition and low level of roost disturbances, the cost of dispersal (energetic and time investment, mortality risk, etc) might be too high as compared to its potential benefits and might thus promote philopatry in this species (Bonte et al., 2012; Yoder et al., 2004).

5.1.3- Effect of evolutionary history in the contemporary genetic

Genetic differences between two closely related species can also be explained by their evolutionary history and especially by colonization events of the islands. Evolutionary history of species represents one of the most important factors influencing contemporary

genetic variability in fruit bats (O'Brien et al., 2009). For example, two sympatric species on one island might differ in terms of genetic structure just because of different dates of colonization (O'Brien 2011).

O'Brien et al. (2009) suggested through phylogeographic analysis that, *P. s. comorensis* has colonized the Comoros Islands very recently and rapidly from Asia (O'Brien et al., 2009). Our genetic results highlighted that populations of this species exhibit a high rate of inbreeding especially the populations from Grande Comoros and Mayotte (Table 1). According to many studies, high rate of inbreeding mostly occurs in population showing expansion events or recent colonization (Frankham, 1998; Pujol et al., 2009). As suggested by O'Brien et al. (2009), *P. s. comorensis* probably colonized these islands recently and because of its ability to disperse, migration of some individuals between islands, at least between the nearest ones, might have persisted and could have homogenized the genetic composition between islands.

On the contrary, O'Brien et al. (2009) suggested an ancient colonization of the Comoros archipelago by *P. livingstonii* in comparison to *P. s. comorensis* and other flying foxes of this region. According to our genetic results, population of the species does not exhibit a high rate of inbreeding or a recent bottleneck (Table 1). Populations of this species might thus have colonized the two islands a long time ago, long enough to have allowed a differentiation between the islands.

This study allows us to have more insights regarding the factor impacting population genetic structure and dispersal. Although wing loading seems to influence the genetic structure between islands for *P. s. comorensis*, these wing morphology patterns do not seem to have any impact on genetic structure between islands for *P. livingstonii* since the last species is highly structured between islands despite its ability to disperse for long distances.

In our opinion, the hypothesis of dispersal events induced by food scarcity and population abundance represents the most relevant explanation for the difference of population genetic structures between the two studied species. Thus, population monitoring involving for instance Capture-Mark-Recapture is needed in order to assess the rate of dispersal for both flying fox species and to assess which species are able to cross between highly separated areas.

At last, the genetic structure between islands seems to be the results of evolutionary history. Further studies involving colonization events are crucially needed in order to provide more arguments concerning the factors affecting population structures of the two species. These studies will have to evaluate the divergence time between populations of the different islands and to test for gene flows and introgression between populations.

5.2- Genetic diversity

Despite these differences in terms of genetic structures between islands, both species exhibit a moderate to low genetic diversity for both mtDNA and microsatellite markers in comparison to other flying fox species mostly classified as “critically endangered” and “vulnerable” in some oceanic islands (Table 1).

When comparing the two flying foxes we study here, despite the high population abundance of *P . s. comorensis*, this species exhibits the lowest genetic diversity for both mtDNA and microsatellite markers. This low genetic diversity for this species can be explained by (1) anthropogenic factors such as roosting trees cutting and hunt (because of its high dependency on villages, plantation areas and coastal regions) but also (2) to natural factors such as cyclones that could allow to periodic population reduction which in turn induce low genetic diversity (see Sewall et al 2007).

Regarding the *P. livingstonii*, its high genetic diversity in comparison to *P. s. comorensis* is explained by the fact that the species is located in highly inaccessible area limiting roost disturbance, animal hunts, and population reduction. This high genetic diversity for this species can also be explained by the population evolutionary history especially by islands colonization events as highlighted above (O’Brien et al., 2009). This still highlights the urgent need of further studies regarding population evolutionary history in order to clarify the main factor impacting population genetic of the two flying fox species.

5.3- Conservation strategy for *P. livingstonii*

During this study, we found low genetic diversity for this species (Anjouan and Mohéli). Because of the rapid forest loss and fragmentation in the Comoros Islands but also the high rate of human population growth increasing the need of land use which strongly affecting forests, these genetic results highlight the need of urgent conservation managements for this species and its habitats.

Populations from the two islands are highly structured. In addition, the forests of the two islands (Mohéli and Anjouan) are subject to different levels of habitat loss and disturbance. In the Anjouan Island, forests are strongly affected by forest loss and fragmentation while in the Mohéli forest loss and fragmentation are limited. We thus propose to consider the populations from the two islands as two different management units for this species. Moreover, the level of genetic diversity was higher in Anjouan than Mohéli (Table 1). A high level of genetic diversity allows population to adapt to future environmental changes. Anjouan show thus the highest diversity and its forest are the one that suffer the most over-harvesting. Anjouan Island should consequently be the priority in terms of conservation actions for this species.

Pteropus livingstonii is found on 21 known roosts but our genetic analysis included only 12 of them. Although we did not have sufficient data to test for inter sub-population genetic structuring and do not know if sub-populations are still connected or not by gene flow between sites of the same islands, we suggest to maintain suitable habitats between existing close *P. livingstonii* colonies which could maintain the current pattern of genetic diversity by providing critical corridors for dispersal and subsequent gene flow. For example, the replantation of the whole area between the site of Salamani, Adda and Ouzini (Anjouan), the area between the forest of Kowe and Moya (Anjouan), and the area between the forests of Hasserandrengué and Hakidigo (Mohéli) could represent such corridors allowing to maintain a critical network of gene flow between these sites, and in turn allowing to maintain genetic diversity of each island.

5.4- Conservation strategy of *P. s. comorensis*

According to our results, *P. s. comorensis* exhibit not only to a low genetic diversity in comparison to the different flying fox species from the Indian ocean but also a high rate of inbreeding on the islands of Grande Comore and Mayotte that can have consequences on the demography and for the viability of the populations of this species. Both these genetic results and the fact that this species currently suffer a high level of roost disturbance and hunt, indicate that, despite its relatively high population size, conservation actions targeting this species are urgently needed in the Comoros Archipelago.

Because of the low level of genetic differentiation observed between the four islands of Comoros indicating that some gene flows occur between islands, we suggest here to

consider *P. s. comorensis* populations from the four Comoros Islands as a single management unit. As highlighted by different authors (Pierson et al., 1996; Russell et al., 2016), roost destruction by natural or anthropogenic factors have high impacts on fruit bats population reduction thus on genetic diversity. However, prohibiting roosting tree cutting for example on degraded forest where *P. s. comorensis* is located in the four islands could allow to limit forest loss but also to maintain viable population for this species.

Acknowledgments

We would like to acknowledge the Direction of Environment and Forest of Comoros for giving permission to carry out our field works and to export samples (N° 002/KM/15/DNEF). A large part of the field work was funded by the Rufford Foundation through a Research Support Grant. Lab analyses are partly funded by the Islamic Development Bank (IDB). Data used in this work were produced through the technical facilities of the degraded DNA and Sequencing Genotyping platforms of the labEx CeMEB (Montpellier, France). Tissue samples from the Mayotte Island are obtained from the "Centre National de la Recherche Scientifique - Institut Ecologie et Environnement (ECOSAN BatMan)."

LITERATURE CITED

Baillie, J., Hilton-Taylor, C., Stuart, S.N., 2004. 2004 IUCN red list of threatened species: a global species assessment, Earth. doi:10.2305/IUCN.CH.2005.3.en

Bandelt, H.J., Forster, P., Rohl, A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol. Biol. Evol. 16, 37–48. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036

Bessa, J., Sousa, C., Hockings, K.J., 2015. Feeding ecology of chimpanzees (Pan troglodytes verus) inhabiting a forest-mangrove-savanna-agricultural matrix at Caiquene-Cadique, Cantanhez National Park, Guinea-Bissau. Am. J. Primatol. 77, 651–665. doi:10.1002/ajp.22388

Bonte, D., Van Dyck, H., Bullock, J.M., Coulon, A., Delgado, M., Gibbs, M., Lehouck, V., Matthysen, E., Mustin, K., Saastamoinen, M., Schtickzelle, N., Stevens, V.M., Vandewoestijne, S., Baguette, M., Barton, K., Benton, T.G., Chaput-Bardy, A., Clobert, J., Dytham, C., Hovestadt, T., Meier, C.M., Palmer, S.C.F., Turlure, C., Travis, J.M.J., 2012. Costs of dispersal. Biol. Rev. 87, 290–312. doi:10.1111/j.1469-185X.2011.00201.x

Brown, J.H., Kodric-brown, A., 2016. Turnover Rates in Insular Biogeography : Effect of Immigration on Extinction Author (s): James H . Brown and Astrid Kodric-Brown Published by : Wiley Stable URL : http://www.jstor.org/stable/1935620 REFERENCES Linked references are available on JSTOR fo. Ecology 58, 445–449.

Brown, V.A., Brooke, A., Fordyce, J.A., McCracken, G.F., 2011. Genetic analysis of populations of the threatened bat Pteropus mariannus. Conserv. Genet. 12, 933–941. doi:10.1007/s10592-011-0196-y

Chan, L.M., Goodman, S.M., Nowak, M.D., Weisrock, D.W., Yoder, A.D., 2011. Increased population sampling confirms low genetic divergence among Pteropus (Chiroptera: Pteropodidae) fruit bats of Madagascar and other western Indian Ocean islands. PLoS Curr. 21, 1–17. doi:10.1371/currents.RRN1226

Cushman, S.A., 2006. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. Biol. Conserv. doi:10.1016/j.biocon.2005.09.031

Donlan, C.J., Wilcox, C., 2008. Diversity, invasive species and extinctions in insular ecosystems. J. Appl. Ecol. 45, 1321–1329. doi:10.1111/j.1365-2664.2007.0

Fox, S., Waycott, M., Blair, D., Luly, J., 2012. Regional genetic differentiation in the

spectacled flying fox (Pteropus conspicillatus Gould). Peopled Landscapes Archaeol. Biogeogr. Approaches to Landscapes 459–472.
Francis, R.M., 2016. pophelper: an R package and web app to analyse and visualize population structure. Mol. Ecol. Resour. 17, 27–32. doi:10.1111/1755-0998.12509
Frankham, R., 1998. Inbreeding and extinction: Island populations. Conserv. Biol. 12, 665–675. doi:Doi 10.1046/J.1523-1739.1998.96456.X
Gaston, K.J., Blackburn, T.M., Goldewijk, K.K., 2003. Habitat conversion and global avian biodiversity loss. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 270, 1293–1300. doi:10.1098/rspb.2002.2303
Gaubert, P., Patel, R., Veron, G., Goodman, S.M., Willsch, M., Vasconcelos, R., Lourenço, A., Sigaud, M., Justy, F., Joshi, B.D., Fickel, J., Wilting, A., 2016. Phylogeography of the small Indian civet and origin of introductions to western Indian Ocean islands. J. Hered. 1–31. doi:10.1093/jhered/esw085
Goodman, S.M., Chan, L.M., Nowak, M.D., Yoder, A.D., 2010. Phylogeny and biogeography of western Indian Ocean Rousettus (Chiroptera : Pteropodidae). J. Mammal. 91, 1–16. doi:10.1644/09-MAMM-A-283.1.Key
Goodman, S.M., Chan, L.M., Nowak, M.D., Yoder, A.D., 2010. Phylogeny and biogeography of western Indian Ocean Rousettus (Chiroptera : Pteropodidae). J. Mammal. 91, 1–16. doi:10.1644/09-MAMM-A-283.1.Key
Hooper, D.U., Adair, E.C., Cardinale, B.J., Byrnes, J.E.K., Hungate, B.A., Matulich, K.L., Gonzalez, A., Duffy, J.E., Gamfeldt, L., O'Connor, M.I., O/'Connor, M.I., 2012. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. Nature 486, 105–108. doi:10.1038/nature11118
Ingleby, S., Colgan, D., 2003. Electrophoretic studies of the systematic and biogeographic relationships of the fijian bat genera Pteropus, Pteralopex, Chaerephon and Notopteris. Aust. Mammal. 25, 13–29. doi:10.1071/AM03013
Jackson, N.D., Fahrig, L., 2016. Habitat amount, not habitat configuration, best predicts population genetic structure in fragmented landscapes. Landsc. Ecol. 31, 951–968. doi:10.1007/s10980-015-0313-2
Kleyheeg, E., van Leeuwen, C.H.A., Morison, M.A., Nolet, B.A., Soons, M.B., 2015. Bird-mediated seed dispersal: reduced digestive efficiency in active birds modulates the dispersal capacity of plant seeds. Oikos 124, 899–907. doi:10.1111/oik.01894
Larsen, P.A., Hayes, C.E., Wilkins, M.A., Gomard, Y., Sookhareea, R., Yoder, A.D., Goodman, S.M., 2014. Population Genetics of the Mauritian Flying Fox, *Pteropus niger*. Acta Chiropterologica 16, 293–300. doi:10.3161/150811014X687251
Librado, P., Rozas, J., 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25, 1451–1452. doi:10.1093/bioinformatics/btp187
Maltagliati, F., 2002. Genetic monitoring of brackish-water populations: The Mediterranean toothcarp Aphanius fasciatus (Cyprinodontidae) as a model. Mar. Ecol. Prog. Ser. 235, 257–262. doi:10.3354/meps235257
Mattison, E.H.A., Norris, K., 2005. Bridging the gaps between agricultural policy, land-use and biodiversity. Trends Ecol. Evol. 20, 610–616. doi:10.1016/j.tree.2005.08.011
McAlpine, C., Catterall, C.P., Mac Nally, R., Lindenmayer, D., Reid, J.L., Holl, K.D., Bennett, A.F., Runting, R.K., Wilson, K., Hobbs, R.J., Seabrook, L., Cunningham, S., Moilanen, A., Maron, M., Shoo, L., Lunt, I., Vesk, P., Rumpff, L., Martin, T.G., Thomson, J., Possingham, H., 2016. Integrating plant- and animal- based perspectives for more effective restoration of biodiversity. Front. Ecol. Environ. 14, 37–45. doi:10.1002/16-0108.1
Mickleburgh, S., Hutson, A.M., Bergmans, W., Howell, K., Gerlach, J., 2008. Pteropus

seychellensis, Seychelles Flying Fox. IUCN Red List Threat. Species.
Mildenstein, T.L., Stier, S.C., Nuevo-Diego, C.E., Mills, L.S., 2005. Habitat selection of endangered and endemic large flying-foxes in Subic Bay, Philippines. Biol. Conserv. 126, 93–102. doi:10.1016/j.biocon.2005.05.001
Nogales, M., Vidal, E., Medina, F.M., Bonnaud, E., Tershy, B.R., Campbell, K.J., 2013. Feral Cats and Biodiversity Conservation. Bioscience 63, 804–810. doi:10.1525/bio.2013.63.10.7
Norberg, L.-U.M., Brooke, A.P., Trewhella, W.J., 2000. Soaring and non-soaring bats of the family pteropodidae (flying foxes, Pteropus spp.): wing morphology and flight performance. J. Exp. Biol. 203, 651–664.
O'Brien, J., 2011. Bats of the Western Indian Ocean Islands. Animals. doi:10.3390/ani1030259
O'Brien, J., Mariani, C., Olson, L., Russell, A.L., Say, L., Yoder, A.D., Hayden, T.J., 2009. Multiple colonisations of the western Indian Ocean by Pteropus fruit bats (Megachiroptera: Pteropodidae): The furthest islands were colonised first. Mol. Phylogenet. Evol. 51, 294–303. doi:10.1016/j.ympev.2009.02.010
Paulay, G., 1994. Biodiversity on oceanic islands: Its origin and extinction. Integr. Comp. Biol. 34, 134–144. doi:10.1093/icb/34.1.134
Peakall, R., Smouse, P.E., 2012. GenALEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics 28, 2537–2539. doi:10.1093/bioinformatics/bts460
Pierson, E.D., Elmqvist, T., Rainey, W.E., Cox., P.A., 1996. Effects of tropical cyclonic storms on flying fox populations on the South Pacific islands of Samoa. Conservation Biology. Conserv. Biol. 10, 458–451.
Piry, S., Luikart, G., Cornuet, J.M., 1999. Computer note. BOTTLE- NECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. J. Hered. 90, 502–503.
Pritchard, J.K.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155, 945. doi:10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x
Pujol, B., Zhou, S.-R.R., Sanchez Vilas, J., Pannell, J.R., Sanchez, V.J., Pannell, J.R., 2009. Reduced inbreeding depression after species range expansion. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 106, 15379–15383. doi:10.1073/pnas.0902257106
R Development Core Team, 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Found. Stat. Comput. Vienna Austria 0, {ISBN} 3-900051-07-0. doi:10.1038/sj.hdy.6800737
Rousset, F., 2008. GENEPOP'007: A complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. Mol. Ecol. Resour. 8, 103–106. doi:10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x
Russell, A.L., Brown, V.A., Utzurrum, R.C.B., Brooke, A.P., Wolf, L.A., Mccracken, G.F., 2016. Comparative Phylogeography of *Pteropus samoensis* and *P. tonganus* (Pteropodidae: Chiroptera) in the South Pacific. Acta Chiropterologica 18, 325–335. doi:10.3161/15081109ACC2016.18.2.002
Sewall, B., Freestone, A.L., Moutui, M.F., Toilibou, N., Said, I., Attoumane, D., Toumani, S.M., Iboura, C.M., 2011. Rainforest Reserves for Critically Endangered Comorian Fruit Bats Rainforest Reserves for Critically Endangered Comorian Fruit Bats 1–21.
Sewall, B.J., Young, R., Trewhella, W.J., Rodríguez-Clark, K.M., Granek, E.F., 2016. Pteropus livingstonii, Livingstone's Flying Fox. IUCN Red List Threat. Species 2016

e.T18732A22081502.
Sinclair, E.A., Webb, N.J., Marchant, A.D., Tidemann, C.R., 1996. Genetic variation in the little red flying-fox *Pteropus scapulatus* (Chiroptera: Pteropodidae): Implications for management. Biol. Conserv. 76, 45–50. doi:10.1016/0006-3207(95)00086-0
Soule, M.E., Bolger, D.T., Alberts, A.C., Wright, J., Hill, S., 1988. Reconstructed dynamics of rapid extinctions of chaparral-requiring birds in urban habitat islands. Conserv. Biol. 2, 75–92.
Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Mol. Biol. Evol. 30, 2725–2729. doi:10.1093/molbev/mst197
Trewhella, W.J., Rodriguez-Clark, K.M., Davies, J.G., Reason, P.F., Wray, S., 2001. Sypatric fruit bat species(Chiroptera: Pteropodidae) in the Comoro Islands (Western Indian Ocean): Diurnality, feeding interactions and their conservation implications. Acta Chiropterologica 3, 135–147.
Van Oosterhout, C., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M., Shipley, P., 2004. MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Mol. Ecol. Notes 4, 535–538. doi:10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x
Voigt, C.C., Kingston, T., 2015. Bats in the Anthropocene: Conservation ofBatsina Changing World.
Weigelt, P., Kreft, H., 2013. Quantifying island isolation - insights from global patterns of insular plant species richness. Ecography (Cop.). 36, 417–429. doi:10.1111/j.1600-0587.2012.07669.x
Yoder, J.M., Marschall, E.A., Swanson, D.A., 2004. The cost of dispersal: Predation as a function of movement and site familiarity in ruffed grouse. Behav. Ecol. 15, 469–476. doi:10.1093/beheco/arh037

Chapitre 4

4-Le marquage génétique non invasif chez les chauves-souris frugivores : une méthode intéressante mais trop couteuse pour le suivi des paramètres démographiques



Pteropus livingstonii

Mpagé, Anjouan, Comores

Photo: © Mohamed-Thani

Individual non-invasive genetic sampling in critically endangered flying foxes: a valuable but too costly method for monitoring demographic parameters

IBOUROI Mohamed Thani [1,2], MONTGELARD Claudine[1], BESNARD Aurélien[1]

Article à soumettre à ***Animal Conservation***

Contexte

Pteropus livingstonii est une espèce rare et hautement menacée d'extinction. Suivre sa population avec les méthodes traditionnelles de Capture-Marquage-Recapture utilisant des captures physiques par exemple pour estimer les tailles des populations et les paramètres démographiques peut engendrer des risques de perturbations des animaux pouvant être à l'origine de l'abandon des dortoirs. Les captures peuvent aussi occasionner des blessures voire la mort d'individus. L'utilisation de l'approche de génétique non invasive combinée à la méthode de CMR (NIGS-CMR) représente une solution alternative aux méthodes traditionnelles pour évaluer les paramètres démographiques et suivre cette population dans le long terme afin d'établir une meilleure stratégie de conservation.

Dans ce volet de la thèse, j'ai exploré le potentiel des méthodes non-invasives pour estimer les paramètres démographiques de *P. livingstonii*. L'objectif est de tester d'abord la faisabilité de la méthode d'identification individuelle avec des échantillons de fèces dans les zones tropicales. Ensuite, j'ai évalué l'efficacité et le coût de cette approche pour estimer ces paramètres de manière assez précise à l'aide des outils classiques de Capture-Marquage-Recapture.

Matériels et Méthodes

Les méthodes de terrain ainsi que les analyses en laboratoire sont présenté dans le chapitre 3.1. A l'aide du programme GENALEX, j'ai identifié les diffèrent échantillons partageant le même génotype. Avec le même programme, j'ai déterminé le nombre de locus nécessaires pour identifier les différents individus et les différents individus frère et sœurs. Pour évaluer l'efficacité de l'approche NIGS-CMR, j'ai simulé différents jeux de données avec des efforts de terrain variables (nombre d'échantillons et nombre d'années d'étude) qui ont été analysés avec des modèles de CMR usuels (modèles dits de « Pradel » permettant d'estimer la survie et la séniorité).

J'ai utilisé ces résultats pour estimer les coûts associés à un suivi individuel à long-terme via la combinaison NGIS-CMR et cela avec 5 ou 10 locus microsatellites.

Résultats principaux

Mes résultats montrent que l'approche d'identification individuelle est applicable chez des espèces frugivores des zones tropicales et qu'avec seulement cinq locus on peut identifier les individus de manière précise avec des probabilités d'identités plus faibles que les valeurs seuils proposées dans la littérature (PID< 0.001 et PIDsib<0.05 pour seulement 5 locus).

Les résultats obtenus lors des simulations des données démographiques et des coûts de réalisation montrent qu'avec six ans de suivi et avec un taux de recapture de 0.30 soit un coût de 284.321 USD, ou un suivi de 9 ans avec un taux de recapture de 0.20 pour un coût de 316.207 USD, sont les minimums nécessaires pour obtenir des estimations assez précises sur les tailles des populations et des paramètres démographiques pour que cela soit utilisable en termes de conservation.

Les résultats obtenus lors de cette étude permettent aussi de montrer que le couplage NIGS-CMR est faisable et est réaliste pour estimer des tailles des populations robustes mais aussi pour estimer les paramètres démographiques chez *P. livingstonii* ainsi que d'autres espèces de chauves-souris frugivores des régions tropicales. La seule limite de cette approche est son coût élevé. En effet, ces espèces sont localisées majoritairement dans des pays pauvres en Afrique et en Asie où les fonds pour la conservation sont limités. Malgré sa faisabilité technique, le coût de cette méthode parait assez élevé en comparaison des budgets pouvant être disponibles dans ces pays pour la conservation de ces espèces. Toutefois, les couts des analyses génétiques peuvent connaitre des baisses importantes dans le temps. Collecter les échantillons des matières fécales chaque année en parallèle des comptages directs réalisés par certains ONGs, et attendre la baisse des prix des analyses génétiques pourraient permettre de réaliser toute l'étude avec un coût assez raisonnable sur un moyen terme.

Individual non-invasive genetic sampling in critically endangered flying foxes: a valuable but too costly method for monitoring demographic parameters

IBOUROI Mohamed Thani [1,2], MONTGELARD Claudine[1], BESNARD Aurélien[1]

1-EPHE, PSL Research University, CNRS, UM, SupAgro, IRD, INRA, UMR 5175 CEFE, F-34293 Montpellier, FRANCE

2-Institut des Sciences et Industrie du Vivant et de l'environnement, AgroParisTech, 19 Avenue de Maine 75015 Paris, France

Corresponding author: halibathani@yahoo.fr

1-ABSTRACT

In this study, we tested the relevance of using the combination of non-invasive genetic sampling and capture-mark-recapture (NIGS-CMR) approach to estimate population size and demographic parameters in tropical fruit bat species. Our goal was to evaluate whether such approach can be a valuable method for conducting a long-term population monitoring for threatened fruit bats. We examined the precision of population size and demographic parameters estimates and the associated costs depending on different monitoring scenarios using simulations. Among the 244 collected fecal samples, 135 samples (55%) were successfully sequenced using mtDNA among which 120 sample have been selected for the PCR with microsatellites. In these 120 amplified with microsatellites, 90 were successfully genotyped among which 69 different genotypes were identified. Our results highlighted that five loci were required to identify individuals. Our simulations showed that monitoring the species over a 6-years period with a recapture rate of 0.30 or over a 9-years period with a recapture rate of 0.20 seemed relevant to get valuable demographic parameter estimates. Among these two scenarios the first one was the less expensive and provides estimates quicker than the second scenario. This first scenario should cost about USD 284,000. NIGS-CMR approach is practically feasible in flying fox species because the sample collection is easy but also because low genotyping errors can be found during laboratory analysis. Yet its high costs related to laboratory processes represent the limit of this approach for species mainly occurring in poor countries where the budgets for conservation are usually low. Because the costs of genetic analysis can decrease in the coming years, collecting the samples every year and wait for a decrease of genotype analysis costs might be a valuable option to inform, hopefully not too late, the conservation strategy of these species.

Key words: Fruit bats, Population size, population dynamics, Capture-Mark-recapture, population viability

2- INTRODUCTION

Reliable population size and demographic parameters estimates such as survival or recruitment rate are of prime importance in conservation biology as they give information about population viability. They also allow identifying what parameters conservation actions need to target to be the most efficient (Coulson et al., 2010; Jean-dominique, 1992; Pradel, 1996; Tuljapurkar and Haridas, 2006). These parameters are however extremely difficult to obtain especially for threatened species as they are often rare, elusive and sometimes occupy inaccessible areas (Kindberg et al., 2009; Marucco et al., 2009b).

To estimate population size of threatened species, many biologists use direct counts, for instance, (Costa et al., 2014; Hostetter et al., 2015; Spehar et al., 2015; Thomas and Mannino, 2017) in insectivorous bats (*Plecotus auritus, Tadarida brasiliensis,* Entwistle et al., 2000; kunz et al., 2009) or fruigivorous bats (*Rousettus madagascariensis, Eidolon helvum, Pteropus livingstonii, P. samoensis, P. tonganus and P. mariannus*, Andrianaivoarivelo et al., 2011; Brown, 1971; Daniel et al., 2016; Utzurrum et al., 2003; Webala et al., 2014). Such direct counts are however biased due to imperfect detection (Dénes et al., 2015; Elphick, 2008). Moreover, for species that have large movement capacities, some individuals can move between counting sites and can thus be counted twice if counts are not conducted simultaneously (Daniel et al., 2016; De Barba et al., 2010; Garel et al., 2010; Granek, 2002; Hedges et al., 2013; Marchandeau et al., 2006). Direct count method provides only indices of the population size that might however lead to erroneous conclusion regarding population trends when detection probability is not constant over time (Archaux et al., 2012; Gervasi et al., 2014).

The issue of imperfect detection has been the focus of huge methodological developments over the last 50 years (Williams et al., 2002). For instance, Distance Sampling methods allow to model the detection probability of individuals given their distance to the observer and then to correct for undetected individuals (Buckland et al., 2004). This method is however inadequate when population size is low or when the species is elusive, as usual for threatened species, since the number of observations become too low to correctly estimate the parameters of the detection function. It is also inadequate for highly mobile species, such as bats species for instance (Marucco et al., 2009). More importantly, whatever they are corrected or not for detection issues, counts do not provide information on the

demographic parameters, that are the most important data to acquire in order to give information for conservation strategies (Blanc et al., 2013; Stephens et al., 2006).

Capture-Mark-Recapture (CMR) approaches have been developed over the last 50 years to tackle the difficulties associated with population size and demographic parameters estimations in animal populations (Jean-dominique, 1992; Pradel et al., 1997; Schwarz and Arnason, 1996). Despite their robustness and methodological flexibility, traditional CMR approaches involved the direct handling of animals, which is usually extremely time-consuming. Its applicability can also be problematic in secretive and wide-ranging species occurring at low density (Blanc et al., 2013). Moreover, physical capture often disturbs individuals and can sometimes even injure or kill animals, thus raising ethical issues, especially in threatened species (Marucco et al., 2012).

Thanks to the advances in molecular analysis techniques, CMR can now be implemented without physical handling of animals nor any contact with the studied animals. We can use the genetic information extracted from diverse cues sampled in the field, such as fecal materials or hairs, and minimize the risk and stress for animals (Taberlet et al., 1999). The amplification of microsatellite DNA markers can allows the discrimination of such samples at the level of individuals (Valière, 2002). The so called individual ”noninvasive genetic sampling” (NIGS thereafter) can be combined with CMR approach (Woodruff et al., 2016). allowing to assess dispersal patterns (Valière et al., 2003a), social structure (Stenglein et al., 2011), population size and demographic parameters, such as survival rate and reproduction (Barber-Meyer et al 2008; Marescot et al 2011; Cubaynes et al 2014). Such NIGS-CMR combination can even provide more accurate estimations of population size, demographic parameters and social structure, than standard methods (Arandjelovic et al., 2011).

Although NIGS-CMR becomes common and regularly used by scientific community to develop long-term population monitoring of some taxa, such as brown bears (*Ursus arctos,* Taberlet et al., 1997), wolfs (*Canis lupus,* Valière et al., 2003b) or large primates (*Pan troglodytes*, Morin et al., 2001). The potential of this method has been finally assessed only for a very small proportion of species (Baldwin et al., 2010).

Frugivorous bats, especially those living on tropical forests, like flying foxes, represent an example of mammal species particularly interesting to monitor with NIGS-CMR because they are elusive and difficult to study with traditional CMR methods. Despite the usefulness

of NIGS to monitor such elusive and threatened species, few studies targeting flying fox species in tropical forests used this method. To our knowledge, only Baldwin *et al.* (2010) tried to use NIGS survey with the feces of the grey-headed flying fox (*Pteropus poliocephalus*), but they don't assessed population size and demographic parameters. Yet they found a high rate of genotyping errors (a total genotyping error rate of 49%, a total allelic dropout (ADO) rate of 45% and a total false alleles (FA) rate of 3.7%). The authors reported that these high genotyping errors could be the result of poor-quality DNA or PCR inhibitors present in the feces that might lead to false interpretations (Boston et al., 2012; Puechmaille and Petit, 2007; Taberlet et al., 1997).

The Livingstone's flying fox *(Pteropus livingstonii)* is an endemic fruit bat species from Comoros archipelago. This species plays an important role into the ecosystem functioning as pollinator and seed disperser (Sewall et al., 2007). It is considered as one of the most, if not the most, threatened bats in the word (Daniel et al., 2016; Sewall et al., 2016). The population size is very small (1300 individuals, Daniel et al 2016) and it suffers from the highest rate of habitat loss in the world (9.3% per year in the Comoros Islands, FAO 2010; Daniel et al., 2016). The population of this species is expected to dramatically decline in the coming years if conservation measures are not settled (Daniel et al., 2016, Ibouroi et al. submitted).

Despite this high extinction risk, the monitoring of *P. livingstonii* remains fairly rudimentary. Population size is estimated using direct counts at roosting sites, a method that yield only indices of the real size (Granek 2002; Daniel et al., 2016). Regarding demographic parameters, no information is available, as no individual monitoring has never been conducted on this species. NIGS-CMR might be a promising tool for this species as the number of individual is relatively small, the roosting sites are well known (Daniel et al., 2016) and the collection of feces at roosting sites is technically easy (Ibouroi et al. submitted).

Here, we used the example of *P. livingstonii* to test the relevance of NGIS-CMR combination to estimate population size and demographic parameters in tropical fruit bat species. More specifically, we aim at evaluating wether such protocol can be a valuable method for conducting a long-term population monitoring. To this end, we firstly assessed if individual identification is feasible using NIGS in tropical bat species. Secondly, we examined the costs induced by this approach. Thirdly, using simulated data, we assessed the precision of population size and demographic parameters estimates, given varying sampling design

and evaluated the associated costs in order to examine whether NGIS-CMR could be relavnt for long-term monitoring of tropical fruit bats.

3- MATERIALS AND METHODS

3.1- Field sampling

Fecal samples were collected at 12 roosting sites from Anjouan and Mohéli Islands (Comoros). At each site, a plastic tarp was placed below each roosting tree from 6:00 pm to 8:00 am. We then collected up to 15 dropping samples of fecal material at each site. We tried to collect only one dropping per individual. In some case, when two or more droppings were closed in the trap (~0.5 m) and have the same colors and form, we supposed that the same individual produced them, and only one sample was collected. These fecal samples were placed into 5-ml tubes containing 96° ethanol or silica gel as preservative agents. The samples were kept at room temperature (between 20 and 30 °C) in the Comoros Islands before being transported to France and frozen (-4 °C) until processing for DNA extraction.

3.2- Laboratory process

DNA was extracted at the "Degraded DNA platform" of the LABEX CeMEB (University of Montpellier) using a QIAGEN kit (DNeasy mericon Food N°69514). For this extraction, we followed manufacturer's protocols. DNA were amplified with Polymorphism Chain Reaction (PCR) using both mitochondrial DNA (460 bp cytochrome b, mtDNA) and seven microsatellite loci (A1, C6, PH9, A2, CSP7, A3 and B29) developed for *P. rodricensis* (O'Brien et al., 2007). For more details of the laboratory process, see Ibouroi et al. (submitted).

3.3-Species and individual identification

As this species lives in sympatry with another flying fox (*P. seychellensis comorensis*) in some of its roosts, we first checked if each sample belongs to the target species using mitochondrial DNA (cytochrome b gene). More specifically all amplified mtDNA sequences were compared to sequences available in GenBank (Table s1).

To assess the number of unique individuals in our samples, we used the program GENALEX (Peakall and Smouse, 2012) to determine all pairs of samples sharing the same genotype and the list of pairs of matching samples (Woods et al., 1999). If one or more samples share the same genotype, the corresponding samples were regarded as originating

from the same individual and only one was kept in the subsequent analysis (Ebert et al., 2012; Ruell et al., 2009). In a second step, we used the program GENALEX to determine the minimum number of microsatellites necessary for individual identification. This minimum number depends on the variation of the allele frequency in the species. According to Schwartz and Monfort (2008), six microsatellites loci were sufficient to distinguish individuals of lynx with a probability of identification of 1.55×10^{-6} (Schwartz and Monfort, 2008). The program GENALEX allows us to assess (1) the probability that one pair of two randomly selected DNA of fecal samples show identical genotypes (Probability of Identity or PID thereafter) and (2) the probability of identity siblings (PIDsibs) which is the probability that two siblings have the same genotype. According to Woods et al (1999), a minimum limit of 0.001 of PID is required to distinguish between individuals while a minimum of 0.05 is required for the probability of identity PIDsibs to distinguish between siblings (see also (Brinkman et al., 2009; Marucco et al., 2009a; Woods et al., 1999). According to other studies (Hedmark et al., 2004; Wultsch et al., 2014), minimum values of PID and PIDsibs of 0.0001 and 0.01 are required to distinguish between individuals and siblings, respectively.

3.4- CMR data simulations and associated costs

Regarding the cost estimation, we firstly evaluated the cost of NIGS-CMR approach with 5 loci (allowing to have a PID ≤ 0.001 and PIDsibs ≤ 0.05) and in a second case we estimated the cost with 10 loci (allowing to have minimum values of PIDsibs ≤ 0.01 as suggested by Hedmark et al., (2004)).

In order to assess the accuracy of the demographic parameters estimations achieved with different field and genetic analysis efforts, we simulated varying CMR sampling schemes.

There are some literatures emphasizing the demographic parameters of some species of flying fox and other tropical fruit bats. For example, regarding the survival rate: first year rate survival is estimated to 0.44 by Sibly *et al*. (1997) and 0.32 by Vardon and Tidemann (2000) for *P. Alecto* (Fox et al., 2008; Sibly et al., 1997; Vardon and Tidemann, 2000). Fox et al. (2008) suggested a first year survival rate of 0.50 for *Pteropus conspicillatus*. For *P. poliocephalus*, the adult survival rate was estimated between 0.80 and 0.90 annually (Mcilwee and Martin, 2002). Hayman et al. (2012) found 0.43 and 0.83 for juvenile and adult survivals respectively, for the straw-colored fruit bats (*Eidolon helvum*). Regarding births,

O'Brien et al. (2011) highlighted that females *Pteropus* usually produce a single offspring. For the breeding rate, McIllwee and Martin (2002) suggested 0.80-0.90 for *P. poliocephalus* (Mcilwee and Martin, 2002). Fox et al. (2008) estimated the reproduction rate of *Pteropus conspicillatus* to 0.89 from age 3 years onwards (Fox et al., 2008). Hayman et al. (2012) found a reproduction rate of 0.96 for the straw-colored fruit bats (*Eidolon helvum,* Hayman et al., 2012).

The two flying fox species, for which we have estimates of demographic parameters, are characterized by a mean body mass of 677 g for *P. poliocephalus and* 600 g for *P. conspicillatus* (Juste, 2000; McNab and Armstrong, 2001). The body mass of *Pteropus livingstonii* is also estimated to 600 g (Smith and Leslie, 2006).

For *P. livingstonii*, as demographic parameters were not available, and as demographic traits are highly correlated to body in animals (Ringsby et al., 2015), we hypothesis that demographic parameters could be relatively close to those of the different flying fox species cited above.

We then used a female pre-breeding Leslie matrix based on three age classes (1-year old individuals, 2 years old individuals and adult individuals) for which the survival probability of the adults was fixed to 0.90. Survival rate of the two year-old individuals was fixed to 0.80 and those of the one-year-old individual fixed to 0.60. The survival from birth to one-year-old was fixed to 0.40 and the fecundity was fixed to 0.60 females by adult females. These numbers were selected to match those of a long-lived species as *P. livingstonii* and to get a population growth rate of 1.

The number of individuals in each age class at first year of the simulations was obtained from the stable age-structure considering a population size of 1300 individuals (Daniel et al 2016, Ibouroi et al submitted). From year to year, we simulated the individual trajectories (survival or death) and births to get an exhaustive census of all individual composing the population over the entire simulated period. Survival and fecundity were obtained by demographic stochasticity (random trial in a Bernouilli distribution for survival, and random trial in a Poisson distribution for fecundity).

In a second step, we simulated the Capture-Recapture sampling scheme by randomly selecting individuals in the population given the capture probability (random trial using a Bernouilli distribution). We simulated a gradient of capture probabilities (from 0.10 to 0.60

by 0.10 intervals) and a gradient of durations of the monitoring (from 3 years to 21 years with an interval of 3 years).

The individual histories obtained were then analyzed with seniority and survival Pradel model's (Pradel, 1996) in MARK (White and Burnham 1999). This allows us to obtain an estimate of survival probability, recruitment probability (1-seniority probability) and recapture probability. Recapture probability was then used to estimate population size using Horvitz-Thompson estimator (Yip et al 1996, Marucco et al 2009).

One thousand simulations were conducted for each scenario of capture probability and monitoring duration. Estimates and precision of the estimates were derived from the quantiles of these 1,000 simulations (median and 2.5 and 97.5 quantiles).

These analyses were performed using the environmental R 3.3.0 (R Development Core Team, 2016)

4- RESULTS

4.1- Species authentication and individual identification

In total, we collected 244 fecal samples in the field for *P. livingstonii*. Among these 244 fecal samples, 135 samples (55%) were successfully identified as *P. livingstonii* using mtDNA sequences. Regarding the microsatellite analysis, among these 135 mtDNA sequences, only 120 were selected for genotyping process (the 15 remaining samples have not being genotyped because of time constraints; the 120 samples were selected in all sites in order to have a balanced sampling design). Among the 120 samples, 90 were successfully genotyped corresponding to a genotyping success rate of 74%. Among these 90 fecal samples successfully genotyped, we identified 69 different genotypes for the two islands of Anjouan (46 genotypes) and Mohéli (23 genotypes) which correspond to about 5% of the total population (69 over about 1300 individuals, Daniel et al. 2016; Ibouroi et al. submitted).

Table 1: Probability of identity (PID), and probability of identity for siblings (PIDsibs) for the seven microsatellite loci used, the rate of allele dropout (ADO) and false alleles (FA) are shown in the table

Locus	ADO	FA	PID	PIDsibs
A1	0,012	0,00	0,262	0,530
C6	0,006	0,00	0,304	0,567
PH9	0,027	0,00	0,147	0,451
A2	0,013	0,00	0,113	0,421
CSP7	0,008	0,06	0,502	0,704
A3	0,040	0,07	0,350	0,617
B29	0,050	0,03	0,741	0,863
Mean 5 loci			**0,000**	**0,038**
Mean 7 loci	**0,022**	**0,002**	**0,000**	**0,027**

The average rate of allelic dropout (ADO) and false alleles (FA) were respectively 0,022 and 0.002 (Table 1). Five loci were required to achieve a PID <0.001 for *P. livingstonii* individuals and a PIDsibs <0.05 for *P. livingstonii* siblings (Table 1, Figure 1). Five loci were also sufficient to identify individual even using a limit of PID of 0.0001 (Table 1). However, five and even seven loci were not sufficient to reach a value of 0.01 for PIDsib (PIDsib=0.038 for 5 loci and PIDsib = 0.027 for seven loci).

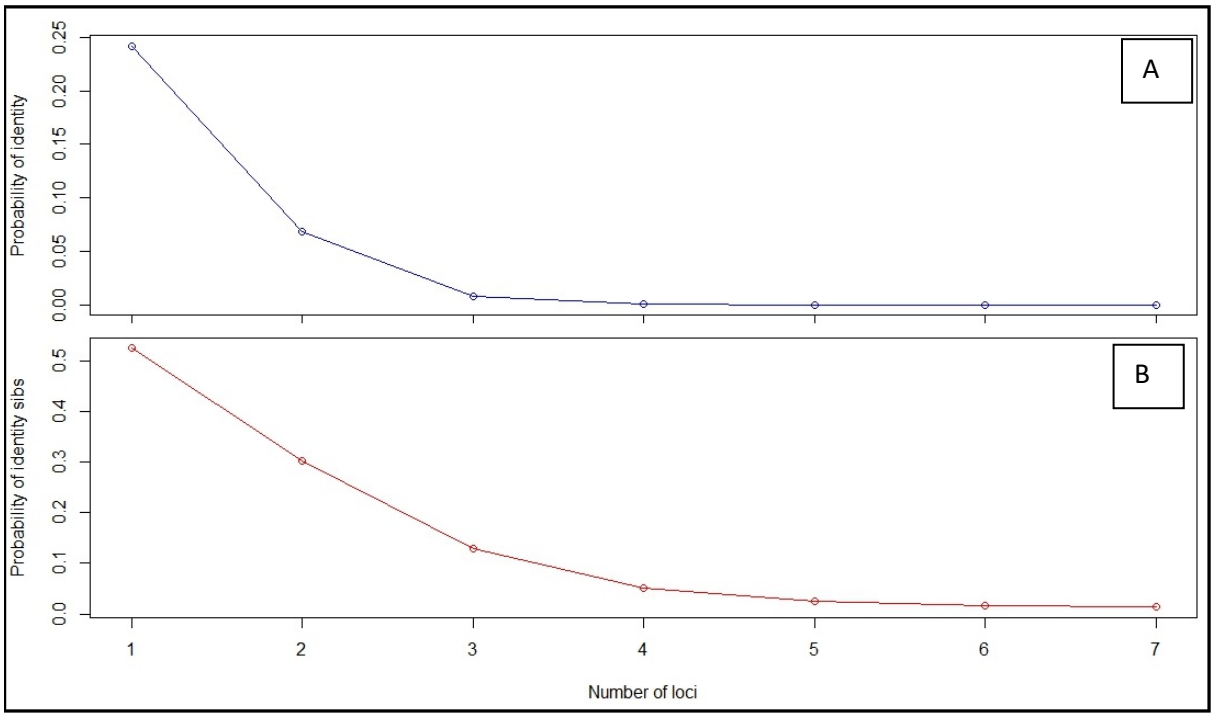


Fig. 1: Plots showing the relationships between the number of microsatellites loci and the probability of identity (A) and the probability of identity siblings assuming all individuals are siblings (B) for P. livingstonii (n = 69) (for microsatellite: A1, C6, PH9, A2, CSP7, A3, B29)

4.2- Cost of NIGS monitoring

During this study (using one mtDNA gene and 7 microsatellite loci), the cost including field works and laboratory process was USD 14,398 (Table 2) and the cost per successful genotyped samples was approximately USD 54.75. When increasing the field effort to collect annually 500 samples in order to capture about 15% of the actual population size, the annual cost is estimated to USD 22,882 for 5 loci and USD 27,753 for 10 loci. Indeed, among 500 samples, we have 55% (i.e. 275 samples) successful sequenced samples with mtDNA and 74% genotyped among the mtDNA sequences corresponding to 204 samples successfully genotyped - captures and recaptures).

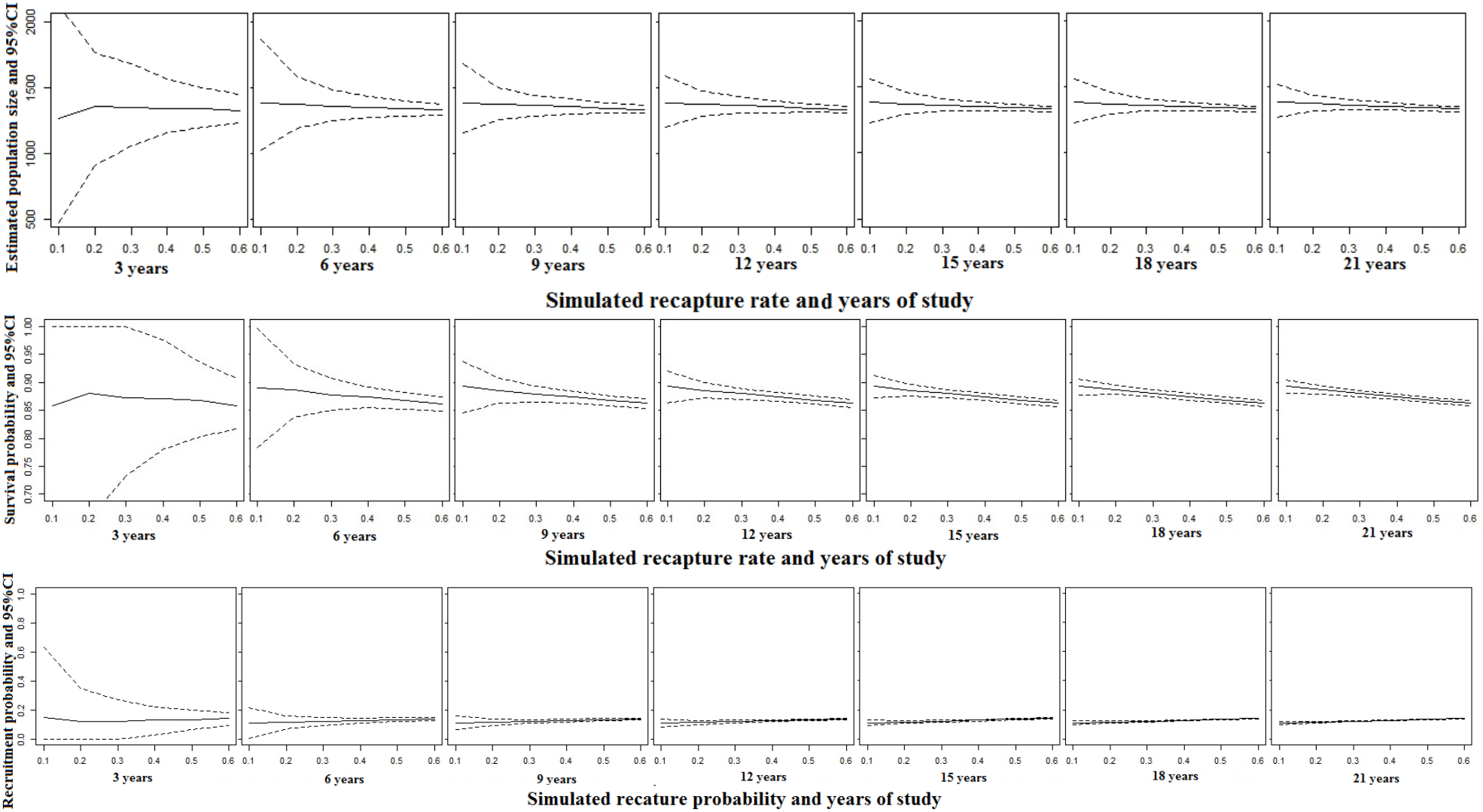
Table 2: Evaluation of the actual cost during our study (2014-2016) and simulated expenditure required for noninvasive genetic sample to assess accurate population size and demographic parameters of *P.livingstonii;* µ sats=Microsatellites; ind=individual; N.B= number

	Actual cost during our study (9 µ sats)			Estimated cost for 500 samples and 10 µ sats			Estimated cost for 500 samples and 5 µ sats		
Activities	N.B of samples	One ind	Price (USD)	N.B of samples	One ind	Price (USD)	N.B of samples	One ind	Price (USD)
Field	244	14	3458	500	14	7086	500	14	7,086
DNA extraction	244	5	1253	500	5	2569	500	5	2,569
DNA sequencing	244	8	2057	500	8	4215	500	8	4,215
DNA genotyping (55%)	120	34	4087	275	38	10341	275	20	5,469
Reliable genotypes (74 %)	90	34	3065	204	38	7671	204	20	4,057
Salary		**11**	3,543		11	3,543		11	3,543
Total cost		**73**	**14,398**		**75**	**25,753**		**59**	**22,882**

4.3- Demographic parameter estimates using simulated CMR datasets

As expected, the precision of demographic parameters is positively correlated with the number of years of study and with the recapture probability (Figure 2). It is rather clear that a three-year study, whatever the field effort conducted each year will not allow getting parameter estimates with a level of precision sufficient to be useful. Field effort dedicated to get a 0.10 recapture probability (cost = USD 68,646) will also never be relevant whatever the duration of the study. Our simulations show that a six-year study with a recapture rate of 0.30 (for a total cost of USD 284,321), or a 9 years-study with a recapture rate of 0.20 (for a total cost of USD 316,207), may be the minimum effort to settle in order to get estimates with a level of precision that might be enough for population viability analysis (Figure 2).

Fig. 2: Simulated population size and demographic parameters of *P. livingstonii*



For instance, the population size estimated with a six-year study is 1350 and its 95%CI is [900-2000] when the recapture rate is 0.10. It is 1350 with a 95%CI [1200-1600] for a recapture rate of 0.30 with the same duration. For a nine-year study, the population size is estimated to 1350 and its 95%CI is [1200-1500] when the recapture rate is 0.20. With these estimates, we can expect to detect a decrease of 1.6% of the population each year at the end of the study period.

5- DISCUSSION

We obtained a genotyping success rate of 74%, which can be considered as high in comparison to the literature (for example Baldwin *et al.,* (2010) obtained 57% for the grey-headed fox (*Pteropus poliocephalus*) and Viglino *et al.*, (2016) got 53% for mouse-eared bats (*Myotis capaccinii, M. emarginatus* and *M. daubenonii*)). According to the results presented in the table 1, error rate obtained during our study was low indicating that NIGS is feasible and can be considered as a useful tool for individual identifications.

To our knowledge, this is the first published noninvasive genetic sampling study assessing individual identification in flying fox species. Among our seven polymorphic loci, five were sufficient for assessing the individuals level (Probability of identity <0.001 and probability of identity siblings <0.05). These low values of PID and PIDsib obtained for five loci suggest that we can identify individuals using a few numbers of loci, ranging between 5 and 7 (Inoue et al 2016; Brinkman et al., 2009; Marucco et al., 2009, Woods et al 1999). However, when considering the limit of 0.0001 and 0.01 for PID and PIDsibs respectively (Hedmark et al., 2004; Wultsch et al., 2014), additional markers are required to accurately distinguish siblings.

Although a low number of loci does not allow to discriminate individuals thus might lead to an underestimation of the population size (Woods et al 1999), a high number of loci can also have negative impact on individual identifications (Fickel and Hohmann, 2006). For example, our results show a proportion of false alleles estimated at 0.0022 for 7 microsatellite loci, thus corresponding to a mean proportion of FA of 0.0004 per locus. This value can decrease by increasing the number of loci and thus generate false unique genotypes, which can in turns, lead to an overestimation of the population size (Fickel and Hohmann, 2006). Woods et al (1999) reported for instance that a number of microsatellites ranging between 4 and 6 are

sufficient to accurately distinguish individuals and siblings of brown bears (Woods et al., 1999). For *P. livingstonii*, we considered that 5 microsatellite loci are sufficient to identify individuals given that the values of PID and PIDsib are below the thresholds (Table 1).

5.1- Demographic parameters

Application of NIGS-CMR methods to monitor P. livingstonii and costs

NIGS method is recommended by many authors for long-term monitoring of many mammal species including Brown Bears (*Ursus arctos*, Woods et al 1999), red wolf (*Canis rufus*, Adams and Waits, 2007) or Asian elephant (*Elephas maximus,* Hedges et al., 2013). According to our results, the method can accurately identify individuals and siblings of *P. livingstonii* using a few number of loci (N=5). NIGS combined with CMR appears thus as a valuable option compared to other methods such a physical CMR for instance. Indeed, it is much easier to implement NIGS in the field for this species because sample collections are carried out below known dormitory and can be collected anytime. It allows collecting CMR data without captures that can be harmful, either for the animal or for the observers, with such large species. Captures can also induce disturbances at the roosting site that might sometimes lead to roost abandonment. NGIS might also enables collecting some data with less capture heterogeneity than physical capture, as some individuals may be more difficult to catch than others. Finally, a NIGS-CMR study also allows avoiding trap-dependence, a typical source of bias when capture conditions are stressful for individuals (Rudy and Krebs, 1976).

Yet, according to our simulations, this method requires high expenses to obtain precise population size and demographic parameters estimates. For example, with a 3-years NIGS-CMR study with a recapture rate of 0.10 (cost USD 68,646) the precision of the demographic parameter estimates is low. Two sampling designs seemed relevant to get valuable estimations of demographic parameter: monitor the species over a 6-years period while increasing the sample collection by three (allowing to reach a recapture rate of 0.30 instead of 0.10); monitor the species over a 9-years period and simultaneously multiplying the sample collection by 2 (allowing to reach a recapture rate of 0.20). The cost of this second option is higher than the previous one (about USD 316,207 compare to USD 284,321) as increasing the sampling

collection a year (collect more samples when being in the field do not increase the cost) cost less than increasing the number of years of field work (transportation, etc.). Moreover, this second design requires more years to get precise estimates while in threatened species it is important to get demographic parameters as fast as possible.

Unfortunately, the cost of these designs, even the 6-year study, appears as prohibitively expensive to get precise population size and demographic parameters estimates of flying fox and the most fruit bat species. These fruit bat species are mostly found in poorest nations of Africa and Asia, where financial support for species conservation is limited (O'Brien et al 2011). These species are not as emblematic as tigers or lions and drive also less money for their conservation.

6- Conclusion

NGIS-CMR approach is practically feasible in flying fox species because the sample collection is easy but also because low genotyping errors can be found during laboratory analysis. This method appeared to be more robust for conservation purpose than traditional CMR approaches as it is less harmful for individuals. In the same analysis, other types of information such as genetic diversity and social structure (Solberg et al., 2006) or dispersion between roosts between seasons for instance can also be provided. The limit of the use of NIGS-CMR for tropical fruit bats is the high prices related to laboratory processes. These costs appear much higher than the amount of financial support that could be available for the conservation of fruit bat species in the poorest nations of Africa and some countries of Asia where these species are located. Yet the field effort to collect fecal samples is cheap, especially because direct counts at roost are usually conducted annually by some national and international NGOs (Dahari, Bat Conservation International for instance for *P. livingstonii*) so that the collection of fecal material can benefit from these field sessions. Because the cost of genetic analysis often decreases over time, collecting the samples every year, store them at (-20°C or -80°C to ensure for DNA conservation) and wait for a decrease of genotype analyses cost might be a valuable option to inform, hopefully not too late, the conservation strategy of these species.

Acknowledgments

We would like to thank the Comoros National Direction of Environment and Forests for permission to carry out fieldworks and to export feces samples (authorization number 002/KM/15/DNEF). The Rufford Foundation, through a Research Support Grant, funded much of the fieldwork. Lab analyses are partly funded by the Islamic Development Bank (IDB). The data used in this study was generated at the facility of the platform of “Genotypage-Séquençage” and “ADN dégradé” of the LabEx CeMEB Montpellier, France.

LITTERATURE CITED

Adams, J.R., Waits, L.P., 2007. An efficient method for screening faecal DNA genotypes and detecting new individuals and hybrids in the red wolf (Canis rufus) experimental population area. Conserv Genet 8, 123–131.

Andrianaivoarivelo, R.A., Andriafidison, D., Rahaingonirina, C., Raharimbola, S., Rakotoarivelo, A.A., Ramilijaona, O.R., Racey, P.A., Jenkins, R.K.B., 2011. A conservation assessment of Rousettus madagascariensis (Grandidier, 1929, Pteropodidae) roosts in eastern Madagascar. Madagascar Conserv. Dev. 6, 78–82. doi:10.4314/mcd.v6i2.6

Arandjelovic, M., Head, J., Rabanal, L.I., Schubert, G., Mettke, E., Boesch, C., Robbins, M.M., Vigilant, L., 2011. Non-invasive genetic monitoring of wild central chimpanzees. PLoS One 6. doi:10.1371/journal.pone.0014761

Archaux, F., Henry, P.Y., Gimenez, O., 2012. When can we ignore the problem of imperfect detection in comparative studies? Methods Ecol. Evol. 3, 188–194. doi:10.1111/j.2041-210X.2011.00142.x

Baldwin, H.J., Hoggard, S.J., Snoyman, S.T., Stow, A.J., Brown, C., 2010. Non-invasive genetic sampling of faecal material and hair from the grey-headed flying-fox (Pteropus poliocephalus). Aust. Mammal. 32, 56–61. doi:10.1071/AM09015

Blanc, L., Marboutin, E., Gatti, S., Gimenez, O., 2013. Abundance of rare and elusive species: Empirical investigation of closed versus spatially explicit capture-recapture models with lynx as a case study. J. Wildl. Manage. 77, 372–378. doi:10.1002/jwmg.453

Boston, E.S.M., Puechmaille, S.J., Scott, D.D., Buckley, D.J., Lundy, M.G., Montgomery, I.W., Prodöhl, P. a., Teeling, E.C., 2012. Empirical Assessment of Non-Invasive Population Genetics in Bats: Comparison of DNA Quality from Faecal and Tissue Samples. Acta Chiropterologica 14, 45–52. doi:10.3161/150811012X654259

Brinkman, T.J., Schwartz, M.K., Person, D.K., Pilgrim, K.L., Hundertmark, K.J., 2009. Effects of time and rainfall on PCR success using DNA extracted from deer fecal pellets. Conserv. Genet. 11, 1547–1552. doi:10.1007/s10592-009-9928-7

Brown, J.H., 1971. Mammals on Mountaintops : Nonequilibrium Insular Biogeography Author (s): James H . Brown Source : The American Naturalist , Vol . 105 , No . 945 (Sep . - Oct ., 1971), pp . 467-478 Published by : The University of Chicago Press for The American Socie. The Ameri 105, 467–478.

Buckland, S.T., Anderson, D.R., Laake, J.L., Burnham, K.P., Borchers, D.L., Thomas, L., 2004. Advanced distance sampling. Ecology 89, 416. doi:10.1890/0012-9658-89.12.3550

Costa, A., Basile, M., Crisci, A., Scinti Roger, D., Posillico, M., Balestrieri, R., Altea, T., De Cinti, B., Matteucci, G., Soppelsa, O., Romano, A., 2014. Assessing the abundance of Salamandrina perspicillata (Savi, 1821) using spatially and temporally replicated count data. Atti X Congr. Naz. Soc. Herpetol. Ital. Genova 63–69.

Coulson, T., Tuljapurkar, S., Childs, D.Z., 2010. Using evolutionary demography to link life history theory, quantitative genetics and population ecology. J. Anim. Ecol. 79, 1226–1240. doi:10.1111/j.1365-2656.2010.01734.x

Daniel, B.M., Green, K.E., Doulton, H., Mohamed Salim, D., Said, I., Hudson, M., Dawson, J.S., Young, R.P., 2016. A bat on the brink? A range-wide survey of the Critically Endangered Livingstone's fruit bat Pteropus livingstonii. Oryx 1–10. doi:10.1017/S0030605316000521

De Barba, M., Waits, L.P., Genovesi, P., Randi, E., Chirichella, R., Cetto, E., 2010. Comparing opportunistic and systematic sampling methods for non-invasive genetic monitoring of a small translocated brown bear population. J. Appl. Ecol. 47, 172–181. doi:10.1111/j.1365-2664.2009.01752.x

Dénes, F. V., Silveira, L.F., Beissinger, S.R., 2015. Estimating abundance of unmarked animal populations: Accounting for imperfect detection and other sources of zero inflation. Methods Ecol. Evol. 6, 543–556. doi:10.1111/2041-210X.12333

Ebert, C., Sandrini, J., Spielberger, B., Thiele, B., Hohmann, U., 2012. Non-invasive genetic approaches for estimation of ungulate population size: a study on roe deer (Capreolus capreolus) based on faeces. Anim. Biodivers. Conserv. 35.2, 267–275.

Elphick, C.S., 2008. How you count counts: The importance of methods research in applied ecology. J. Appl. Ecol. 45, 1313–1320. doi:10.1111/j.1365-2664.2008.01545.x

Entwistle, a C., Racey, P. a, Speakman, J.R., 2000. Social and population structure of a gleaning bat, Plecotus auritus. J. Zool. 252, 11–17. doi:10.1017/S095283690000902X

Fickel, J., Hohmann, U., 2006. A methodological approach for non-invasive sampling for population size estimates in wild boars (Sus scrofa). Eur. J. Wildl. Res. 52, 28–33. doi:10.1007/s10344-005-0003-5

Fox, S., Luly, J., Mitchell, C., MacLean, J., Westcott, D.A., 2008. Demographic indications of decline in the spectacled flying fox (Pteropus conspicillatus) on the Atherton Tablelands of northern Queensland. Wildl. Res. 35, 417–424. doi:10.1071/WR07127

Garel, M., Bonenfant, C., Hamann, J.-L., Klein, F., Gaillard, J.-M., 2010. Are abundance indices derived from spotlight counts reliable to monitor red deer Cervus elaphus populations? Wildlife Biol. 16, 77–84. doi:10.2981/09-022

Gervasi, V., Brøseth, H., Gimenez, O., Nilsen, E.B., Linnell, J.D.C., 2014. The risks of learning: Confounding detection and demographic trend when using count-based indices for population monitoring. Ecol. Evol. 4, 4637–4648. doi:10.1002/ece3.1258

Granek, E., 2002. Conservation of Pteropus livingstonii based on roost site habitat characteristics on Anjouan and Moheli, Comoros islands. Biol. Conserv. 108, 93–100. doi:10.1016/S0006-3207(02)00093-9

Hayman, D.T., McCrea, R., Restif, O., Suu-Ire, R., Fooks, A.R., Wood, J.L., Cunningham, A.A., Rowcliffe, J.M., 2012. Demography of straw-colored fruit bats in Ghana. J Mammal 93, 1393–1404. doi:10.1644/11-mamm-a-270.1

Hedges, S., Johnson, A., Ahlering, M.A., Tyson, M., Eggert, L.S., 2013. Accuracy, precision, and cost-effectiveness of conventional dung density and fecal DNA based survey methods to estimate Asian elephant (*Elephas maximus*) population size and structure. Biol. Conserv. 159, 101–108. doi:10.1016/j.biocon.2012.12.010

Hedmark, E., Persson, J., Ellegren, H., 2004. DNA-Based Individual and Sex Identification from Wolverine (Gulo Gulo) Faeces and Urine. Conserv. Genet. 5, 405–410. doi:10.1023/B

Hostetter, N.J., Gardner, B., Schweitzer, S.H., Boettcher, R., Wilke, A.L., Addison, L., Swilling, W.R., Pollock, K.H., Simons, T.R., 2015. Repeated count surveys help standardize multi-agency estimates of American Oystercatcher (Haematopus palliatus) abundance. Condor Ornithol. Appl. 117, 354–363. doi:10.1650/CONDOR-14-185.1

Jean-dominique, L., 1992. Modeling Survival and Testing Biological Hypotheses Using Marked Animals : A Unified Approach with Case Studies. Ecol. Modell. 62, 67–118.

doi:10.2307/2937171
Juste, J., 2000. Morphological and allozyme variation of Eidolon helvum (Mammalia: Megachiroptera) in the islands of the Gulf of Guinea. Biol. J. Linn. Soc. 71, 359–378. doi:10.1006/bijl.2000.0449
Kindberg, J., Ericsson, G., Swenson, J.E., 2009. Monitoring rare or elusive large mammals using effort-corrected voluntary observers. Biol. Conserv. 142, 159–165. doi:10.1016/j.biocon.2008.10.009
kunz, T., Betke, M., Hristov, N.I., Vonhof, M.J., 2009. Methods for assessing colony size, population size, and relative abundance of bats, in: Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats. pp. 133–157.
Marchandeau, S., Aubineau, J., Berger, F., Gaudin, J.-C., Corda, E., Reitz, F., Roobrouck, A., 2006. Abundance indices: reliability testing is crucial - a field case of wild rabbit Oryctolagus cuniculus. Wildlife Biol. 12, 19–27. doi:10.2981/0909-6396(2006)12[19:AIRTIC]2.0.CO;2
Marucco, F., Pletscher, D.H., Boitani, L., Schwartz, M.K., Pilgrim, K.L., Lebreton, J., 2009a. Wolf survival and population trend using non-invasive capture – recapture techniques in the Western Alps 1003–1010. doi:10.1111/j.1365-2664.2009.01696.x
Marucco, F., Pletscher, D.H., Boitani, L., Schwartz, M.K., Pilgrim, K.L., Lebreton, J.D., 2009b. Wolf survival and population trend using non-invasive capture-recapture techniques in the Western Alps. J. Appl. Ecol. 46, 1003–1010. doi:10.1111/j.1365-2664.2009.01696.x
Marucco, F., Vucetich, L.M., Peterson, R.O., Adams, J.R., Vucetich, J.A., 2012. Evaluating the efficacy of non-invasive genetic methods and estimating wolf survival during a ten-year period. Conserv. Genet. 13, 1611–1622. doi:10.1007/s10592-012-0412-4
Mcilwee, A.P., Martin, L., 2002. On the intrinsic capacity for increase of Australian flying-foxes (Pteropus spp., Megachiroptera).pdf. Zoologist 32, 76–100.
McNab, B.K., Armstrong, M.I., 2001. Sexual Dimorphism and Scaling of Energetics in Flying Foxes of the Genus Pteropus. J. Mammal. 82, 709. doi:10.1644/1545-1542(2001)082<0709:SDASOE>2.0.CO;2
Morin, P.A., Chambers, K.E., Boesch, C., Vigilant, L., 2001. Quantitative polymerase chain reaction analysis of DNA from noninvasive samples for accurate microsatellite genotyping of wild chimpanzees (Pan troglodytesverus). Mol. Ecol. 10, 1835–1844. doi:10.1046/j.0962-1083.2001.01308.x
O'Brien, J., McCracken, G.F., Say, L., Hayden, T.J., 2007. Rodrigues fruit bats (Pteropus rodricensis, Megachiroptera: Pteropodidae) retain genetic diversity despite population declines and founder events. Conserv. Genet. 8, 1073–1082. doi:10.1007/s10592-006-9263-1
Peakall, R., Smouse, P.E., 2012. GenALEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics 28, 2537–2539. doi:10.1093/bioinformatics/bts460
Pradel, R., 1996. Utilization of Capture-Mark-Recapture for the Study of Recrutment and Population Growth Rate. Biometrics 52, 703–709.
Pradel, R., Hines, J.E., Lebreton, J.-D., Nichols, J.D., 1997. Capture-Recapture Survival Models Taking Account of Transients. Biometrics 53, 60–72.
Puechmaille, S.J., Petit, E.J., 2007. Empirical evaluation of non-invasive capture – mark – recapture estimation of population size based on a single sampling session 843–852.

doi:10.1111/j.1365-2664.2007.01321.x
R Development Core Team, 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Found. Stat. Comput. Vienna Austria 0, {ISBN} 3-900051-07-0. doi:10.1038/sj.hdy.6800737
Ringsby, T.H., Jensen, H., Pärn, H., Kvalnes, T., Boner, W., Gillespie, R., Holand, H., Hagen, I.J., Rønning, B., Sæther, B.-E., Monaghan, P., 2015. On being the right size: increased body size is associated with reduced telomere length under natural conditions. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 282, 20152331. doi:10.1098/rspb.2015.2331
Rudy, B., Krebs, C.J., 1976. The effect of odour on trap response in Microtus townsendii. J. Zool., L. 180, 467–476.
Ruell, E., Riley, S., Douglas, M., Pollinger, J., Crooks, K., 2009. Estimating bobcat population sizes and densities in a fragmented urban landscape using noninvasive capture-recapture sampling. J. Mammal. 90, 129–135. doi:10.1644/07-MAMM-A-249.1
Schwartz, M.K., Monfort, S.L., 2008. Genetic and Endocrine Tools for Carnivore Surveys. Noninvasive Surv. Methods Carniv. 228–262.
Schwarz, C.J., Arnason, A.N., 1996. A General Methodology for the Analysis of Capture-Recapture Experiments in Open Populations. Biometrics 52, 860–873. doi:10.1002/0471667196.ess0146.pub2
Sewall, B.J., Granek, E.F., Moutui, M.F.E., Trewhella, W.J., Reason, P.F., Rodríguez-clark, K.M., Saïd, I., Carroll, J.B., Masefield, W., Vély, M., Mohadji, F., Feistner, A.T.C., Wells, S., 2007. Conservation Action Plan for Livingstone's Flying Fox, A Strategy for an Endangered Species, a Diverse Forest, and the Comorian People. Conserv. Action Plan Livingstone's Fly. Fox 1–52.
Sewall, B.J., Young, R., Trewhella, W.J., Rodríguez-Clark, K.M., Granek, E.F., 2016. Pteropus livingstonii, Livingstone's Flying Fox. IUCN Red List Threat. Species 2016 e.T18732A22081502.
Sibly, R.M., Collett, D., Promislow, D.E.L., Peacock, D.J., Harvey, P.., 1997. Mortality rates of mammals. J. Zool. 243, 1–12. doi:10.1111/j.1469-7998.1997.tb05751.x
Smith, S.J., Leslie, D.M., 2006. Pteropus livingstonii. Mamm. Species 792, 1–5. doi:10.1644/792.1
Solberg, K.H., Bellemain, E., Drageset, O.-M.M., Taberlet, P., Swenson, J.E., 2006. An evaluation of field and non-invasive genetic methods to estimate brown bear (Ursus arctos) population size. Biol. Conserv. 128, 158–168. doi:DOI 10.1016/j.biocon.2005.09.025
Spehar, S.N., Loken, B., Rayadin, Y., Royle, J.A., 2015. Comparing spatial capture-recapture modeling and nest count methods to estimate orangutan densities in the Wehea Forest, East Kalimantan, Indonesia. Biol. Conserv. 191, 185–193. doi:10.1016/j.biocon.2015.06.013
Stenglein, J.L., Waits, L.P., Ausband, D.E., Zager, P., Mack, C.M., 2011. Estimating gray wolf pack size and family relationships using noninvasive genetic sampling at rendezvous sites. J. Mammal. 92, 784–795. doi:10.1644/10-MAMM-A-200.1
Stephens, P.A., Zaumyslova, O.Y., Miquelle, D.G., Myslenkov, A.I., Hayward, G.D., 2006. Estimating population density from indirect sign: Track counts and the Formozov-Malyshev-Pereleshin formula. Anim. Conserv. 9, 339–348. doi:10.1111/j.1469-1795.2006.00044.x
Taberlet, P., Camarra, J.J., Griffin, S., Uhres, E., Hanotte, O., Waits, L.P., DuboisPaganon, C., Burke, T., Bouvet, J., 1997. Noninvasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population. Mol. Ecol. 6, 869–876. doi:10.1111/j.1365-294X.1997.tb00141.x

Taberlet, P., Waits, L.P., Luikart, G., 1999. Noninvasive genetic samplig: look before you leap. TREE 14, 223–227.

Thomas, K.D., Mannino, M.A., 2017. Making numbers count: Beyond minimum numbers of individuals (MNI) for the quantification of mollusc assemblages from shell matrix sites. Quat. Int. 427, 47–58. doi:10.1016/j.quaint.2015.10.066

Thompson1, W.L., 2002. Overview Towards Reliable Bird Surveys: Accounting for Individuals Present But Not Detected. Auk 119, 18–25. doi:10.1642/0004-8038(2002)119

Tuljapurkar, S., Haridas, C. V., 2006. Temporal autocorrelation and stochastic population growth. Ecol. Lett. 9, 324–334. doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00881.x

Utzurrum, R.C.B., Wiles, G.J., Brooke, A.P., Worthington, D.J., 2003. Count Methods and Population Trends in Pacific Island Flying Foxes. Monit. trends bat Popul. United States Territ. Probl. Prospect. 3, 49–62.

Valière, N., 2002. a computer program for analysing genetic GIMLET. Mol. Ecol. Notes 2, 377–379. doi:10.1046/j.1471-8278

Valière, N., Fumagalli, L., Gielly, L., Miquel, C., Lequette, B., Poulle, M.-L., Weber, J.-M., Arlettaz, R., Taberlet, P., 2003a. Lond-distance wolf recolonization of France and Switzerland inferred from non invasive genetic sampling over a period of 10 years. Anim. Conserv. 6, 83–92. doi:10.1017/S1367943003111

Valière, N., Fumagalli, L., Gielly, L., Miquel, C., Lequette, B., Poulle, M.L., Weber, J.M., Arlettaz, R., Taberlet, P., 2003b. Long-distance wolf recolonization of France and Switzerland inferred from non-invasive genetic sampling over a period of 10 years. Anim. Conserv. 6, 83–92. doi:10.1017/S1367943003003111

Vardon, M.J., Tidemann, C.R., 2000. The black flying-fox (Pteropus alecto) in north Australia: juvenile mortality and longevity. Aust. J. Zool. 48, 91–97.

Webala, P.W., Musila, S., Makau, R., 2014. Roost occupancy, roost site selection and diet of Straw-Coloured Fruit Bats (Pteropodidae: *Eidolon helvum*) in western Kenya: The need for continued public education. Acta Chiropterologica 16, 85–94. doi:10.3161/150811014X683291

Williams, B.K., Nichols, J.D., Conroy, M.J., 2002. Analysis and Managment of Animal Population, Academic P. ed. San Diego.

Woodruff, S.P., Lukacs, P.M., Christianson, D., Waits, L.P., 2016. Estimating Sonoran pronghorn abundance and survival with fecal DNA and capture–recapture methods. Conserv. Biol. 30, 1102–1111. doi:10.1111/cobi.12710

Woods, J.G., Paetkau, D., Lewis, D., McLellan, B.N., Proctor, M., Strobeck, C., 1999. Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. Wildl. Soc. Bull. 27, 616–627. doi:10.2307/3784082

Wultsch, C., Waits, L.P., Kelly, M.J., 2014. Noninvasive individual and species identification of jaguars (Panthera onca), pumas (Puma concolor) and ocelots (Leopardus pardalis) in Belize, Central America using cross-species microsatellites and faecal DNA. Mol. Ecol. Resour. 14, 1171–1182. doi:10.1111/1755-0998.12266

Chapitre 5

5- La pauvreté est la principale cause de l'utilisation non durable des ressources naturelles dans l'Union des Comores



Collecte du bois à Anjouan

Photo : © Mohamed-Thani

Poverty is the main driver of unsustainable use of natural resources in the Comoros Islands

Mohamed Thani IBOUROI, Nicolas LESCUREUX, Said Ali Ousseni DHURHAM and Aurélien BESNARD

Article en ***Préparation***

Contexte

Cette partie de la thèse a pour objectif de caractériser l'attitude de la population locale vis-à-vis de la biodiversité, sa connaissance des espèces ainsi que les pressions qu'elle exerce sur les habitats et sur la biodiversité. Le but est d'identifier des actions pertinentes et des stratégies efficaces pour la conservation de la biodiversité et des habitats naturels. Cette étude vise donc à déterminer quelles représentations ont les populations locales vis-à-vis de la biodiversité afin de déterminer quelles sont les difficultés mais aussi les bras de levier potentiels pour améliorer la conservation de cette biodiversité.

Matériels et Méthodes

J'ai réalisé l'étude avec deux approches différentes mais complémentaires. Dans une première approche, j'ai mené des interviews semi-dirigées dont l'objectif était de faire émerger toute information concernant les utilisations potentielles des ressources naturelles mais aussi de clarifier les attitudes des villageois vis-à-vis de la biodiversité en général et des chauves-souris en particuliers. Pour cela, une série de **30** questions a été posée à **27** participants et les réponses ont été enregistrées dans un dictaphone. A partir des réponses obtenues, j'ai ressorti les perceptions et attitudes des villageois ainsi que leurs représentations vis-à-vis de la biodiversité et des habitats naturels.

La deuxième approche reposait sur la méthode de Q-sort pour évaluer les différents points de vue de la population locale en fonction des différents groupes sociaux (niveaux d'éducation et niveaux professionnels, différents classe d'âges, zones géographiques etc.). Cette étude consistait à soumettre une série de propositions (items) variées et disparates (33 affirmations sous forme de carte) parmi lesquelles chaque personne interrogée choisit celles auxquelles elle adhère (+4 signifie qu'il est plus d'accord avec l'affirmation) et celles qu'elle rejette (-4 signifie que la personne rejette totalement l'affirmation et qu'elle moins d'accord).

Au cours de cette étape, **30** personnes ont été sélectionnées pour participer à l'enquête et les analyses de ces données ont été réalisées en utilisant des modèles multivariés avec le programme R et les package *Q-methodology* et ade4 permettant de mettre évidence les divergences et les points de convergence entre les personnes enquêtées.

Résultats principaux

Les populations locales enquêtées sont fortement liées à l'utilisation des ressources naturelles et l'exploitation des habitats naturels notamment pour la culture en milieux forestier mais aussi pour la collecte des bois d'œuvres.

Ces communautés rurales des Comores ont des attitudes positives vis-à-vis de la biodiversité d'une manière générale et considèrent les chauves-souris en particulier comme étant des espèces de grande importance pour la régénération des forêts naturelles mais aussi pour les cultures fruitières. A ces visions positives sur la biodiversité s'ajoute aussi d'attitudes positives vis-à-vis de la conservation de la biodiversité en général.

Les approches adoptées lors de cette étude permettent de souligner une nette séparation de la population locale vis-à-vis de l'utilisation des ressources naturelles et de la gestion des habitats naturels. Tout d'abord, les populations locales ayant des niveaux d'éducation assez élevés et ayant des activités professionnelles sont en faveur d'une gestion durable des ressources naturelles et de la conservation de la biodiversité, notamment à travers le rôle de l'Etat. Les personnes démunies avec des niveaux éducatifs assez faibles ne pensent qu'à des intérêts immédiats issus des ressources naturelles et pensent que c'est à eux de gérer la forêt et les ressources naturelles.

La (sur)exploitation de la forêt étant une question de survie pour la population locale malgré le fait qu'elle connaisse l'importance de sa conservation, assurer le maintien de la biodiversité et des habitats naturels aux Comores ne sera possible qu'en associant les populations rurales aux responsabilités de conservation de ces zones naturelles. La meilleure stratégie de conservation à adopter dans ces îles est de ce fait de contribuer à l'amélioration de leur niveau de vie par la création de différentes activités générant des revenus, de créer d'autres projets de conservation mais aussi de renforcer l'écotourisme dans ces îles afin de

réduire la nécessité pour cette population de dépendre directement de l'exploitation de la forêt.

Poverty is the main driver of unsustainable use of natural resources in the Comoros Islands

Mohamed Thani IBOUROI[1,2], Nicolas LESCUREUX[1], Said Ali Ousseni DHURHAM[3] and Aurélien BESNARD[1]

1-EPHE, PSL Research University, CNRS, UM, SupAgro, IRD, INRA, UMR 5175 CEFE, F-34293 Montpellier, FRANCE

2-Institut des Sciences et Industrie du Vivant et de l'environnement, AgroParisTech, 19 Avenue de Maine 75015 Paris, France

3-Département de Biologie Animale et Ecologie, Faculté des Sciences, Université de Mahajanga, Campus Universitaire d'Ambondrona, BP 652, Mahajanga, Madagascar

1-ABSTRACT

The Comoros archipelago is considered a biodiversity hotspot due to its high level of endemism. It however suffers one of the highest rates of natural habitat loss in the world. In this study, we used semi-structured interviews and Q-methodology approach to assess how local communities use natural resources. We investigated the local human subjectivity and perceptions toward biodiversity in general as well as toward conservation actions. According to our results, all interviewed people received direct benefits from forests and their livelihood sources come from subsistence of natural resources. Although local people are using natural resources in an unsustainable way, they have positive perception toward biodiversity and reported that wild animals are useful for their subsistence. The lack of governmental assistance is claimed as the main cause leading to forest over-harvesting. According to our results, formal education and employment appeared to influence the ranking of statements. Respondents with a higher formal education level and employment were more in favor of long-term forest and biodiversity conservation. In contrast, respondents with low level of formal education and often unemployed were in favor of more immediate benefits. These results suggest that the lack of livelihoods for rural people is the main factor leading them to over-harvest natural resources. The most relevant conservation management plan to develop in these islands should be programs allowing to tackle the poverty of people living around natural forests. This strategy could firstly build on the needs of local communities which can allow them to be less dependent to natural forests.

Key words: Comoros Islands, Fruit bats, Habitat loss, Socio-economic level, Q-sort, Conservation strategies

2- INTRODUCTION

Biodiversity and natural resources provide many direct and indirect services to human society and are fundamental for their well-being (Giannini et al., 2012; Zhao et al., 2016). As a consequence, human populations strongly depend on natural ecosystems (Zhu et al., 2016). This is especially true for the poorest populations of several under-developed countries that largely and directly depend on plants for foods, for building materials and for natural medicines as well as on wild animals for meat (Ryan et al., 2016). However, biodiversity and natural resources are experiencing a continuous degradation due to human actions. Management measures of biodiversity and natural resources are crucially needed in many developing countries (Jantz et al., 2015; Ripple et al., 2016) as well as in developed ones (Herbert et al., 2016).

Biodiversity and natural resource management implemented in natural ecosystems of developing countries often relies on ecological, genetic or demographic monitoring of only a few target species, and often neglects human societies who crucially depend on this biodiversity (Fritz-Vietta, 2016). Neglecting local population needs and practices in such situations often results in conflicts between biodiversity managers and local populations. This eventually leads to negative attitudes against biodiversity conservation plans that in turn affect both the efficiency of these biodiversity conservation plans but also local population livelihood (Debata et al., 2017; Fritz-Vietta, 2016; Sournia, 1990).

The implementation of conciliation between local population needs and natural resource use is now claimed as fundamental for ensuring success of long-term biodiversity management plans especially in developing countries (Drescher et al., 2016; Martin et al., 2016). This understanding indeed allows to develop management plans that secure both livelihoods and well-being of rural populations and biodiversity conservation (Boron et al., 2016; Helm Aveliina, 2006).

The Comoros archipelago is considered (among other Indian Ocean islands) as a biodiversity hotspot because of its high level of endemism (Myers et al., 2000). Natural habitats in these islands are facing the highest rate of habitat loss in the world (9.3% each year, FAO 2010; Daniel et al., 2016). The Union of Comoros is one of the poorest nations in the world (Bourgoin et al., 2017) and about 72% of the population directly depend on forest resources for

subsistence (Bourgoin et al., 2017; Fisher and Christopher, 2007). Indeed, according to Fisher and Christopher (2007), 60% of Comorian people live below poverty line and 49% are undernourished. Moreover the islands suffer a fast-growing population that induces a strong need of lands for agriculture and also wood exploitation for building (Elvidge et al., 2009). This intensive land use is the direct cause of the huge rate of natural habitat loss observed in the archipelago. The current pressure on natural habitats, especially natural forests, alters the ecosystem service they provide.

Pteropus livingstonii and *P.seychellensis comorensis* are two fruit bat species endemic to the Comoros archipleago and among the most threatned fauna on these islands (Goodman et al., 2010). These two flying fox species differ by their feeding and roosting behavior as well as by their dispersal patterns (Norberg et al., 2000; Trewhella et al., 2001). *P. livingstonii* is confined to the remaining mountain forests of the Anjouan and Mohéli Islands, while *P. s. comorensis* is widely distributed over all four islands of Comoros, as well as Mafia Island in Tanzania (Cheke 2011). These two fruit bat species are important ecosystem service providers as they are pollinators and seed dispersers. Their large body size and the fact that they live in large colonies allow them to disperse a large quantity of seeds over wide areas (Hernández-Montero et al. 2015; Razafindratsima 2014). They thus have a potentially crucial impact both on forest regeneration and the cultivation of plants. Despite their importance in the ecosystem functioning, these two flying fox species face intense anthropogenic pressures as they live in an area where people largely depend upon natural habitats, especially forests for subsistence resources such as fuelwood, building materials, medicinal plants, wild animal hunting and wild fruits (Daniel et al., 2016). Their potential extinction at relatively short-term may pose some ethical issues in terms of biodiversity conservation but will also affect the ecosystem functioning and in turn should affect the local human population whose subsistence relies on the forest (Trewhella et al., 2001). A conservation plan for these species and their habitats is crucially needed.

Some conservation actions have been carried out in the three islands of Comoros for several years by different Comorian institutions such as the “Direction Générale de l’Environnement et des Forêts” in order to develop management plans and conservation

measures for biodiversity including flying fox (*P. livingstonii*, Ibouroi obs. pers). However, these initiatives generally remain limited to administrative documents and were not converted into concrete actions in the field. Other conservation initiatives have been implemented by local and international NGOs, such as the NGO "Community Engagement for Sustainable Development (ECDD) 2008-2013", and the “International Action Comoros” in order (1) to improve local community livelihood, (2) to carry out a long-term monitoring of *P. livingstonii* and (3) to propose conservation measures (Sewall et al., 2007; Trewhella et al., 2005). However, these conservation projects did not achieve their objectives. Some studies have notably concluded that the most relevant and durable conservation actions to carry out for these species and their habitats could be a conservation strategy attempting to link social development with nature protection by involving rural communities in conservation programs and connecting them with scientists, forest managers and the government (Granek and Brown, 2005).

In this study we used semi-structured interviews and Q-methodology approach in order to assess relationships between the local community and natural resource uses and their impacts on natural habitats. More specifically we assessed (1) how rural informants perceive benefits from natural resources and how they impact biodiversity, (2) the various knowledge, perceptions and attitudes towards biodiversity in general, bat species in particular as well as conservation actions in general. As social factors such as age, activity, level of formal education, and geographic localization can affect knowledge and determine attitude and perceptions, we assessed what factors might be related to positive or negative perception towards forests, biodiversity and flying foxes conservation. Such information might help to understand the representation of the local community for this biodiversity, to interpret the on-going natural habitat evolution and to predict its future allowing us to subsequently propose some relevant long-term conservation actions and habitat management.

3- MATERIALS AND METHODS

3.1- Study area

The Comoros archipelago is located in the indian ocean, midway between Madagascar and the eastern coast of Africa. This archipelago comprises four islands: Grande Comore, Mohéli, Anjouan (the three islands being the Union of the Comoros), and Mayotte (an overseas department of France). The Comoros Islands cover 1,862 km^2 without Mayotte and represent the third-smallest African nation in terms of surface (Michon, 2016). Populations from these islands are mainly muslims and are ones of the poorest people in the world (Elvidge et al., 2009). Comoros's people have multiple origins including Africa, Arabian Peninsula and the Persian Gulf, Malay Archipelago, and Madagascar (Msaidie et al., 2011). These islands are separated each other by a distance of about 40-80 km. Since their emergence, about 7 million years ago, these islands have never been connected to a continental mainland nor to each other (Louette et al., 2004). Our study focused on the three islands of the Union of the Comoros only.

In these three islands of the Union of Comoros, natural resource uses differ between islands and depend to the different interests and practices of the various social groups (Sewall et al., 2007). These differences affect in turns the rate of habitat loss or fragmentation of forests. For example, the Anjouan Island suffers from the highest human population growth (6.5% per year) of the archipelago, which has direct consequences on land conversion. On this island, more than 85% of natural habitats have been converted into farmland, urban area and secondary forest from 1972 to 1987 (Goodman et al., 2010). In contrast, habitat loss is relatively limited in the Mohéli Island, probably because of the presence of a protected area (the Mohéli Marine Park, MMP). In Mohéli, this marine protected area was established in 2000. The goal was to protect a 404 km^2 of marine area which represents the natural habitat of many endemic and threatened marine taxa such as the coelacanth (*Latimeria chalumnae*), humpback whales *(Megaptera novaeangliae)*, dugong *(Dugong dugon)* and tortoise *(Chelonia mydas)*. The presence of this marine protected area in Mohéli represents an important source of incomes for local communities. Indeed several members of the community were hired by the park as regular staff (Granek and Brown, 2005). Many tourists also arrive to visit the endemic marine taxa and

take opportunity to discover other terrestrial endangered species such as the Livingstone's flying fox (*Pteropus livingstonii).* This touristic activity generates direct financial incomes for some local people (for example for guide payment, hotel...). Since 2016, all terrestrial areas where natural forests are located (the Mledjelé forest, the Mze-koukoule forest and the forest of Siri-ziroudani) are included in the protected area and the status of Mohéli Marine Park has evolved to Mohéli National Park that aims at contributing to habitat loss reduction and threatened species management.

3.2- Data collection

For our study, we targeted people living in villages within 1-5 km around forests. Our study involves the villages of Walla 1, Walla 2, Ndrondroni, Nioumachoua (Mohéli Island), the villages of Mpagé, Moya, Ouzini, Salamani, Ngazalé, Domoni, Mromaji, Adda and Limbi (Anjouan Islands) and the villages of Ntsinimoipanga, Mohoro, Nioumamilima, Nioumadzaha, Djoumoichongo, and Maoueni ya Mboudé (Grande Comore Island, Figure s1). All interviewed people were randomly selected in villages during their activities or during our prospection in forests.

3.2.1- Semi-structured questionnaire

Interviews were conducted between January and April 2016. Based on an interview guide (table 1) made of 30 questions, we conducted semi-structured interviews that aim at getting information regarding natural resource uses and their consequences on forests (Sodhi et al., 2010). Individual interviews were carried out by two researchers in isolated place to avoid all influence of the discussion by other persons. Discussions and information records took about one hour each. All responses were recorded with a dictaphone. Interviews were carried out in local language in order to facilitate discussion and the recorded information was translated and transcribed literally in French for analysis and was later translated into English. For each interviewed person, we also reported its gender, age, residency, socio-professional activity and level of formal education. To facilitate data analysis, we asked for the same information and questions were formulated in the same way for all interviewers.

Table 1. First interviews with rural population in the Comoros

n°	Statement
1	Do you often go to the forest?
2	Which activities do you have in the forest?
3	Who is logging wood / exploiting the forest? Where do they come from?
4	Do you know about the history of this forest?
5	Did you notice any change in the forest?
6	What would you like this forest to become?
7	If the forest would disappear, what would be the change to you?
8	What are the wild animals you know in this forest?
9	Do you have relationships with these animals? What are these animals to you?
10	Are some wild animals hunted? What for?
11	Who are the people hunting wild animals?
12	Which hunting technique is more spread and more efficient?
13	Did you notice an increase or a decrease of wild animals?
14	Do you know bats?
15	Which type of bats have you encountered during your life?
16	Where do these bats live?
17	Where do these bats feed?
18	What do you think about these bats?
19	What are your daily activities?
20	Do you cultivate? What do you cultivate?
21	In which area do you prefer to cultivate?
22	Which type of culture do you
23	Have you noticed any change in crop production compared to the past?
24	What are the difficulties encountered to develop your cultivation?
25	Does the state take an interest in your activities? Does it provide any help?
26	Do the NGOs take an interest in your activities? Do they provide any help?
27	What would you like to do to improve your activities?
28	Do you know what a protected area is?
29	Would you agree if a protected area would be put in place in this forest?
30	What areas would you suggest to become protected areas?

3.2.2- Q-methodology

Q-methodology is a classical method applied to reveal human subjectivity and attitudes towards a defined issue. It specifically aims at underlying patterns among the targeted population that have broad shared common points and divergences (Watts and Stenner, 2012, 2005). Q-methodology combines qualitative study of attitudes with statistical rigors of quantitative research techniques (Watts and Stenner, 2012, 2005). It is increasingly applied in different scientific researches among which environmental studies, environmental management, policy, and conservation biology (Debata et al., 2017; Kamal and Grodzinska-Jurczak, 2014). Q-methodology involves four main steps including, (1) identify a concourse of statements, (2) select statements to consider as Q-sort (Q-sort is a sample of statements selected among different issues and typically printed on small cards), (3) administer Q-sort qualitative surveys, and (4) analyze data using factorial analysis (Eden et al., 2005; Kamal and Grodzinska-Jurczak, 2014).

During this study, Q-methodology approach was conducted between August and October 2016 to sort out different local perceptions towards biodiversity and to assess the relationships between the on-going natural forests and natural resource use by local population. Our previous semi-structured interviews with local population (see above) were used to select an ensemble of 60 opinion statements expressed by the participants. The statements were then grouped into five main topics: (i) land use, (ii) living activity of local population, (iii) importance of forest and biodiversity for local population, (iv) importance of flying fox for both forest and local community, (v) relevance of a protected area in order to allow long term conservation of biodiversity and natural habitats. Among the 60 selected statements, a subset of 33 items called the 'Q-sample' or 'Q-sorts' was then selected to be presented to the next participants to Q-sort survey. All the Q-sorts were reported on 33 different cards numbered from 1 to 33. In order to have the opinion of each participant and their common and divergence points, participants were asked to sort this list of 33 items according to a nine-point scale of agreement/disagreement (4, 3, 2, 1, 0, -1, -2, -3, -4) forcing them to rank their opinions (figure 1). Each participant was then asked to explain their most extreme choices (-4 and +4) which was

used to interpret the results. For each participant, we recorded its geographic location, village, age, sex, living activity and level of formal education. This dataset (including individuals in lines and score for each question in rows) was analyzed with multivariate analyses to identify an ensemble of components clustering the different participants sharing the same statements or on the contrary segregating some participants.

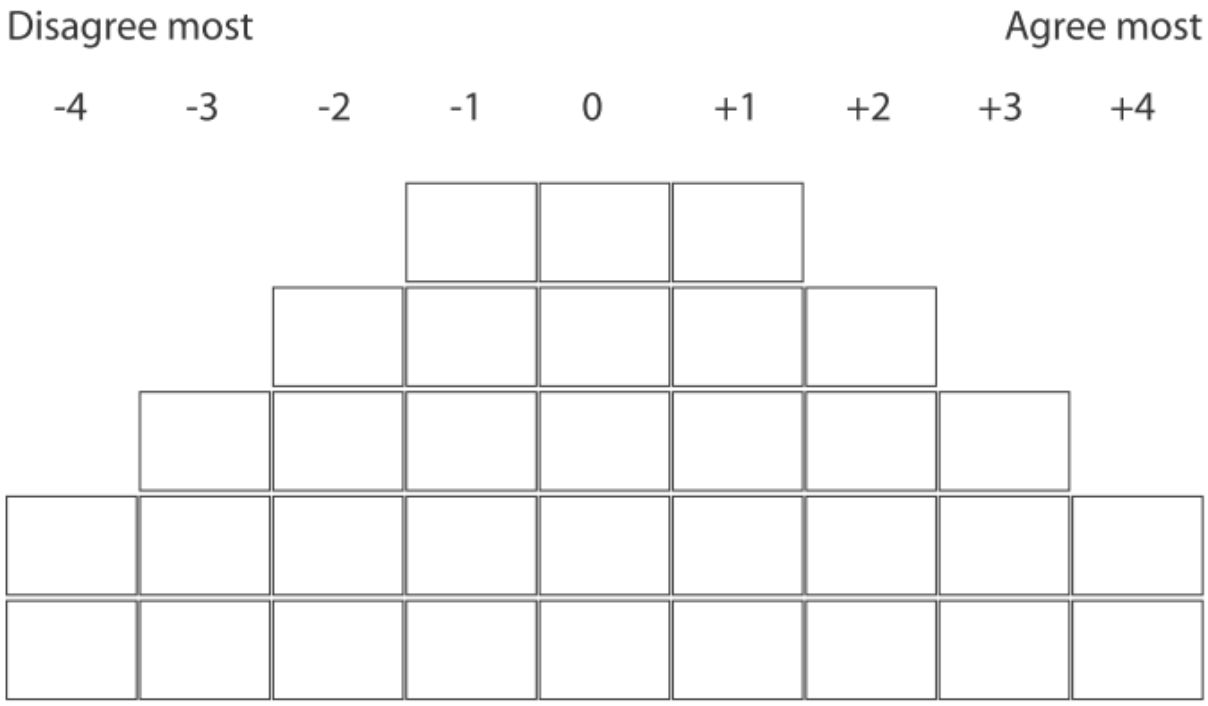


Fig. 1: Q sort template with the 33 grids

These analyses were performed using the environmental R 3.3.0 (R Development Core Team, 2016). More specifically we used a varimax approach, classically used in Q-sort data analysis and implemented in the package Q-methodology (Zabala, 2014). Additionally, we analyzed the dataset with an inter-class Principal Component Analysis (PCA) implemented in ade4 (Thioulouse and Dray, 2007). This analysis rotates the selected PCA axes to maximize the correlation among predefined groups. More specifically, we used this analysis to test the discrimination between (1) the group of employed people with high level of formal education (Employed_HLE) and the group of unemployed people with low level of formal education (unemployed), (2) the people from the three different islands of the archipelago, (3) two age

classes - the group of young people (19-35 years old) and the group of older people (36-65 years old). We tested whether these predefined groups significantly differed from each other in term of Q-sort scoring. A permutation test based on 1000 permutations was performed to test for significance of the discrimination. The tests were considered significant when the p-value were < 0.05.

4- RESULTS

4.1- Semi-structured questionnaire and classical interviews with local population

40 persons were asked for participating to the interviews among which 13 declined and 27 agreed. Among the declined, there were one man and 12 women. Among the 27 interviewed people, one respondent was under 18 years old and was excluded from the analysis. Among the 26 respondents, we had 23 men and 3 women. The ages of interviewed people varied from 22 to 65 years and average to 41 years old. Among the interviewed people, 14 lived in the island of Anjouan, 7 in Mohéli and 5 in the Grande Comore.

Table 2: Factor arrays with individual statements scores of Factors 1 and 2 with Q sort method

No.	Statements	Factor 1	Factor 2
1	It is mainly villagers who are cutting trees	0	-1
2	People from this village do not cut trees, wood logging is prohibited	-3	0
3	It would be good if the natural forest is reestablished as before	3	4
4	Forest is declining on the island	2	2
5	If the forest disappears from the island, people will also disappear	3	3
6	We must continue to deforest because we need more land to cultivate	-4	-2
7	If people collect wood, it is mainly to sell it	-1	-3
8	The forest should be managed by villagers	0	3
9	There are many outsiders coming to the village to hunt	-2	-3
10	Only children and teenagers hunt in our village	-2	-2
11	There is no hunting here because it's too difficult to hunt	-1	-2
12	It is prohibited to kill bats	0	2
13	Comorians do not eat fruit bats	-1	2
14	Wild animals are decreasing in our regions	2	2
15	In general, animals are not useful	-4	-4
16	Some wild animals destroy our plantations	-2	1
17	If wildlife disappear, our plantation will decrease	1	0
18	Fruit bats have no usefulness	-3	-4
19	Agriculture and farming are the only possible living activities here	-1	1
20	There are not enough people who cultivate	1	-2
21	Cultures should be mainly developed in plains	0	0
22	We need to cultivate more land because land produces less than before	-2	0
23	Agriculture is not profitable because prices are too low	1	-1
24	Cultures do not produce enough because there are many diseases	2	0
25	There are many problems with robbery in plantations	4	-1
26	Rice cultivation should be further developed	1	-1
27	It is important to preserve traditional agriculture	-1	1
28	The Comorian government often helps local populations	-3	-3
29	Project / NGO money never reaches farmers	0	-1
30	Aid is needed to develop new agricultural techniques	3	1
31	Tourism activities should be developed on the island	4	4
32	Fishing brings a lot of revenue for us	1	3
33	There should be some areas where environment and animals could be protected	2	1

All the interviewed people perceived profits from forests and used natural resources for everyday life (Table 3). All respondents stipulated that they were going in forest to work, 83% for agriculture and cultivation, and 12% to collect woods (Table 3). When answering to the question: “If this natural forest disappears completely, could that imply any changes for you? What interest brings natural forest to your well-being?”, most respondents (84%) highlighted that forest is necessary for soil fertility and thus necessary for agriculture and it is important to maintain water source.

4.1.1-Local perception of wild animals

Of the respondents questioned, 96% reported to know the component of biodiversity and its importance for their subsistence. Among this 96%, 63% have positive perception towards wild animals and reported that wild animals are useful for their being while 32% proclaimed that some wild animals are useful and others are harmful.

Table 3: Different responses according to the first interviews with local population: different attitudes towards biodiversity and fruit bats and habitat management; ST= Statements, NBR=number of interviewed people, NBDR= number of different responses, R1=Response 1, R 2=response2? R 3=response3, R 4=response 4, Fce 1= Frequency of R 1, Fce 2= Frequency of R 2, Fce 3= Frequency of R 3, Fce 4= Frequency of R 4

ST	NBR	NBDR	R 1	FceR1	R 2	FceR 2	R 3	FceR 3	R 4	FceR 4
1	26	0	I go mostly in the forest to work	100,00						
2	26	4	Cultivation, agriculture	0,85	wood collection	0,12	Bat monitoring	0,04	surveying forest	0,08
3	26	4	Villagers	0,27	by outsiders	0,19	from all regions	0,27	No forest disturbance	0,15
4	25	2	Yes I know	0,92	No I don't know	0,08				
5	25	2	Forest decreasing	0,92	No idea	0,08				
6	26	3	Need for the forest to be reestablished	0,92	No need for reestablishment	0,04	Need forest reestablishment with government assistance	0,04		
7	26	0	If the forest disappears, we will have great problems, no life	1,00						
8	26		I know some wild animals, birds, lemurs, mammal bats…	0,96	I don't know anything about wild animals	0,04				
9	25	2	Wild animals are useful	0,68	Some wild animals are useful and other are harmful (neutral	0,32				

					perception)					
10	26	4	Wild animal are hunted for foods	0,54	Wild animals are mostly hunted for domestication	0,08	No hunt	0,31		
11	26	4	Hunted by outsiders	0,27	Hunted by young	0,31	All people hunt	0,08	No hunt	0,31
12	17	3	Animals are hunted using rifles	0,47	Animals are hunted using traps	0,18	Animals are not hunted	0,35		
13	22	4	Wild animals are decreasing	0,83	Wild animals are increasing	0,09	No change for wild animals	0,04	no idea	0,04
14	26	0	Yes I know fruit bats	1,00						
15	26	4	There are two types, the black one and the common one	0,58	there are three type	0,12	there is only one type	0,19	I do not know if there are different types	0,12
16	25	3	The fruit bats that I know niche in our villages	0,56	One type niches in forest and the other one in our villages	0,24	All fruit bats niche in forest	0,20		
17	25	4	These fruit bats feed in forest	0,32	One type feeds in forest and the other feeds in plantations	0,12	Feed in plantation	0,28	I do not know	0,28
18	26	2	Fruit bats are very useful	0,81	I don't know their advantage	0,19				
19	26	4	Agriculture	0,81	wood collection	0,08	Fishing	0,12	Tourism	0,04
20	26	7	Cassava	0,54	Banana	0,50	Tomatoes	0,38	Potato	0,35
21	23	3	We cultivate in forest	0,70	We cultivate at low elevation	0,43	We cultivate not far from the village	0,13		
22	17	3	Dry season	0,53	Wet season	0,18	No specific season	0,29		
23	23	3	There are changes with negative effect	0,57	Change with positive effect	0,35	No change	0,09		
24	19	6	Lack of technical and financial resources	0,63	No outlet to drain product	0,11	There are many thieves	0,21	Animal invasions	0,11
25	24		Never	0,92	some times	0,08				

26	24		Never	0,63	some times	0,38				
27	22	5	Material and technical assistance	0,36	Assistance of NGO and Government	0,41	High price for product	0,05	Something to eat before going to work	0,05
28	25	2	No I do not know	0,76	Yes I know	0,24				
29	24	3	I will agree	0,71	No I will not agree	0,08	I do not know its advantage	0,21		
30	21	3	I can propose a suitable area	0,71	I do not know	0,14	We must discuss with authority before	0,14		

4.1.2-Local perception of fruit bats

All interviewed people claimed to know bats, but the majority had difficulties to distinguish the three different species of fruit bats of Comoros. A high proportion (58%) reported that there are only two species of fruit bats in the Comoros Islands (the Livingstone's flying fox or *P. livingstonii* and the common Comorian flying fox or *P. s. comorensis*). 12% of interviewed people mentioned that there are three species of fruit bats (*P. livingstonii*, *P. s. comorensis* and *Roussettus obliviosus)* and 19% claimed to know only one type of fruit bats and did not know if there are other types of fruit bats.

Comorian people attitudes toward bats were mostly positive (81%) and only 19% reported not knowing the usefulness of fruit bats. Among interviewed people that have a positive attitude and perception toward fruit bats, most (58%) reported the importance of these bats (1) as seed dispersers for forest regeneration, (2) for dispersion of seeds of important cash crops such as cashews and mangos, (3) as pollinators or (4) as a source of income from tourism (the case of *P. livingstonii*). Some respondents (19%) mentioned that fruit bats, especially those living in village (*P. s. comorensis*) generate some damages in plantations.

4.1.3-Biodiversity and conservation

According to our analyses, all the interviewed people have some knowledge on forest and its usefulness for local population. When answering the question about perception of landscape changes within forests "Have you seen any current changes?", around 92% of the interviewed people reported that natural forest is over-harvested and is decreasing in surface. They highlighted that forest decline has an impact on their livelihood. Although only 12% of interviewed people reported that wood collection was their main activity (Table 3), the majority (92%) of interviewed people highlighted that wood collection is one of the main factors impacting forests. When asking "who is responsible for the wood collection and forest harvesting?", surprisingly, their responses were contrasted. Only 27% reported that villagers are responsible for forest loss because they practice intense wood collections, 19% proclaimed that their forests are harvested by foreigners from other cities of the island, 27% claimed that people who harvest forests come from the different regions at the three islands of Comoros, and 15% of respondents mentioned that forests of their region are not harvested at all (Table 3).

Despite these divergences, all respondents reported the negative impact of natural forest use on their livelihood and wellbeing, and proclaimed that if forests disappear completely, human life will not be possible in their regions.

Most of our respondents reported that rural populations are neglected and lack assistance from government and/or NGO and said that this is the main cause leading to forest over-harvesting. High proportions of respondents (92% and 63%) reported to never benefit from any assistance from government and NGO respectively (Table 3). Among interviewed people, 36% mentioned that the lack of agriculture material and technical assistance are the main factors inciting rural people to harvest the forest. 41% mentioned that the lack of assistance from government and NGO constraints rural population to be highly dependent to natural forests since they do not have any livelihood as alternative solution (Table 3). Therefore, local population agreed that natural forest must be protected or even regenerated. 71% of our respondents agreed for the development of protected area in their region and 21% agreed with protected area creation if some conditions are fulfilled, notably the development of governmental support to their activity and for agricultural equipment and techniques.

4.2- Q-sort results and Varimax

The two first selected factors of the varimax explained 50 % of the total variance and allow separating two groups among respondents. The first group was represented by employed people with high level of formal education (respondents having the diploma of baccalaureate and more) while the second group was represented by unemployed group (Table 5). The first factor explained 32% of the total variance. According to our results (Table 5), 20 respondents (60%) are grouped into the factor 1 of which 16 (80%) have a high level of formal education and a professional activity. Among the respondents grouped into factor 1, only 4 respondents were unemployed with low level of formal education. The second factor explained 18% of total variance. Among the respondents grouped into the factor 2, 62% are not employed with low level of formal education (Table 5).

Table 4: Distinguishing & consensus statements between the two factors; Asterisk (*) Indicates Significance at P < .01)

Distinguishing statement between the two factors				
No Statements	Q-SV	Z-SCR	Q-SV	Z-SCR
1*	0	0.10	-1	-0.54
2*	-3	-1.14	0	0.03
4	2	1.41	2	0.94
6*	-4	-1.85	-2	-0.88
7*	-1	-0.49	-3	-1.18
8*	0	0.14	3	1.63
9*	-2	-0.62	-3	-1.46
12*	0	-0.29	2	0.80
13*	-1	-0.53	2	0.56
16*	-2	-0.58	1	0.40
17	1	0.32	0	-0.13
19*	-1	-0.30	1	0.39
20*	1	0.42	-2	-1.04
22*	-2	-0.93	0	0.13
23*	1	0.18	-1	-0.59
25*	4	1.66	-1	-0.48
26*	1	0.38	-1	-0.48
27*	-1	-0.46	1	0.40
30*	3	1.49	1	0.39
32*	1	0.21	3	1.15
33*	2	1.34	1	0.28
Consensus Statements between the two of Factors				
3	3	1.55	4	1.89
5	3	1.47	3	1.61
10	-2	-0.66	-2	-0.88
11	-1	-0.52	-2	-0.67
14	2	0.72	2	0.63
15	-4	-1.74	-4	-1.57
18	-3	-1.48	-4	-1.78
21	0	-0.22	0	0.08
24	2	0.47	0	0.14
28	-3	-1.32	-3	-1.31
29	0	-0.28	-1	-0.37
31	4	1.55	4	1.92

Figure 5: Factor matrix from a Q methodology study (X indicates a defining sort), Edu= Formal education, Age, Sex, and location of respondents are presented in the table. Name correspond to the interviewed person

Name	Age	Sex	Localisation	Level of Edu	Factor 1	Factor 2
1	26	F	GrandeComore	Enployed_HLE	0.0520	**0.4278X**
4	45	M	Mohéli	Enployed_HLE	**0.5982X**	0.3414
6	65	M	Mohéli	Enployed_HLE	**0.7834X**	0.2936
7	26	M	Mohéli	Enployed_HLE	**0.4347X**	0.3469
9	41	M	Mohéli	Enployed_HLE	0.5263	**0.5771X**
10	56	F	Mohéli	Enployed_HLE	0.4456	**0.6739X**
11	33	M	Mohéli	Enployed_HLE	**0.7435X**	0.0200
13	37	M	Mohéli	Enployed_HLE	**0.5199X**	0.2500
14	29	M	Mohéli	Enployed_HLE	**0.6702X**	0.1290
15	46	M	Mohéli	Enployed_HLE	**0.6507X**	0.3339
16	58	M	GrandeComore	Enployed_HLE	**0.6930X**	0.2278
17	53	M	Anjouan	Enployed_HLE	**0.7806X**	0.3157
19	52	M	Anjouan	Enployed_HLE	**0.7110X**	0.2922
20	58	M	Anjouan	Enployed_HLE	**0.6435X**	0.5714
21	31	M	Anjouan	Enployed_HLE	**0.5272X**	0.5211
22	27	M	Anjouan	Enployed_HLE	**0.6539X**	0.5129
23	45	M	Anjouan	Enployed_HLE	**0.5055X**	0.3803
25	25	M	Anjouan	Enployed_HLE	**0.7572X**	0.3123
27	23	M	GrandeComore	Enployed_HLE	**0.7597X**	0.0000
2	19	M	Mohéli	**Unemployed**	**0.4250X**	0.1775
3	20	M	Mohéli	**Unemployed**	-0.0838	**0.8324X**
5	45	M	Mohéli	**Unemployed**	-0.0800	**0.5088X**
8	36	M	Mohéli	**Unemployed**	0.2717	0.1904
12	26	M	Mohéli	**Unemployed**	0.7634X	0.1500
18	42	M	Anjouan	**Unemployed**	0.4083	**0.6407X**
24	38	M	Anjouan	**Unemployed**	0.3869	**0.6439X**
26	47	M	GrandeComore	**Unemployed**	0.3959X	-0.0364
28	33	M	GrandeComore	**Unemployed**	0.4014	**0.5138X**
29	35	M	GrandeComore	**Unemployed**	0.2104	**0.4062X**
30	36	M	GrandeComore	**Unemployed**	0.6964X	0.4867

Globally, according to our Q-methodology analysis (table 4), Comorian people we interviewed have consensual opinions regarding natural resource use. Among the 33 statements proposed during our Q-methodology approach, 12 (36%) were consensual for all respondents (with positive or negative agreements, Table 5) among which the importance of biodiversity and natural resources, the high and alarming level of forest loss, the usefulness of flying foxes, the need of assistance from government and NGO for durable economic projects and the need of forest reestablishment. These statements do not contribute to discriminate the two groups. Moreover, among the remaining statements, two of them do not present significant differences between the two groups (Table 4). Five statements mostly distinguish the two groups (see table 2):

"People from this village do not cut trees, wood cutting is prohibited" (2: -3, 0); "It is to villagers to manage their forest" (8: 0, 3); "Comorians do not eat fruit bats" (13: -1, 2); "We need to cultivate more lands because land produces less than before" (25: -2, 0); "There are many problems with robbery in plantations" (25: 4, -1). Respondents with high formal education disagreed with these statements while unemployed respondents agreed with them.

4.3- Inter-class principal Component Analysis

Considering the first two principal components, we find a high level of inter-group variation (42.42% of the total variation) between the two predefined groups of Employed_HLE and unemployed. PC2 clearly discriminate the two groups and this discrimination was significant according to the permutation test (p-value=0.02). Employed_HLE group was negatively correlated to the statements: "Project / NGO money never reaches farmers", "It is prohibited to kill bats, "It is to villagers to manage their forest", "Agriculture and farming are the only possible living activities here", and "People from this village do not cut trees, wood cutting is prohibited" and positively correlated to the statement: "It is mainly villagers who cut trees" (Figure 2).

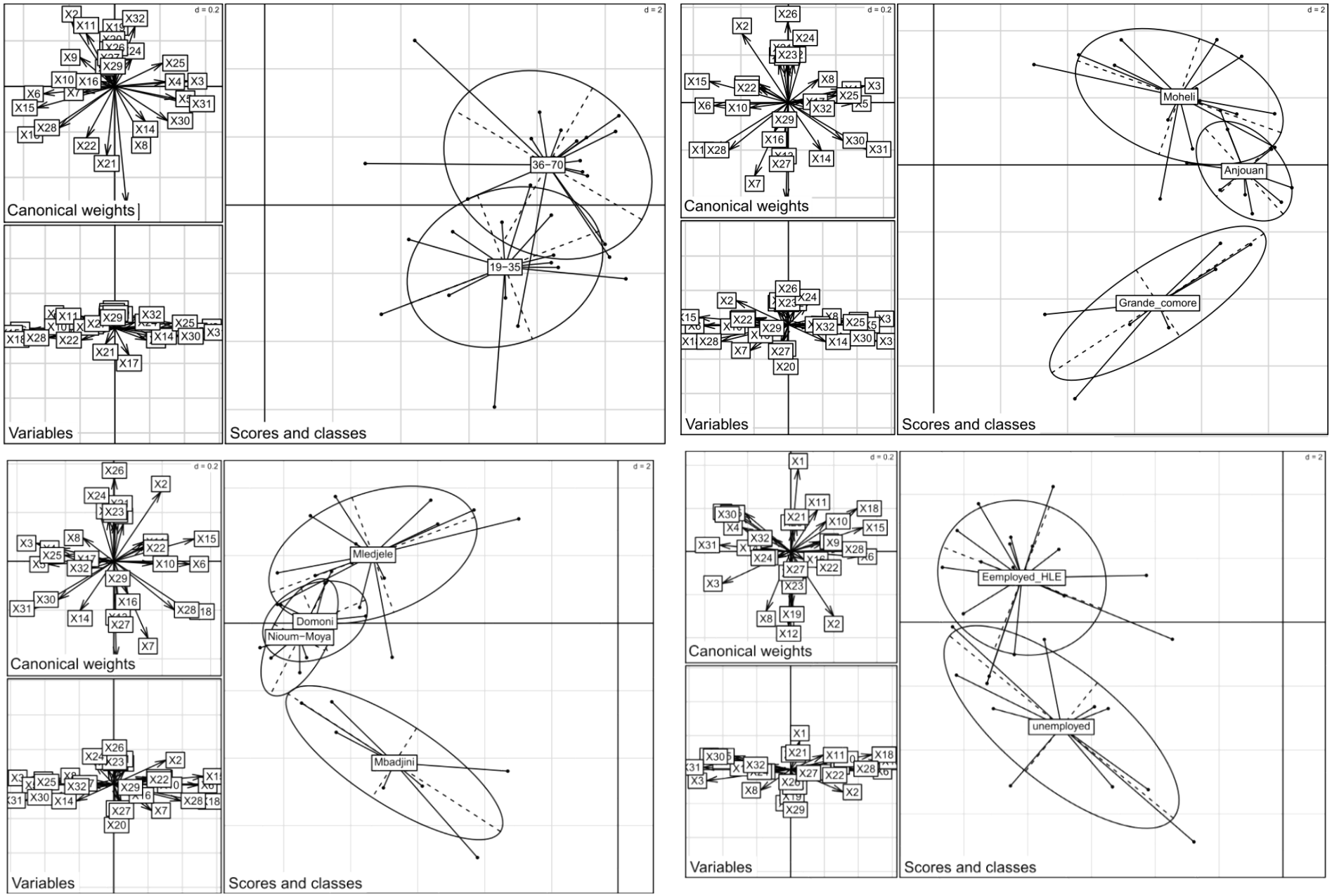


Figure 1: Principal component analysis showing different groups among local people in the Comoros Islands

Considering the predefined groups based on the three islands and the first two principal components, we also find a high level of inter-islands variation (45.37%). PC1 discriminated the group of people from the island of Anjouan whereas PC2 discriminated the group of people from Grande Comore and Mohéli. This discrimination was significant according to the permutation test (p-value =0.02). The people from Grande Comore were positively correlated to the statements: “There are not enough people who cultivate”, “If people collect wood, it is mainly to sell it”, “It is important to preserve traditional agriculture” and “Wild animals are decreasing in our regions”. People from the island of Mohéli were positively related to the statements: “Rice growing should be further developed”, “Cultures do not produce enough because there are many diseases” and “People from this village do not cut trees, wood cutting is prohibited” (Fig. 2, Table 2).

When considering the predefined groups of ages, the intergroup variation was 40.74%. According to this analysis, these two groups of ages are not well discriminated and the permutation test was not significant (p-value = 0.71, Fig. 2).

5-DISCUSSION

5.1- Natural resource use by local people and its relatedness to forest loss

According to our analyses, Comorian people heavily rely on natural resource sustenance. Indeed, 100% of our respondents confirm to work in forest especially for cultivation or wood collection even those considered to have a fairly high socio-economic level such as administrative and financial directors or responsible of human resources of National Park etc. Our results highlight the complex linkages between biodiversity, natural habitat and human needs including economic benefits from agroforestry systems. Despite their understanding of the negative impacts of forest degradations on their well-being, rural populations do not have any other solution for subsistence abroad forests and natural areas. Comorian people are aware that natural habitat surfaces are decreasing in the Comoros archipelago and are aware that if forest disappears, no human life will be possible in the islands. Most people have precise ideas of the mechanisms involved, for instance they have detailed that complete forest loss would generate a decrease of water resource, low yield of their own agriculture, the lack of charcoal and building woods, and other products such as food, medicinal products etc. This highlight that Comorian people do not have other alternative livelihood than forests harvesting leading them to be highly dependent on natural resources.

Local perception toward biodiversity and natural resource

According to our interviews, most of our respondents have a minimum of knowledge in term of biodiversity and forests. They confirmed to know most of the components of biodiversity and they generally have positive attitude towards wild animals. Negative perceptions of some respondents toward fruit bats are probably due to the fact that P. s. comorensis feeds on plantations and on fruit crops and yields some damages to human plantations. But according to some informants, benefits from fruit bats on their plantation through pollination and seed dispersal clearly exceed damages. Different studies examining the human attitude towards biodiversity and habitats conservation in many developing countries have shown similar results of positive perceptions towards biodiversity for instance in Madagascar (Ratsimbazafy et al., 2012), in India (Badola et al., 2012; Silori, 2007) or Uganda, (Infield and Namara, 2001).

In our study, positive perceptions toward biodiversity were largely oriented according to the benefits perceived by respondents. For example, most of positive attitudes towards *P. livingstonii* are due to the fact that (1) the species attracts many tourists as it is one of the largest bats and one of mostly threatened animals in the world but also (2) the species plays a crucial role for forest regeneration and in plantation. For *P. s. comorensis*, positives attitudes are related to its role as seed disperser but also to the fact that the species represents important source of food for many rural populations.

Local opinions toward natural resource management and biodiversity conservation

Among our 33 statements (Q-sort), 19 diverged among the interviewed people. Formal education and employment but also the geographic location appeared to shape the ranking of statements. Respondents with a higher formal education level and employment were more in favor to long-term forest and biodiversity conservation. These positive attitudes toward the long-term habitat management could be linked with different knowledge regarding the importance of biodiversity conservation but also with the fact that they have an employment leading them to be less dependent on forest and natural resources. For example, all respondents with formal education and employment highlighted to not eat the meat of fruit bats.

In contrast, respondents with low level of formal education that are also often unemployed people were in favor of more immediate benefits and protection of their own activities and revenues despite their awareness of the importance of natural forest and the effect of natural habitat loss on their livelihood. This highlight that the lack of livelihood is the main factor conducting rural people to depend on natural resources as highlighted above. Less educated people in the Comoros Islands are mostly the unemployed people. Their well-being largely, if not only, depends on natural resources. For this people, protecting forest is essential for their subsistence and their health rather than for ecological reason. This poor people are struggling to support their everyday life and are in favor of all actions that may generate immediate benefits necessary for their survival including the cultivation in forest, wood collection for selling, and hunt of wild animal including fruit bats. This rural people claimed that money from Project / NGO never reaches farmers because financials of development projects are often managed by people with high level of education but also because the financials of such projects are often insufficient to reach all rural people.

5.2- Conservation and recommendations

This study explores the relationship between natural resource use by Comorian people and habitat loss. Our results highlighted that Comorian people strongly depend on natural resources in various forms (wood collection, cultivation, foods collection etc.) conducting to a high rate of forest loss in these islands. This intensive forest exploitation is a clear consequence of poverty. Comorian people rely on the exploitation of natural resources, among which the forest is the most exploited and the most impacted.

The most relevant conservation management to adopt in these islands is to develop programs allowing to tackle the poverty of people living around natural forests. This strategy could firstly build on the needs of local communities which can allow them to be less dependent to natural forests. Trewhella et al. (2005) carried out a study of environmental formal education in Comorian rural people and highlighted that formal education outcome such as an increase of awareness and understanding of conservation issues are for prime importance for the conservation of the *P. livingstonii*. However, according to our results, Comorian people don't lack awareness concerning the importance of natural habitat and the impact of the habitat disturbance and loss on their livelihood (anymore). It rather appears that they are constrained by poverty to heavily exploit forests. Reducing poverty and increasing the subsistence conditions in Comorian rural people is thus of prime importance in order to implement long-term conservation strategy of biodiversity and natural habitats. To this end, some living activities such as poly-markets and agricultural projects should be developed which should favor the creation of new jobs. New methods and techniques as well as various materials needed for ecological agriculture should be made available to local communities. Such projects could allow local populations to improve their production with the same farmland surface thus reducing the conversion of forest into farmlands. These living condition improvements could be supported by government, NGO and international financials.

Rural people from the Grande Comore and Anjouan intensively collect wood for commercialization that make the forest of these islands highly harvested in comparison to Mohéli forests. In contrast, respondents from Mohéli are in favor of natural forest and biodiversity conservation, and think that wood collection should be prohibited in their region. In the Mohéli Island, because of the presence of the National Park of Mohéli, different projects of nature conservation but also the high level of tourism activities linked

with the observation of local biodiversity (whales, dolphins and Livingstone's flying fox), biodiversity represents the main source of income for the population (Granek and Brown 2005). These different activities representing sources of incomes incite residents of this island to be in favor of conservation actions. Similar projects could be explored in the two other islands of Comoros in order to ensure the creation of new jobs and to limit the dependency of local people to natural resource. It is necessary to highlight that in the three islands of Comoros, a project of creation of national marine and terrestrial protected areas including national parks was signed in 2016 by the Comorian government and some international institutions such as the PNUD. According to our interviews with local people, most rural population agreed with the creation of protected area if they can gain direct benefits from the project and if they are involved in the conservation actions. Constructive engagement with local residents (such as providing employment for instance local guides or park agents) would support long-term success in conservation.

Acknowledgments

We would like to thank the Comoros National Direction of Environment and Forests for the permission to conduct our fieldwork.

LITERATURE CITED

Badola, R., Barthwal, S., Hussain, S.A., 2012. Attitudes of local communities towards conservation of mangrove forests: A case study from the east coast of India. Estuar. Coast. Shelf Sci. 96, 188–196. doi:10.1016/j.ecss.2011.11.016

Boron, V.., Payán, E.., MacMillan, D.., Tzanopoulos, J.. c, 2016. Achieving sustainable development in rural areas in Colombia: Future scenarios for biodiversity conservation under land use change. Land use policy 59, 27–37. doi:10.1016/j.landusepol.2016.08.017

Bourgoin, C., Parker, L., Martínez-Valle, A., Mwongera, C., Läderach, P., 2017. Une évaluation spatialement explicite de la vulnérabilité du secteur agricole au changement climatique dans l'Union des Comores, Les Pays-B. ed, CGIAR Research Program on Climate Change, Agriculture and Food Security (CCAFS). Wageningen. doi:10.1016/S1574

Daniel, B.M., Green, K.E., Doulton, H., Mohamed Salim, D., Said, I., Hudson, M., Dawson, J.S., Young, R.P., 2016. A bat on the brink? A range-wide survey of the Critically Endangered Livingstone's fruit bat Pteropus livingstonii. Oryx 1–10. doi:10.1017/S0030605316000521

Debata, S., Swain, K.K., Sahu, H.K., Palei, H.S., 2017. Human–sloth bear conflict in a human-dominated landscape of northern Odisha, India. Ursus 27, 90–98. doi:10.2192/URSUS-D-16-00007.1

Drescher, J., Rembold, K., Allen, K., Beckschäfer, P., Buchori, D., Clough, Y., Faust, H., Fauzi, A.M., Gunawan, D., Hertel, D., Irawan, B., Jaya, I.N.S., Klarner, B., Kleinn, C., Knohl, A., Kotowska, M.M., Krashevska, V., Krishna, V., Leuschner, C., Lorenz, W., Meijide, A., Melati, D., Nomura, M., Pérez-Cruzado, C., Qaim, M., Siregar, I.Z., Steinebach, S., Tjoa, A., Tscharntke, T., Wick, B., Wiegand, K., Kreft, H., Scheu, S., 2016. Ecological and socio-economic functions across tropical land use systems after rainforest conversion. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 371, 20150275. doi:10.1098/rstb.2015.0275

Eden, S., Donaldson, A., Walker, G., 2005. Structuring Subjectives? Using Q Methodology in Human Geography. Area 37, 413–422.

Elvidge, C.D., Sutton, P.C., Ghosh, T., Tuttle, B.T., Baugh, K.E., Bhaduri, B., Bright, E., 2009. A global poverty map derived from satellite data. Comput. Geosci. 8, 1652–1660. doi:10.1016/j.cageo.2009.01.009

Fisher, B., Christopher, T., 2007. Poverty and biodiversity: Measuring the overlap of human poverty and the biodiversity hotspots. Ecol. Econ. 62, 93–101. doi:10.1016/j.ecolecon.2006.05.020

Fritz-Vietta, N.V.M., 2016. What can forest values tell us about human well-being? Insights from two biosphere reserves in Madagascar. Landsc. Urban Plan. 147, 28–37. doi:10.1016/j.landurbplan.2015.11.006

Giannini, T.C., Acosta, A.L., Garófalo, C.A., Saraiva, A.M., Alves-dos-santos, I., Imperatriz-fonseca, V.L., 2012. Pollination services at risk : Bee habitats will decrease owing to

climate change in Brazil. Ecol. Modell. 244, 127–131. doi:10.1016/j.ecolmodel.2012.06.035

Goodman, S.M., Weyeneth, N., Ibrahim, Y., Saïd, I., Ruedi, M., 2010. A Review of the Bat Fauna of the Comoro Archipelago. Acta Chiropterologica 12, 117–141. doi:10.3161/150811010X504635

Granek, E.F., Brown, M.A., 2005. Co-Management Approach to Marine Conservation in Moh ´ eli , Comoros Islands 1724–1732. doi:10.1111/j.1523-1739.2005.00301.x

Helm Aveliina, I.H., 2006. Slow response of plant species richness to habitat loss and fragmentation. Ecol. Lett. 9, 72–77. doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00841.x

Herbert, R.J.H., Humphreys, J., Davies, C.J., Roberts, C., Fletcher, S., Crowe, T.P., 2016. Ecological impacts of non-native Pacific oysters (Crassostrea gigas) and management measures for protected areas in Europe. Biodivers. Conserv. 25, 2835–2865. doi:10.1007/s10531-016-1209-4

Hernández-Montero, J.R., Saldaña-Vázquez, R.A., Galindo-González, J., Sosa, V.J., 2015. Bat-fruit interactions are more specialized in shaded-coffee plantations than in tropical mountain cloud forest fragments. PLoS One 10, 1–37. doi:10.1371/journal.pone.0126084

Infield, M., Namara, A., 2001. Community attitudes and behaviour towards conservation: an assessment of a community conservation programme around Lake Mburo National Park, Uganda. Oryx 35, 48. doi:10.1017/S0030605300031537

Jantz, S.M., Barker, B., Brooks, T.M., Chini, L.P., Huang, Q., Moore, R.M., Noel, J., Hurtt, G.C., 2015. Future habitat loss and extinctions driven by land-use change in biodiversity hotspots under four scenarios of climate-change mitigation. Conserv. Biol. 29, 1122–1131. doi:10.1111/cobi.12549

Jolly, R., Fukuda-Parr, S., 2000. Human development report 2000. United Nations Development Programme. Oxford United, New York.

Kamal, S., Grodzinska-Jurczak, M., 2014. Should conservation of biodiversity involve private land? A Q methodological study in Poland to assess stakeholders' attitude. Biodivers. Conserv. 23, 2689–2704. doi:10.1007/s10531-014-0744-0

Liu, A., Li, D., Wang, H., Kress, J., Kress, J.W., 2002. Ornithophilous and Chiropterophilous Pollination in Musa itinerans (Musaceae), a Pioneer Species in Tropical Rain Forests of Yunnan , Southwestern China '. Biotropica 34, 254–260.

Martin, J.-L., Maris, V., Simberloff, D.S., 2016. The need to respect nature and its limits challenges society and conservation science. Proc. Natl. Acad. Sci. 113, 6105–6112. doi:10.1073/pnas.1525003113

Maugé, L.A., Ségoufin, J., Vernier, E., Froget, C., 1982. Geomorphologie et origine des bancs du nord-est du canal de Mozambique — Ocean Indien occidental (geomorphology and origin of the reef-banks of the north-eastern Mozambique Channel — Western Indian Ocean). Mar. Geol. 47, 37–55.

Michon, L., 2016. The Volcanism of the Comoros Archipelago Integrated at a Regional Scale, in: P. Bachèlery et al. (Ed.), Active Volcanoes of the Southwest Indian Ocean. pp. 333–343. doi:10.1007/978-3-642-31395-0

Msaidie, S., Ducourneau, A., Boetsch, G., Longepied, G., Papa, K., Allibert, C., Yahaya, A.A., Chiaroni, J., Mitchell, M.J., 2011. Genetic diversity on the Comoros Islands shows early seafaring as major determinant of human biocultural evolution in the Western Indian Ocean. Eur. J. Hum. Genet. 19, 89–94. doi:10.1038/ejhg.2010.128

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403, 853–858. doi:10.1038/35002501

Norberg, L.-U.M., Brooke, A.P., Trewhella, W.J., 2000. Soaring and non-soaring bats of the family pteropodidae (flying foxes, Pteropus spp.): wing morphology and flight performance. J. Exp. Biol. 203, 651–664.

Oleksy, R., Racey, P.A., Jones, G., 2015. High-resolution GPS tracking reveals habitat selection and the potential for long-distance seed dispersal by Madagascan flying foxes Pteropus rufus. Glob. Ecol. Conserv. 3, 678–692. doi:10.1016/j.gecco.2015.02.012

R Development Core Team, 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Found. Stat. Comput. Vienna Austria 0, {ISBN} 3-900051-07-0. doi:10.1038/sj.hdy.6800737

Ratsimbazafy, C.L., Harada, K., Yamamura, M., 2012. Forest resources use, attitude, and perception of local residents towards community based forest management: Case of the Makira Reducing Emissions from Deforestation and Forest Degradation (REDD) Project, Madagascar. J. Ecol. Nat. Environ. 4, 321–332. doi:10.5897/JENE11.123

Razafindratsima, O.H., 2014. Seed dispersal by vertebrates in Madagascar ' s forests : review and future directions. Madag. Conserv. Dev. 9, 90–97. doi:http://dx.doi.org/10.4314/mcd.v9i2.5

Ripple, W.J., Abernethy, K., Betts, M.G., Chapron, G., Dirzo, R., Galetti, M., Levi, T., Lindsey, P.A., Macdonald, D.W., Machovina, B., Newsome, T.M., Peres, C.A., Wallach, A.D., Wolf, C., Young, H., 2016. Bushmeat hunting and extinction risk to the world ' s mammals Subject Category : Subject Areas : Open Sci. 3, 160498. doi:10.1098/rsos.160498

Ryan, C.M., Pritchard, R., McNicol, I., Owen, M., Fisher, J.A., Lehmann, C., 2016. Ecosystem services from southern African woodlands and their future under global change. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 371, 20150312. doi:10.1098/rstb.2015.0312

Sewall, B., Freestone, A.L., Moutui, M.F., Toilibou, N., Said, I., Attoumane, D., Toumani, S.M., Iboura, C.M., 2011. Rainforest Reserves for Critically Endangered Comorian Fruit Bats Rainforest Reserves for Critically Endangered Comorian Fruit Bats 1–21.

Sewall, B.J., Granek, E.F., Moutui, M.F.E., Trewhella, W.J., Reason, P.F., Rodríguez-clark, K.M., Saïd, I., Carroll, J.B., Masefield, W., Vély, M., Mohadji, F., Feistner, A.T.C., Wells, S., 2007. Conservation Action Plan for Livingstone's Flying Fox, A Strategy for an Endangered Species, a Diverse Forest, and the Comorian People. Conserv. Action Plan

Livingstone's Fly. Fox 1–52.

Silori, C.S., 2007. Perception of local people towards conservation of forest resources in Nanda Devi Biosphere Reserve, north-western Himalaya, India. Biodivers. Conserv. 16, 211–222. doi:10.1007/s10531-006-9116-8

Sodhi, N.S., Lee, T.M., Sekercioglu, C.H., Webb, E.L., Prawiradilaga, D.M., Lohman, D.J., Pierce, N.E., Diesmos, A.C., Rao, M., Ehrlich, P.R., 2010. Local people value environmental services provided by forested parks. Biodivers. Conserv. 19, 1175–1188. doi:10.1007/s10531-009-9745-9

Sournia, G., 1990. Les aires de conservation en Afrique francophone : aujourd â€™ hui et demain espaces à protéger ou espaces à partager ? Cah. d'Outre-Mer, 42, 451–463.

Thioulouse, J., Dray, S., 2007. Interactive Multivariate Data Analysis in R with the ade4 and ade4TkGUI Packages. J. Stat. Softw. 22, 1–14.

Trewhella, W.J., Rodriguez-Clark, K.M., Corp, N., Entwistle, A., Garrett, S.R.T., Granek, E., Lengel, K.L., Raboude, M.J., Reason, P.F., Sewall, B.J., 2005. Environmental education as a component of multidisciplinary conservation programs: Lessons from conservation initiatives for critically endangered fruit bats in the western Indian Ocean. Conserv. Biol. 19, 75–85. doi:10.1111/j.1523-1739.2005.00548.x

Trewhella, W.J., Rodriguez-Clark, K.M., Davies, J.G., Reason, P.F., Wray, S., 2001. Sypatric fruit bat species(Chiroptera: Pteropodidae) in the Comoro Islands (Western Indian Ocean): Diurnality, feeding interactions and their conservation implications. Acta Chiropterologica 3, 135–147.

Watts, S., Stenner, P., 2012. Doing Q Methodological Research: Theory, Method & Interpretation, Sage Publi. ed. London.

Watts, S., Stenner, P., 2005. Doing Q ethodology: theory, method and interpretation. Qual. Res. Psychol. 2, 67–91. doi:10.1191/1478088705qp022oa

Zabala, A., 2014. qmethod: A Package to Explore Human Perspectives Using Q Methodology. R J. 6, 163–173.

Zhao, J., He, K., Peng, Y., Wu, X., Sun, S., 2016. Net neutral effects of a generalist vertebrate predator on seed production result from simultaneous suppression of plant antagonists and mutualists. Basic Appl. Ecol. 17, 344–351. doi:10.1016/j.baae.2015.11.003

Zhu, G., Li, H., Zhao, L., Man, L., Liu, Q., Aguirre-Gutiérrez, J., Grinnell, J., Thomas, C.D., Araújo, M.B., Warren, D.L., Glor, R.E., Turelli, M., Broennimann, O., Graham, C.H., Raxworthy, C.J., Guisan, A., Soberón, J.G., Hof, C., Rahbek, C., Araújo, M.B., Guisan, A., Thuiller, W., Blair, M.E., Zhang, X., Li, X.R., Wang, G.H., Wang, H.S., Zhang, Y.L., Jiang, Z.R., Turesson, G., Su, Z.H., Zhang, M.L., Sanderson, S.C., Zhao, Y.Z., Wei, L., Veloz, S.D., Brown, J.L., Zhu, Z.Y., Hijmans, R.J., Synes, N.W., Osborne, P.E., Papeş, M., Peterson, A.T., Powell, G. V., Rocchini, D., Dormann, C.F., Phillips, S.J., Anderson, R.P., Schapire, R.E., Anderson, R.P., Raza, A., Radosavljevic, A., Anderson, R.P., Warren, D.L., Raes, N., Steege, H. ter, Peterson, A.T., Papes, M., Soberón, J., Phillips, S.J., Dudik, M., Mandle, L., Schoener, T.W., Warren, D.L., Glor, R.E., Turelli, M., Sanderson, E.W., 2016. Mapping

the ecological dimensions and potential distributions of endangered relic shrubs in western Ordos biodiversity center. Sci. Rep. 6, 26268. doi:10.1038/srep26268

Chapitre 6

6- DISCUSSION GENERALE

6.1- Distribution spatiale, diversité génétique et étude socio-économique

Au cours de cette thèse, j'ai combiné plusieurs approches différentes, complémentaires, dans le but de renforcer les connaissances sur la biodiversité aux Comores et de favoriser l'émergence de politiques publiques de conservation de cette biodiversité ainsi que des habitats naturels de l'archipel. Plus spécifiquement mon objectif était de caractériser l'influence des variables écologiques et environnementales ainsi que l'effet des actions anthropiques sur les espèces naturelles localisées dans des îles océaniques isolées les unes des autres.

D'une manière générale, les actions de conservation ciblent principalement les espèces rares (Chades et al., 2008; Joseph et al., 2008). Les espèces communes (parfois nommées aussi « ordinaires », (Jiguet et al., 2012; Soliveres et al., 2016), malgré leur importance dans la dynamique des écosystèmes mais aussi pour les agrosystèmes (du fait de leur grand nombre et du fait qu'elles occupent souvent les milieux agricoles) sont de fait beaucoup moins ciblées par ces actions (Soliveres et al., 2016). Pourtant, les menaces et les pressions pesant sur ces deux types d'espèces peuvent fortement différer. Etudier et comparer deux espèces ayant des abondances ou des répartitions différentes est donc potentiellement riche d'information pour guider le développement de politiques publiques de conservation nationales ne focalisant pas uniquement sur des espèces patrimoniales mais ayant vocation à protéger plus largement les écosystèmes mais aussi les services qu'ils rendent à l'Homme.

C'est pour cette raison que dans cette thèse, je me suis intéressé à deux espèces de mégachiroptères des Comores, *Pteropus livingstonii* et *P. seychellensis comorensis*. En effet, quoique phylogénétiquement et morphologiquement proches, ces espèces sont fortement contrastées en termes de distribution géographique, d'écologie alimentaire et d'abondance mais aussi en termes de sélection d'habitat notamment vis-à-vis de l'anthropisation. Ces deux espèces jouent un rôle fondamental dans les écosystèmes en contribuant à la régénération des forêts mais aussi des milieux agricoles à travers leur action de pollinisation et de dispersion des graines et fournissent de ce fait un service important pour les humains (Aziz et al., 2017; McConkey et al., 2012). De plus, ces deux espèces constituent des « espèces parapluies » pour la biodiversité des Comores du fait que leur conservation, et donc la protection des habitats qu'elles occupent, implique la conservation de toute la biodiversité associée. Etant des espèces longevives, ces deux espèces sont très sensibles aux

perturbations de leurs habitats. Comme je le détaille par la suite, elles subissent aussi de fortes pressions, des stratégies de conservation efficaces sont de ce fait nécessaires pour assurer la viabilité de leurs populations à long-termes.

La mise en place des stratégies de conservation nécessite l'examen des statuts des populations comme cela peut être fait à travers différents critères qui sont bien établis par l'Union International pour la Conservation de la Nature (UICN, Mace et al., 2008; Mace and Lande, 1991). Ces critères permettent d'évaluer le risque d'extinctions des espèces étudiées et ainsi d'établir des priorités en matière de conservation pouvant conduire à la mise en place de politiques publiques de conservation (Mace et al., 2008).

Parmi les informations prises en compte pour déterminer le statut de différents taxons suivant les critères de l'UICN, les tailles des populations, la surface de l'aire de répartition des espèces, la diversité génétique mais aussi la dynamique des populations (effectifs en augmentation, stables ou en déclin) sont les plus souvent considérées. Ces différentes informations sont souvent traitées de manières séparées, souvent du fait qu'elles ne sont pas toutes disponibles pour une espèce donnée, alors même qu'elles sont fortement liées les unes des autres. Par exemple, dans la théorie, les espèces largement répandues géographiquement présentent des effectifs importants tandis que les espèces aux aires de distribution restreintes ont aussi tendance à être peu abondantes. Une faible abondance pour une espèce va en général impacter sa diversité génétique, sa capacité de reproduction, sa survie et son potentiel évolutif et donc avoir des conséquences sur la dynamique de ses populations et la tendance de ces effectifs (Bender et al., 1998; Connor et al., 2000; Frankham, 1996).

En plus de qualifier le statut de conservation d'une espèce, la mise en place des stratégies de conservation nécessite de comprendre les déterminants écologiques et évolutifs des patrons de répartition des populations de l'espèce en question ainsi que le lien qui existe entre ces populations naturelles et leurs habitats. Chaque espèce a ses propres exigences en termes d'utilisation de l'espace et de sélection d'habitat. Ces exigences sont liées à l'existence de gradients environnementaux, à l'hétérogénéité des écosystèmes et à la distribution des ressources dans l'espace et le temps auxquels les espèces sont adaptées différemment. Mais la distribution des espèces est aussi impactée par les actions anthropiques telles que les perturbations au niveau des dortoirs qui peuvent conduire à l'abandon des gites et à la dispersion des individus chez les chauves-souris que j'ai étudiées

dans cette thèse. Connaître les exigences en termes habitat ainsi que les différents facteurs écologiques, topographiques ou anthropiques impactant la distribution d'une espèce sont de ce fait indispensables pour assurer sa conservation sur le long terme en mettant en place une gestion durable des habitats sélectionnés.

Dans cette thèse, j'ai choisi de développer une approche intégrée de la biologie de conservation afin de tenir en compte ces différentes informations (sélection d'habitat et aires de distribution, structuration génétique des populations, dynamique des populations et caractérisation des pressions sur leurs habitats par une approche socio-économique) pour proposer des stratégies de gestion conservatoire efficaces de ces populations de chauves-souris en danger imminent d'extinction.

Les résultats obtenus dans cette étude (**manuscrit 1**) montrent une différence des surfaces occupées par les deux taxons étudiés ainsi que leurs effectifs. L'aire de distribution est estimée à 150 km² (soit 8% du territoire national de l'Union des Comores) et l'effectif de sa population estimé à environ 1.300 individus pour *P. livingstonii* contre une aire de distribution de 620 km² (34% du territoire national) et probablement plusieurs dizaines de milliers d'individus pour *P. s. comorensis*. Pour *P. livingstonii*, ces résultats corroborent ceux obtenus dans différentes études précédentes notamment celles de Granek (2002), Sewall et al. (2007) mais aussi très récemment celles de Daniel et al. (2016) (Daniel et al., 2016; Granek, 2002; Sewall et al., 2007). En ce qui concerne à *P. s. comorensis*, ces estimations représentent les premières évaluations de l'aire de distribution et des effectifs pour cette espèce.

L'utilisation des différents types de marqueurs moléculaires m'a permis de démontrer que les populations de ces deux espèces de chauves-souris sont caractérisées par une diversité génétique relativement faible en comparaison avec les espèces du même genre dans la région de l'océan indien (**manuscrit 3**). Cette faible diversité génétique représente un risque pour les espèces car elle peut impacter leur capacité à s'adapter à des changements sur le long terme de leur environnement. Cette faible diversité combinée à la perte d'habitats conduisent à la baisse des effectifs des populations qui amplifie alors la baisse de cette diversité créant un cercle vicieux pouvant conduire à l'extinction (Brown and Kodric-brown, 2016; Jackson and Fahrig, 2016).

L'étude sur la structure génétique entre les îles Comores montre aussi une nette différence au niveau du patron de structuration chez les deux espèces. Chez *P. livingstonii*,

j'ai pu mettre en évidence une forte structuration entre les populations des deux îles qui ne semble pas être le fait d'une simple philopatrie des femelles du fait que les deux types de marqueurs présentent les mêmes patrons. Cette différentiation génétique entre la population de l'île d'Anjouan et celle de Mohéli pour *P. livingstonii* est probablement liée (1) aux ressources alimentaires qui paraissent très localisées dans les forêts de hautes altitudes mais aussi (2) à sa faible taille de population qui pourrait limiter la compétition pour les ressources et donc favoriser la philopatrie des individus ; mais aussi probablement (3) à une colonisation ancienne qui a permis aux populations de se différentier localement.

En ce qui concerne *P. s. comorensis,* les populations semblent être caractérisées par une faible structuration génétique inter-île qui semble d'ailleurs être fonction de la distance séparant les îles. Cette faible structuration est probablement liée (1) à la capacité de cette espèce à disperser dans des zones éloignées géographiquement, à l'utilisation de ressources alimentaires diversifiées et bien dispersées dans l'espace mais aussi (2) aux tailles de ses populations relativement élevées pouvant conduire certains individus à disperser sur de longues distances pour réduire la compétition ; la dispersion des individus pourrait aussi être induite par la fréquente destruction de leurs dortoirs (exploitation par l'homme, feux, cyclones). De telles faibles différentiations génétiques ont déjà été observés dans des études précédentes sur cette même espèce (Chan et al., 2011) ou sur d'autres espèces de la même famille dans ces îles (Goodman et al., 2010) mais aussi dans d'autres îles du pacifique sur des espèces du même genre (Russell et al., 2016). Ces différents auteurs suggèrent d'ailleurs que de fortes capacités de dispersions combinées à la destruction des dortoirs réduisent l'accumulation de divergences génétiques entre populations par les flux d'individus qu'ils permettent entre (sous)populations.

En plus de ces différences en termes d'abondances, d'aires de distribution et de patrons de structuration génétique, les deux espèces n'ont pas les mêmes exigences en termes de sélection d'habitat. *P. livingstonii* est fortement lié à la forêt naturelle de haute altitude et aux zones avec de pentes fortes et à la présence des rivières. Quant à *P. s. comorensis*, sa distribution est localisée dans les zones à basses altitudes, avec plantations et dans les zones habitées. Ces différents patrons de sélection d'habitat s'expliquent probablement par leur différence en termes de sélection des ressources alimentaires. En effet ces ressources sont localisées en milieux forestiers et sont composées de plantes endémiques pour *P. livingstonii*, alors qu'elles sont distribuées dans les zones de plantations

et dans les zones habitées et sont composées de plantes fruitières cultivées par les humains pour *P. s. comorensis*.

L'ensemble de ces résultats tendent à suggérer que *P. livingstonii* serait l'espèce la plus menacée à relativement court terme du fait (1) de cette distribution restreinte (1) de sa très petite taille de population mais aussi (3) de cette forte structuration entre les îles. Cependant, mes résultats suggèrent aussi que sa distribution actuelle (surement largement relictuelle) dans des forêts naturelles de hautes altitudes et en particulier, dans des zones présentant des pentes raides, souvent inaccessibles ou très difficilement accessibles par l'homme, pourrait limiter les pressions liées à la destruction directe des dortoirs pour l'exploitation du bois mais aussi par la conversion en zone agricole mais aussi pourrait limiter celles liées à la chasse.

Contrairement à *P. livingstonii*, *P. s. comorensis* apparait de premier abord moins menacé à court terme du fait (1) de sa large distribution, (2) de sa taille de population élevée dans les trois îles de l'Union des Comores (Anjouan, Mohéli et Grande Comore) mais aussi probablement à Mayotte (nous ne disposons pas de chiffre sur cette île). Cependant, sa distribution dans des zones hautement anthropisées apparaît comme un facteur de risque majeur pour l'espèce. En effet, dans les trois îles de l'Union des Comores, les menaces liées aux coupes d'arbres abritant ses dortoirs s'ajoutent à une pression de chasse sur l'espèce probablement non-négligeable même si nous ne l'avons pas quantifiée (**manuscrit 5**). La bonne adaptation de cette espèce aux habitats anthropisés qui apparaît initialement comme un atout pour cette espèce, la rend de ce fait très dépendante des évolutions des activités humaines. En effet, les habitats que cette espèce occupe, peuvent changer très rapidement en fonction des contraintes socio-économiques subies par la population humaine rurale (changement de pratiques agricoles, besoin en bois…) et avoir des conséquences rapidement dramatiques pour cette espèce. Dans l'archipel des Comores, ces deux espèces, bien que présentant des statuts de conservation actuellement très différents, semblent de fait toutes les deux fortement menacées à relativement court terme pour des raisons sensiblement différentes. Par ailleurs, les faibles effectifs pour *P. livingstonii* et le risque de baisse des effectifs chez *P. s. comorensis* ; peuvent avoir rapidement des conséquences sur la diversité génétique due aux phénomènes de de dérives génétiques comme cela a été démontré dans différentes études sur les chauves-souris frugivores (Pierson et al., 1996; Russell et al., 2016),

ces risques étant accrues par l'isolement de ces populations du fait de leur caractère insulaire.

Les différents résultats issus des études écologiques et génétiques présentés dans cette thèse suggèrent que les deux espèces étudiées sont fortement impactées par les actions de destruction conduites par les humains pour leurs besoins quotidiens notamment, la dégradation des forêts naturelles et leur conversion en terres agricoles, la destruction des dortoirs pour le bois d'usage mais aussi la chasse. Il est cependant nécessaire d'évaluer dans quelles mesures les populations humaines locales dépendent des ressources naturelles, leurs impacts sur la biodiversité en générale et ces chauves-souris dans le but de proposer des stratégies de conservation adaptées à cette situation.

Les premiers résultats obtenus dans l'étude sociologique que j'ai menés (**manuscrit 5**) permettent de constater que dans tous les villages étudiés, les populations exploitent les ressources naturelles et souvent de manières incontrôlées, ce qui représente la menace directe la plus importante sur les habitats naturels et la biodiversité qu'ils accueillent. Cette surexploitation des ressources naturelles sont le résultat (1) d'une forte croissance démographique (2,5 % par an) combinée à une densité des populations humaines déjà élevée (300 inds/km², Boussougou et al., 2015; Goldewijk, 2005) dans ces îles mais aussi (2) à une grande pauvreté de cette population (Elvidge et al., 2009), la conduisant à exercer des pressions de plus en plus importantes sur les quelques rares écosystèmes naturels restants pour subvenir à leurs besoins quotidiens. Par exemple, Fisher et Christopher (2007) soulignent que 60 % de la population comorienne vit en dessous du seuil de pauvreté et que 49% est victime de malnutrition (Fisher and Christopher, 2007). La transformation des habitats naturels en zones agricoles, ainsi que l'exploitation du bois d'œuvre, sont nécessaires aux populations locales pour leur subsistance et représentent de fait les impacts directs les plus évoqués par ces populations. Cette forte dépendance aux ressources naturelles apparaît comme le point de blocage le plus important pour espérer préserver la biodiversité et les habitats naturels sur le long terme aux Comores.

Malgré cette surexploitation des ressources naturelles par la population humaine rurale, cette étude nous a aussi permis de constater que ces mêmes communautés rurales des Comores ont des perceptions positives de la biodiversité d'une manière générale et considèrent les chauves-souris comme étant des espèces de grandes importances pour le fonctionnement des écosystèmes naturels mais aussi pour les agrosystèmes. A ces visions

positives sur la biodiversité s'ajoutent aussi une perception très majoritairement positive de la nécessité de protéger la biodiversité. Ces attitudes positives sont le plus souvent guidées par des intérêts individuels immédiats tels que l'intérêt pour la chasse ou le fait que la biodiversité attire des touristes et donc peut générer des revenus directs. C'est le cas observé dans de nombreux sites riches en espèces endémiques et accueillant de nombreux touristes, ce qui génère des revenus via l'installation d'hôtels, comme c'est le cas des villages de Nioumachoua et Walla. Dans ces mêmes sites à fort taux d'endémisme, des études scientifiques sont souvent réalisées sur cette biodiversité. Les équipes de ces études engagent régulièrement des guides locaux et accompagnateurs pour mener leurs travaux. Tout ceci génère des revenus directs liés à la biodiversité pour les populations rurales occupant ces zones, ce qui explique *a priori* la perception positive des populations rurales de ces régions sur la biodiversité. Mes enquêtes révèlent aussi que toutes les personnes interviewées étaient conscientes des effets négatifs que la perte des habitats naturels pouvait engendrer sur leur propre survie sur le long-terme. Cependant, pour ces populations rurales, la priorité est de survivre dans l'immédiat et cela passe bien entendu devant la conservation de la biodiversité et la notion d'exploitation durable des ressources naturelles.

Selon les résultats de mes enquêtes, l'état et les ONG sont peu engagées dans les activités de vie de la population rurale. Ce manque d'assistance peut vite créer des situations de malentendus et de conflits entre les gestionnaires des habitats naturels et les communautés rurales comme cela a déjà été observé dans plusieurs pays en développement où la population rurale est fortement dépendante des ressources naturelles (Elvidge et al., 2009).

Cette étude sociologique a aussi permis de montrer qu'il existe une nette séparation entre plusieurs groupes au sein de la population locale vis-à-vis de la manière d'utilisation des ressources naturelles et de gérer les habitats naturels. Les populations locales ayant des niveaux d'éducation assez élevés (niveau baccalauréat et plus) et exerçant des activités professionnelles sont en faveur d'une gestion durable des ressources naturelles et de la conservation de la biodiversité par l'Etat. Au contraire, les personnes démunies, avec des niveaux d'éducations assez faibles considèrent que c'est à eux de gérer la forêt et les ressources naturelles. En d'autres termes, cette deuxième catégorie de personnes soutiendra les actions de conservation seulement si cela engendre des bénéfices immédiats pouvant satisfaire leurs besoins quotidiens et s'ils sont fortement associés, voire s'ils gardent

la maîtrise de la gestion des ressources. Ceci montre (1) la volonté des populations locales à contribuer au maintien des ressources naturelles même si cela est motivé par les bénéfices directs à percevoir mais aussi que (2) ces populations rurales démunies n'ont d'autres solutions que de (sur)exploiter les habitats naturels pour subvenir à leurs besoins. Ces deux derniers points sont essentiels à prendre en compte dans la mise en place d'une stratégie de conservation.

Enfin mes résultats montrent que la population de la grande Comores exploite plus la forêt pour le bois d'œuvre que la population de Mohéli qui est au contraire plutôt en faveur de la conservation de la biodiversité sur le long-terme. De plus, la population de Mohéli considère que le développement ou l'amélioration des techniques agricoles doit permettre d'améliorer les conditions de vie de la population et ainsi de limiter leur dépendance à la forêt naturelle alors que la population de la Grande Comore entend s'appuyer uniquement sur les techniques agricoles traditionnelles. Cette divergence est liée, à mon avis, à la présence d'une aire protégée à Mohéli depuis une vingtaine d'années, aire protégée dont l'objectif est la conservation des espèces animales menacées d'extinction telles que les baleines, les dauphins, les tortues marines... Cette aire protégée a attiré, depuis plusieurs années, des touristes pour observer cette faune, ce qui a engendré des revenus pour certains villageois et a favorisé la compréhension de l'intérêt de préserver la biodiversité dans cette île. Ces types de projets n'ont jamais vu le jour dans les autres îles des Comores. Il est aussi intéressant de prendre en compte ce point lors du développement de stratégies de conservation.

6.2- Mesures de conservation de la biodiversité et des habitats naturels aux Comores

L'Union des Comores a ratifié la Convention sur la Diversité Biologique en 1994 visant à réduire de manière significative la perte de la biodiversité. Suite à cette ratification, l'Union des Comores a renforcé les mesures pour la sauvegarde de sa faune et de sa flore qui est unique au monde. Par exemple, ces mesures de conservation adoptées par l'Union des Comores ont permis la reconstitution de 60% des coraux dans la zone du parc marin de Mohéli, le renforcement des mesures contre le braconnage des tortues marines dans le même parc, l'interdiction des méthodes destructives de pèche, telle que l'utilisation des dynamites, ce qui a conduit à une forte croissance de l'abondance des population d'une

espèce emblématique hautement menacée d'extinction (le cœlacanthe ou *Latimeria chalumnae*) dont sa population atteint 400 individus en 2014 contre 200 en 1998 selon un rapport national (SPANB/PA COMORES 2016).

Malgré ces efforts, les objectifs n'ont pas été atteints et la vitesse de perte d'habitats naturels aux Comores, estimée à 9% par an selon la FAO (Daniel et al., 2016; FAO, 2010) ou à 8% par an à Anjouan selon Boussougou et al. (2015). Ce taux de perte d'habitats reste une des plus élevée au niveau mondial (Daniel et al., 2016; FAO, 2010). Depuis l'année 2016, un projet visant à développer un système d'aires protégées terrestres et marines a été signé. Son objectif est de protéger le patrimoine naturel national et de promouvoir l'utilisation durable des espèces et des écosystèmes (PNUD/GEF, 2013; SPANB/PA-COMORES, 2016). Ce projet d'aires protégées couvre environ 400 km² (22% du territoire national) et inclue toute la zone du Karthala et toute sa forêt (268 km²), la forêt de Mohéli (61 km²), la forêt de mont Ntringi et les alentours couvrant environ une superficie de 38 km², la Réserve Forestière Communautaire de Moya (superficie non précisée). A ces zones, d'autres surfaces ont été ajoutées notamment la Zone du Cœlacanthe et Baie des Dauphins à Grande Comore (superficie marine encore à déterminer) ainsi que la Presqu'île de Bimbini à Anjouan (14 km²) (PNUD/GEF, 2013; SPANB/PA-COMORES, 2016). Selon un rapport du PNUD (PNUD/GEF 2013), le budget annuel pour faire fonctionner ce réseau d'aires protégées est évalué à 7,16 millions d'euros durant les premières 5 années de mise en place et à 1,9 million d'euros par an pour les années suivantes. Selon ce même rapport, ce budget doit assurer le paiement du personnel administratif et des agents de terrain, des équipements, des réunions ainsi que les différentes activités à mettre en œuvre. Cette stratégie n'a cependant pas tenue en compte les populations locales qui sont responsables de surexploitation des ressources naturelles. Limiter l'accès aux ressources naturelles sans tenir en compte des besoins quotidiens des populations locales n'apparaît clairement pas comme la meilleure des stratégies à adopter au vu des nombreux échecs observés par ce type de stratégie à travers le monde (Sournia, 1990).

Suivant les résultats issus de mes travaux, assurer le maintien de la biodiversité et des habitats naturels aux Comores ne sera possible qu'en améliorant le niveau de vie des communautés rurales et en les associant aux responsabilités de conservation de ces zones naturelles. Ceci représente un élément majeur des réflexions à mener en termes de développement des stratégies de conservation de la biodiversité aux Comores.

Il est nécessaire d'améliorer le niveau de vie de la population par la création d'activités pouvant générer de revenus telles que l'amélioration des techniques agricoles. Par exemple, il pourrait être envisagé que dans les fonds de fonctionnement des aires protégées, un budget additionnel soit ajouté pour développer des projets développement du secteur agricole à destination des populations rurales (techniques de l'agriculture écologique), ou le développement de marchés publics pour créer des débouchés aux produits issues de l'agriculture (un manque pointé à plusieurs reprises dans les interviews). Les matériels et techniques agricoles doivent aussi être rendu disponibles aux communautés villageoises. En plus du budget lié au fonctionnement des aires protégées, le gouvernement pourrait mette en place des microcrédits à destination des villageois souhaitant développer des projets agricoles ou d'élevages respectant une certaine charte de respect de l'environnement par exemple. Les gestionnaires d'aire protégées se doivent d'assurer l'amélioration du niveau de vie de la population locale (même si cela doit prendre plusieurs années) avant de limiter l'accès aux ressources naturelles, ressources naturelles conditionnant la survie de ces populations locales notamment les coupes d'arbres et les cultures en milieux forestiers s'ils veulent que les aires protégées soient efficaces sur un long terme.

La deuxième stratégie à mettre en œuvre pour une meilleure gestion des aires protégées et des habitats naturels aux Comores consiste à impliquer fortement les populations locales dans la gestion de ces aires protégées. Par exemple, la formation des agents (les budgets de ces formations sont déjà inclues dans le budget de fonctionnement global des aires protégées) ne doit pas être à la seule destination des agents des ministères comme cela est coutumier. Ces formations doivent être réservées en priorité à la population locale, ce qui leur permettra d'appréhender les différentes méthodes et techniques de suivis de la biodiversité, de les responsabiliser quant à la gestion de la forêt et d'assurer des revenus à une partie de la population locale.

Parmi les contraintes de la conservation durable de la biodiversité aux Comores, il y a les faiblesses du cadre juridique et institutionnel ainsi que les manques de loi fonciers régissant sur l'utilisation des forêts. On ne sait pas jusqu'à ce jour à qui appartient la forêt. Bien que souvent considérée comme appartenant à l'état, les corps même des forêts sont occupés par des villageois qui y cultivent pour satisfaire leurs besoins quotidiens et s'y sont appropriés. Pour une gestion durable de la biodiversité, ces lois doivent non seulement être

votées mais aussi entrer en vigueur petit à petit suivant l'amélioration du niveau économique de la population locale.

6.3- Mesures de conservation du *P. livingstonii*

Pteropus livingstonii semble être fortement structuré génétiquement entre les deux îles (Anjouan et Mohéli) suggérant le manque d'échanges de flux de gènes entre les deux îles. L'étude a pu montrer qu'étant étroitement liée aux habitats naturels, *P. livingstonii* est beaucoup plus vulnérable à la perte de la forêt et cette perte pourrait clairement remettre en question la viabilité des populations de cette espèce. Cependant, étant localisée dans des zones montagneuses avec des pentes fortes et où l'accès des humains est souvent difficile et limité, l'espèce est plus ou moins à l'abri de certaines actions anthropiques notamment de la chasse ou de la conversion de la forêt en zones de cultures. La destruction des dortoirs est aussi limitée dans ces endroits.

Du fait de la forte structure génétique entre les deux îles et du fait que les deux îles ne soient pas soumises aux mêmes vitesses de perte d'habitats ni aux mêmes pressions anthropiques, nous suggérons (1) une stratégie de conservation organisée en deux unités de gestion distinctes (une unité de gestion pour chaque île) pour cette espèce. Bien que la diversité génétique des deux populations des deux îles soit faible d'une manière générale, la population d'Anjouan semble avoir une diversité un peu plus élevée que la population de Mohéli. Par ailleurs, Anjouan héberge la plus grande population pour cette espèce (900/1300 individus pour 16/21 dortoirs) et présente aussi un fort endémisme pour plusieurs groupes taxonomiques. Nous suggérerons (2) de prioriser l'île d'Anjouan pour des actions concrètes de conservation. Notamment, tous les habitats naturels relictuels de cette espèce à Anjouan devraient être inclus dans l'aire protégée du Mont Ntringui (je n'ai pas eu accès aux cartes détaillant le projet de création d'aire protégé prévue sur cette zone). Il serait important que cette zone soit classée en réserve naturelle et que l'accès y soit limité.

Bien que le nombre d'échantillons génétiques dont nous disposons actuellement ne nous permette pas de réaliser des analyses intra-îles et que nous ignorons encore si les populations entre les différents sites échangent de flux de gènes ou pas, nous suggérons (3) la reforestation des zones situées entre des sites dortoirs proches de *P. livingstonii* (par exemple entre les forêts de Salamani, Adda et Ouzini à Anjouan, entre les forêts de Kowé et Moya à Anjouan aussi, et entre les forêts de Hasserandrengué et Hakidigo à Mohéli). Cela

permettrait d'augmenter la connectivité entre les noyaux de populations de l'espèce, ce qui pourrait permettre le maintien de la diversité génétique actuelle déjà faible.

6.4- Mesures de conservation du *P. s. comorensis*

Proposer des mesures concrètes de conservation pour *P. s. comorensis*, parait complexe du fait de sa forte dépendance aux zones anthropisées ce qui la rend plus vulnérable à la destruction des dortoirs ainsi qu'à la pression de chasse.

L'espèce présente une faible structuration entre les quatre îles Comores. Nous suggérons de ce fait (1) de considérer les quatre populations des quatre îles Comores comme étant une seule unité de gestion. Du fait de sa large distribution dans les zones de plantation et dans les forêts dégradées, de l'absence de structure génétique, mais aussi de sa plasticité quant à l'utilisation des ressources (alimentation et dortoirs), il me semble important (2) de limiter la destruction des forêts secondarisées et dégradées pour permettre non seulement de limiter la perte des habitats forestiers mais aussi pour maintenir une population viable de cette espèce. Cette limitation de la destruction doit commencer par l'inclusion de certaines forêts secondaires actuellement occupées par *P. s. comorensis* telles que la forêt de Hakidogo, Nioumachoua et Siri-ziroudani à Mohéli et la forêt de Mromaji, Dindri, Nindri-Kowé dans le système d'aire protégée national.

6.5- Perspectives de recherches pour améliorer les stratégies de conservation

La mise en place des stratégies de conservation efficaces pour ces deux espèces de mégachiroptères est limitée par un manque d'études scientifiques réalisées dans ces îles des Comores. Le manque le plus fragrant à l'issu de cette thèse concerne la démographie et la dynamique de ces populations. L'acquisition de ces types de données par les méthodes traditionnelles nécessite la capture des animaux (**manuscrit 3**) afin de réaliser des suivis individuels sur le long terme. Ceci parait difficile du fait que les populations de ces deux espèces sont localisées dans des grands arbres (*P. s. comorensis*) ou dans des forêts montagneuses présentant des pentes fortes (*P. livingstonii*) mais aussi à cause de leurs enjeux de conservation importants (*P. livingstonii*). Les captures physiques paraissaient très risquées car elles conduisaient à des fortes perturbations pour les populations (dérangement des dortoirs) et peuvent occasionner des mortalités directes de quelques individus de manière accidentelle. L'adoption d'une méthode non-invasive, et plus particulièrement celle

basée sur les fèces de ces animaux, s'avère donc être une bonne méthode alternative pour obtenir des données génétiques (Taberlet *et al.,* 1999).

Les résultats présentés dans le **manuscrit 2** de cette thèse, permet de démonter qu'une telle approche de suivi individuel « non invasive » est faisable pour ces espèces frugivores.

Les résultats obtenus lors de cette étude permettent aussi de montrer que le couplage NIGS-CMR représente la seule approche réaliste et techniquement faisable pour estimer des tailles des populations robustes mais aussi pour estimer les paramètres démographiques chez *P. livingstonii* ainsi que d'autres espèces de chauves-souris frugivores des régions tropicale. Cependant la seule limite pour mettre en œuvre une telle approche chez des ces espèces est le coût élevé notamment des analyses génétiques en laboratoire. Toutefois, du fait que les prix des analyses génétiques peuvent baisser dans les années à venir et que les collectes de données de terrain sont très faciles techniquement et peu couteuses, il paraît utile de collecter les échantillons, de les stocker et d'attendre quelques années avant de les analyser.

Dans le but d'approfondir encore les connaissances sur les deux espèces étudiées mais aussi sur la conservation de la biodiversité aux Comores d'une manière générale, plusieurs études me semblent nécessaires.

Comme je viens de l'expliquer, la méthode de NIGS-CMR est l'approche la plus pratique et la plus efficace pour suivre les populations de chauves-souris frugivores dans les zones tropicales afin d'obtenir des estimations robustes des tailles des populations et des paramètres démographiques.

Il sera cependant nécessaire de mettre en application cette approche dans les années à venir en commençant par les collectes des échantillons annuellement qui seront congelés à -20° ou -80 si nécessaire afin d'assurer une meilleure conservation des échantillons de fèces et attendre d'éventuelle baisse des prix des analyses en laboratoire (ou de trouver des financements spécifiques).

Outre les paramètres démographiques, cet échantillonnage permettra de sexer les individus et d'examiner la sex-ratio des dortoirs par exemple. L'accès à des informations individuelles permettra aussi d'étudier les structures sociales des populations et de détecter d'éventuelle mouvement de fusion-fission entre les diffèrent gites.

Au cours de mes travaux, malgré l'effort important déployé sur le terrain, le nombre d'échantillons que j'ai réussi à collecter pour chaque site d'étude ne m'a pas permis de réaliser une étude de la structuration des populations du *P. livingstonii* entre les différents sites étudiés au sein d'une même île et j'ignore encore si en plus de la forte structuration entre les deux îles, les populations des différents sites d'une même île sont aussi structurées ou pas. Il pourrait de ce fait être intéressant de renforcer l'échantillonnage et d'étudier la structure génétique entre les différents sites étudiés.

Bien que je ne disposais de données suffisantes pour explorer l'histoire évolutive des populations et plus particulièrement l'histoire de colonisation de ces deux espèces dans les îles, les contraintes de temps de la thèse ne m'ont pas permis de réaliser cette étude. Une telle étude, pour laquelle toutes les données sont disponibles, est donc à mener.

Mes travaux ont suggéré que la destruction des dortoirs est un des facteurs impactant les deux espèces étudiées et plus particulièrement *P. s. comorensis*. Il serait de ce fait intéressant de profiter de la méthode de suivi individuel non-invasif pour étudier les réactions des populations face aux destructions des dortoirs que ce soit par les humains ou par les facteurs naturels telles que les cyclones (les deux espèces) et les glissements de terrain (*P. livingstonii*). Selon mes propres observations, il semblerait qu'après destruction des dortoirs, les individus peuvent se disperser et abandonner leurs dortoirs de manière définitive et se trouver d'autres dortoirs ailleurs ou rejoindre d'autres groupes. Ils peuvent aussi disperser et quitter les dortoirs un certain temps et retourner par la suite pour s'installer dans les environs, ou peuvent ne pas se déplacer et rester dans les environs. De telles situations ont été observés sur le terrain dans les diffèrent sites dortoirs des deux espèces. Par exemple, après un glissement de terrain (en 2016) entrainant la chute d'arbres dortoirs de *P. livingstonii* dans le site de Mpagé (le glissement a eu lieu un jour avant notre visite), les individus se sont déplacés pour occuper des arbres environnants et j'ai pu observer à peu près le même nombre d'individus dans ces nouveaux dortoirs que l'année précédente. Au contraire, dans le village de Mbatse (en 2016), après l'abattage d'un arbre dortoir occupé par *P. s. comorensis* sur lequel j'avais réalisé des comptages l'année précédente, j'ai pu constater qu'aucun individu n'était resté dans la zone alors que d'autres arbres pouvant constituer un dortoir pour la population été disponibles dans la zone. Une étude sur ces réactions à la disparition des dortoirs pourrait permettre de mieux

appréhender la résilience des populations des deux espèces vis à vis de cette perturbation et donc de mieux anticiper leur impact.

Durant mes travaux de génétique avec les fèces, j'ai pu constater par surprise que dans certains gites notamment dans les dortoirs de Kowé et de Bazimini (environ 600 et 800 m d'altitude respectivement) où aucun *P. s. comorensis* n'avait été observé pendant la journée, des fèces que j'ai collectées en croyant qu'elles appartenaient à *P. livingstonii*, appartenaient de fait à *P. s. comorensis* après analyse génétique. De ce fait mais aussi par l'écologie spatiale et celle du mouvement peuvent être très utile pour développer des stratégies de conservation efficaces. Il me semble important de réaliser des études sur les mouvements des deux espèces entre leurs gites et leurs sites d'alimentation, par exemple en utilisant des suivis GPS. Une telle étude permettrait de localiser les différents sites d'alimentation des deux espèces et de mesurer la distance entre gites et sites d'alimentation. Cette étude permettrait aussi de détecter de manière plus fine une éventuelle compétition et chevauchement entre les deux espèces en termes d'utilisation de l'habitat et des ressources.

Granek (2002) a suggéré des variations saisonnières des abondances chez *P. livingstonii* probablement due à la disponibilité alimentaire et étonnement, les effectifs sont réduits dans tous les dortoirs au cours de la saison sèche. Les lieux de refuge de ces individus pendant la saison sèche sont cependant totalement inconnus. Il est possible que les individus se disperse partout dans la forêt à la recherche de la nourriture et ne reviennent dans les dortoirs que si les aliments sont abondants. Comprendre ce qui se passe à cette saison et notamment identifier les sites utilisés apparaît aujourd'hui fondamental car toute la stratégie de conservation pour cette espèce focalise sur les dortoirs connus en dehors de cette saison. La boite noire que représente la saison sèche et les pressions que subissent potentiellement les individus à cette saison reste donc clairement un des points les plus limitant pour développer une stratégie de conservation efficace. L'utilisation de suivis individuels par GPS, ou plus simplement par satellite, pourrait permettre de combler ce manque.

En fin, il serait intéressant de poursuivre les études sociologiques par exemple pour évaluer l'efficacité de la mise en place du système d'aires protégées aux Comores. Il serait par exemple très utile d'évaluer les différentes attitudes des populations locales sur la

présence des aires protégées éventuellement selon différentes modalités de mise en œuvre et de gestion. Cette étude pourrait permettre d'améliorer la stratégie de conservation à mettre en œuvre dans le réseau d'aires protégées à échelles national, stratégie qui semble cruciale pour assurer le maintien de la biodiversité dans cet archipel, hotspot de biodiversité.

BIBLIOGRAPHIE

Aziz, S.A., Clements, G.R., McConkey, K.R., Sritongchuay, T., Pathil, S., Abu Yazid, M.N.H., Campos-Arceiz, A., Forget, P.-M., Bumrungsri, S., 2017. Pollination by the locally endangered island flying fox (*Pteropus hypomelanus*) enhances fruit production of the economically important durian (*Durio zibethinus*). Ecol. Evol. 1–15. doi:10.1002/ece3.3213

Bender, D.J., Contreras, T.A., Fahrig, L., 1998. Habitat loss and population decline: A meta-analysis of the patch size effect. Ecology 79, 517–533. doi:10.2307/176950

Boussougou, G.B., Brou, Y.T., Mohamed, I., 2015. Changements de la couverture forestière dans l'Île d'Anjouan entre 1995 et 2014. CEUR Workshop Proc. 1535, 194–207.

Brown, J.H., Kodric-brown, A., 2016. Turnover Rates in Insular Biogeography : Effect of Immigration on Extinction Author (s): James H . Brown and Astrid Kodric-Brown Published by : Wiley Stable URL : http://www.jstor.org/stable/1935620 REFERENCES Linked references are available on JSTOR fo. Ecology 58, 445–449.

Chades, I., McDonald-Madden, E., McCarthy, M.A., Wintle, B., Linkie, M., Possingham, H.P., 2008. When to stop managing or surveying cryptic threatened species. Proc. Natl. Acad. Sci. 105, 13936–13940. doi:10.1073/pnas.0805265105

Chan, L.M., Goodman, S.M., Nowak, M.D., Weisrock, D.W., Yoder, A.D., 2011. Increased population sampling confirms low genetic divergence among Pteropus (Chiroptera: Pteropodidae) fruit bats of Madagascar and other western Indian Ocean islands. PLoS Curr. 21, 1–17. doi:10.1371/currents.RRN1226

Connor, E.F., Courtney, A.C., Yoder, J.M., Mar, N., Connor, E., Yder, J.M., 2000. Individuals-Area Relationships : The Relationship between Animal Population Density and Area. Ecology 81, 734–748. doi:10.1890/0012-9658(2000)081[0734:IARTRB]2.0.CO;2

Daniel, B.M., Green, K.E., Doulton, H., Mohamed Salim, D., Said, I., Hudson, M., Dawson, J.S., Young, R.P., 2016. A bat on the brink? A range-wide survey of the Critically Endangered Livingstone's fruit bat Pteropus livingstonii. Oryx 1–10. doi:10.1017/S0030605316000521

Elvidge, C.D., Sutton, P.C., Ghosh, T., Tuttle, B.T., Baugh, K.E., Bhaduri, B., Bright, E., 2009. A global poverty map derived from satellite data. Comput. Geosci. 8, 1652–1660. doi:10.1016/j.cageo.2009.01.009

FAO, 2010. Etendue des ressources forestières.

Fisher, B., Christopher, T., 2007. Poverty and biodiversity: Measuring the overlap of human poverty and the biodiversity hotspots. Ecol. Econ. 62, 93–101. doi:10.1016/j.ecolecon.2006.05.020

Frankham, R., 1996. Relationship of Genetic Variation to Population Size in Wildlife. Conserv. Biol. 10, 1500–1508.

Goldewijk, K.K., 2005. Three centuries of global population growth: A spatial referenced population (density) database for 1700-2000. Popul. Environ. 26, 343–367. doi:10.1007/s11111-005-3346-7

Goodman, S.M., Chan, L.M., Nowak, M.D., Yoder, A.D., 2010. Phylogeny and biogeography of western Indian Ocean Rousettus (Chiroptera : Pteropodidae). J. Mammal. 91, 1–16. doi:10.1644/09-MAMM-A-283.1.Key

Granek, E., 2002. Conservation of Pteropus livingstonii based on roost site habitat characteristics on Anjouan and Moheli, Comoros islands. Biol. Conserv. 108, 93–100. doi:10.1016/S0006-3207(02)00093-9

Jackson, N.D., Fahrig, L., 2016. Habitat amount, not habitat configuration, best predicts population genetic structure in fragmented landscapes. Landsc. Ecol. 31, 951–968. doi:10.1007/s10980-015-0313-2

Jiguet, F., Devictor, V., Julliard, R., Couvet, D., 2012. French citizens monitoring ordinary birds provide tools for conservation and ecological sciences. Acta Oecologica 44, 58–66. doi:10.1016/j.actao.2011.05.003

Joseph, L.N., Maloney, R.F., Possingham, H.P., 2008. Asignacíon optima de recursos entre especies amenazadas: Un protocolo de priorizacíon de proyectos. Conserv. Biol. 23, 328–338. doi:10.1111/j.1523-1739.2008.01124.x

Mace, G.M., Collar, N.J., Gaston, K.J., Hilton-Taylor, C., Akçakaya, H.R., Leader-Williams, N., Milner-Gulland, E.J., Stuart, S.N., 2008. Quantification of extinction risk: IUCN's system for classifying threatened species. Conserv. Biol. 22, 1424–1442. doi:10.1111/j.1523-1739.2008.01044.x

Mace, G.M., Lande, R., 1991. Assessing Extinction Threats: Toward a Reevaluation of IUCN Threatened Species Categories. Conserv. Biol. 5, 148–157. doi:10.1111/j.1523-1739.1991.tb00119.x

McConkey, K.R., Prasad, S., Corlett, R.T., Campos-Arceiz, A., Brodie, J.F., Rogers, H., Santamaria, L., 2012. Seed dispersal in changing landscapes. Biol. Conserv. doi:10.1016/j.biocon.2011.09.018

Pierson, E.D., Elmqvist, T., Rainey, W.E., Cox., P.A., 1996. Effects of tropical cyclonic storms on flying fox populations on the South Pacific islands of Samoa. Conservation Biology. Conserv. Biol. 10, 458–451.

PNUD/GEF, 2013. Developpement d'un reseau national d'aires protegees terrestres et marines representatives du patrimoine naturel unique des comores et cogerees avec les communautes villageoises locales COMMUNAUTES VILLAGEOISES LOCALES Rapport de Spécialiste en Economie e.

Russell, A.L., Brown, V.A., Utzurrum, R.C.B., Brooke, A.P., Wolf, L.A., Mccracken, G.F., 2016. Comparative Phylogeography of *Pteropus samoensis* and *P. tonganus* (Pteropodidae: Chiroptera) in the South Pacific. Acta Chiropterologica 18, 325–335. doi:10.3161/15081109ACC2016.18.2.002

Sewall, B.J., Granek, E.F., Moutui, M.F.E., Trewhella, W.J., Reason, P.F., Rodríguez-clark, K.M., Saïd, I., Carroll, J.B., Masefield, W., Vély, M., Mohadji, F., Feistner, A.T.C., Wells, S., 2007. Conservation Action Plan for Livingstone's Flying Fox, A Strategy for an Endangered Species, a Diverse Forest, and the Comorian People. Conserv. Action Plan Livingstone's Fly. Fox 1–52.

Soliveres, S., Manning, P., Prati, D., Gossner, M.M., Alt, F., Arndt, H., Baumgartner, V., Binkenstein, J., Birkhofer, K., Blaser, S., Blüthgen, N., Boch, S., Böhm, S., Börschig, C., Buscot, F., Diekötter, T., Heinze, J., Hölzel, N., Jung, K., Klaus, V.H., Klein, A.-M., Kleinebecker, T., Klemmer, S., Krauss, J., Lange, M., Morris, E.K., Müller, J., Oelmann, Y., Overmann, J., Pašalić, E., Renner, S.C., Rillig, M.C., Schaefer, H.M., Schloter, M., Schmitt, B., Schöning, I., Schrumpf, M., Sikorski, J., Socher, S.A., Solly, E.F., Sonnemann, I., Sorkau, E., Steckel, J., Steffan-Dewenter, I., Stempfhuber, B., Tschapka, M., Türke, M., Venter, P., Weiner, C.N., Weisser, W.W., Werner, M., Westphal, C., Wilcke, W., Wolters, V., Wubet, T., Wurst, S., Fischer, M., Allan, E., 2016. Locally rare species influence grassland ecosystem multifunctionality. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 371, 20150269. doi:10.1098/rstb.2015.0269

Sournia, G., 1990. Les aires de conservation en Afrique francophone : aujourd â€™ hui et demain espaces à protéger ou espaces à partager ? Cah. d'Outre-Mer, 42, 451–463.

SPANB/PA-COMORES, 2016. Stratégie nationale et plan d'action actualises pour la diversité biologique_v2.

Taberlet, P., Waits, L.P., Luikart, G., 1999. Noninvasive genetic samplig: look before you leap. TREE 14, 223–227.

Annexe 1 :

Matériel supplémentaire du chapitre 2

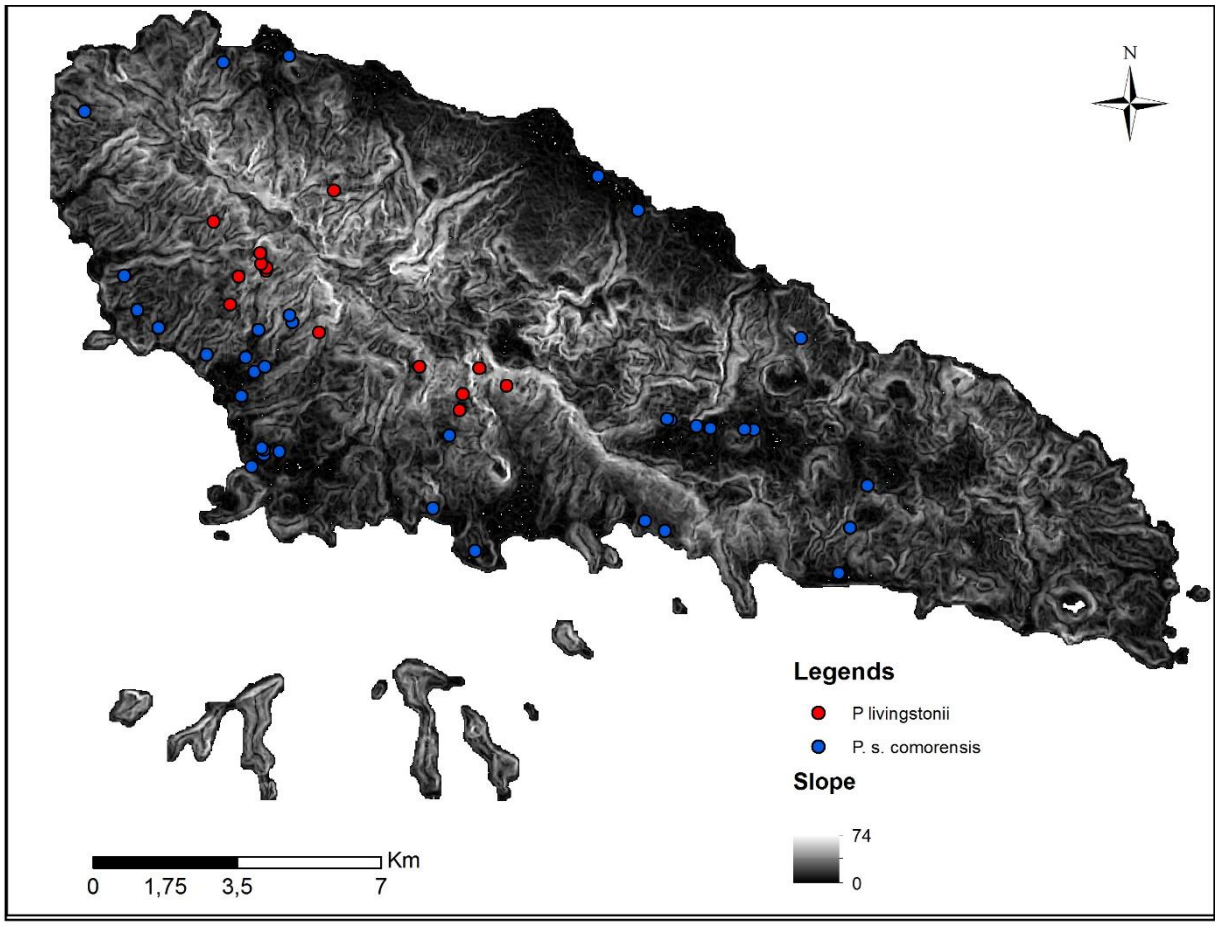
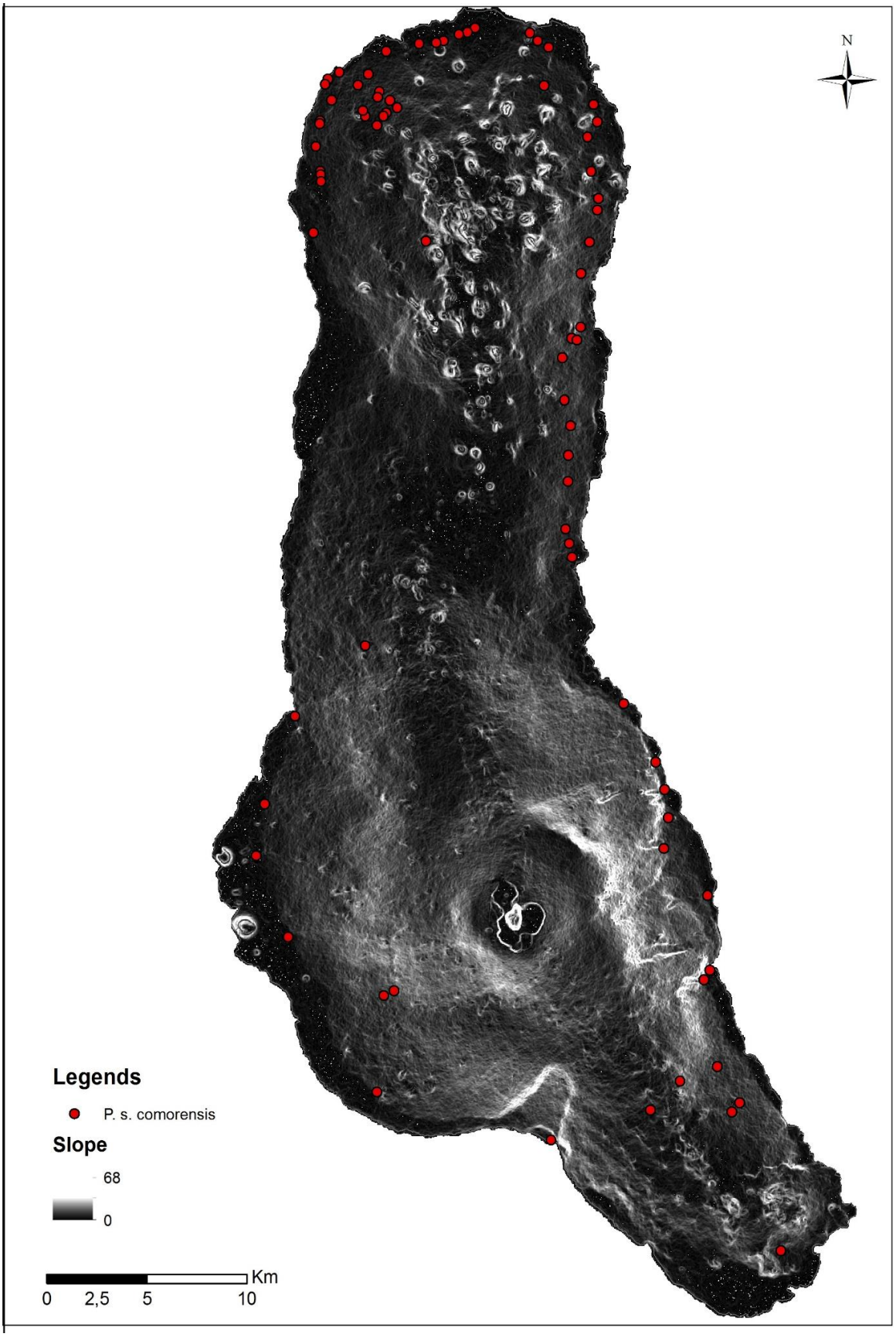


Figure S1: Map showing the location of modeled occurrence points for *P. livingstonii* and *P. s. comorensis* and topography in the Mohéli Island.



BB

Figure S2: Map showing the location of modeled occurrence points for *P. s. comorensis* and topography in the Grande Comore Island.

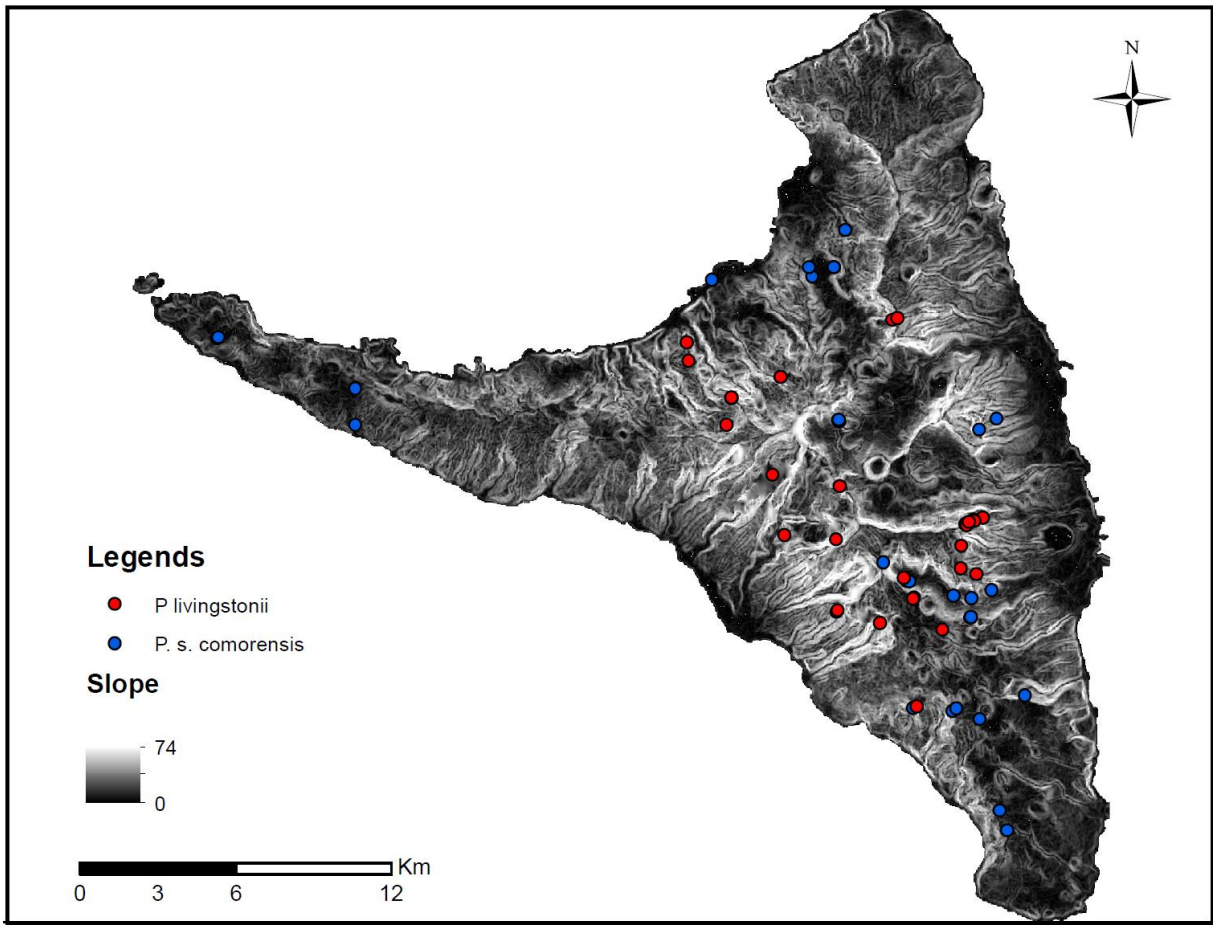


Figure S3: Map showing the location of modeled occurrence points for *P. livingstonii* and *P. s. comorensis* and topography in the Anjouan Island.

Table S1: Characteristics of roosting trees used by the *P. s. comorensis* in the three islands

Island	Scientific Name	Family	Mean dbh (cm)	Mean High (m)	Bat counts
Anjouan	*Pterocarpus indicus*	Fabaceae	120	30	**71**
	Adansonia digitata	Bombacaceae	250	18	48
	Artocarpus heterophyllus	Moraceae	55	21,5	163
	Ficus sp.	*Moraceae*	84,7	19,7	533
	Mangifera indica	Anacardiaceae	92,5	18	56
	Olea capensis	*Oleaceae*	90	33	42
	Unknown		130	18	52
	Albizia sp.	*Fabaceae*	58,5	20,2	**348**
	Unknown		20	10	16
	Eucalyptus sp	Myrtaceae	40	15	21
	Ocotea comorensis	*Lauraceae*	35,2	16,7	292
	Albizia lebbeck		45	16	20
	Unknown		90	18	19
	Nuxia pseudodenta	*Loganiaceae*	79,169	22,6	51
	Ceiba pentandra	Bombacaceae	145,6	20,5	467
	Ficus lutea	*Moraceae*	38,5	20,5	69
					77
Gde Comore	*Pterocarpus indicus*	Fabaceae	82,91	34,4	**1183**
	Adansonia digitata	Bombacaceae	181,45	32,2	708
	Artocarpus heterophyllus	Moraceae	45	30	21
	Ficus synicorus	*Moraceae*	65	13,3	115
	Litchi chinensis	Sapindaceae	95	35	47
	Mangifera indica	Anacardiaceae	67,99	28,1	477
	albizia sp.	Fabaceae	48,75	22,6	**1920**

	Terminalia catappa	*Combretaceae*	150	32,7	204
	albizia lebbeck	*Fabaceae*	43,9	29	954
	Ceiba pentandra	Bombacaceae	154,3	37,3	**1074**
	Tamarindus indica	Caesalpiniaceae	59,5	18,5	210
	Eugenia jambolana	Myrtaceae	65	27,3	127
Moheli	*Pterocarpus indicus*	Fabaceae	72,1	18,1	**1075**
	Ficus sp.	*Moraceae*	90	18	34
	Albizia sp.	*Fabaceae*	46,8	17,6	421
	Leea guineensis	*Leeaceae*	50	35	20
	Terminalia catappa	*Combretaceae*	100	35	15
	Ceiba pentandra	Bombacaceae	167,1	22,0	**1155**
	Eugenia jambolana	Myrtaceae	67	35	24
Total			86,16	24,27	12129

Table S2: Characteristics of roosting trees used by *P.livingstonii* in Anjouan and Moheli Island per site

Islands	Scientific Name	Familly	Mean dbh (cm)	Mean height(m)	Bat counts
Anjouan	*Ficus sp.*	*Moraceae*	66	18	88
	Olea capensis	*Oleaceae*	66	25	51
	Unknown		95	25	48
	Leea guineensis	*Leeaceae*	110	20	1
	Gambeya boiviniana	*Sapotaceae*	70	21	191
	Terminalia catappa	*Combretaceae*	90	26	50
	Anthocleista grandiflora	*Gentianaceae*	34	15	11
	Ocotea comorensis	*Lauraceae*	95	31	42

FF

	Eugenia comorensis	Myrtaceae	65	24	55
	albizia lebbeck	*Fabaceae*	55	19	4
	Nuxia pseudodenta	*Loganiaceae*	52	21	121
	Ficus lutea	*Moraceae*	79	24	44
	Weinmannia comorensis	*Cunoniaceae*	55	20	13
Moheli	*Ficus sp.*	*Moraceae*	90	18	25
	Albizia sp.	*Fabaceae*	76	36	63
	Leea guineensis	*Leeaceae*	88	32	222
	Gambeya boiviniana	*Sapotaceae*	46	26	76
	Terminalia catappa	*Combretaceae*	73	33	97
	albizia lebbeck	*Fabaceae*	60	18	1
Total			**70**	**24,28**	**1243**

Annexe 2 :

Matériel supplémentaire du chapitre 3

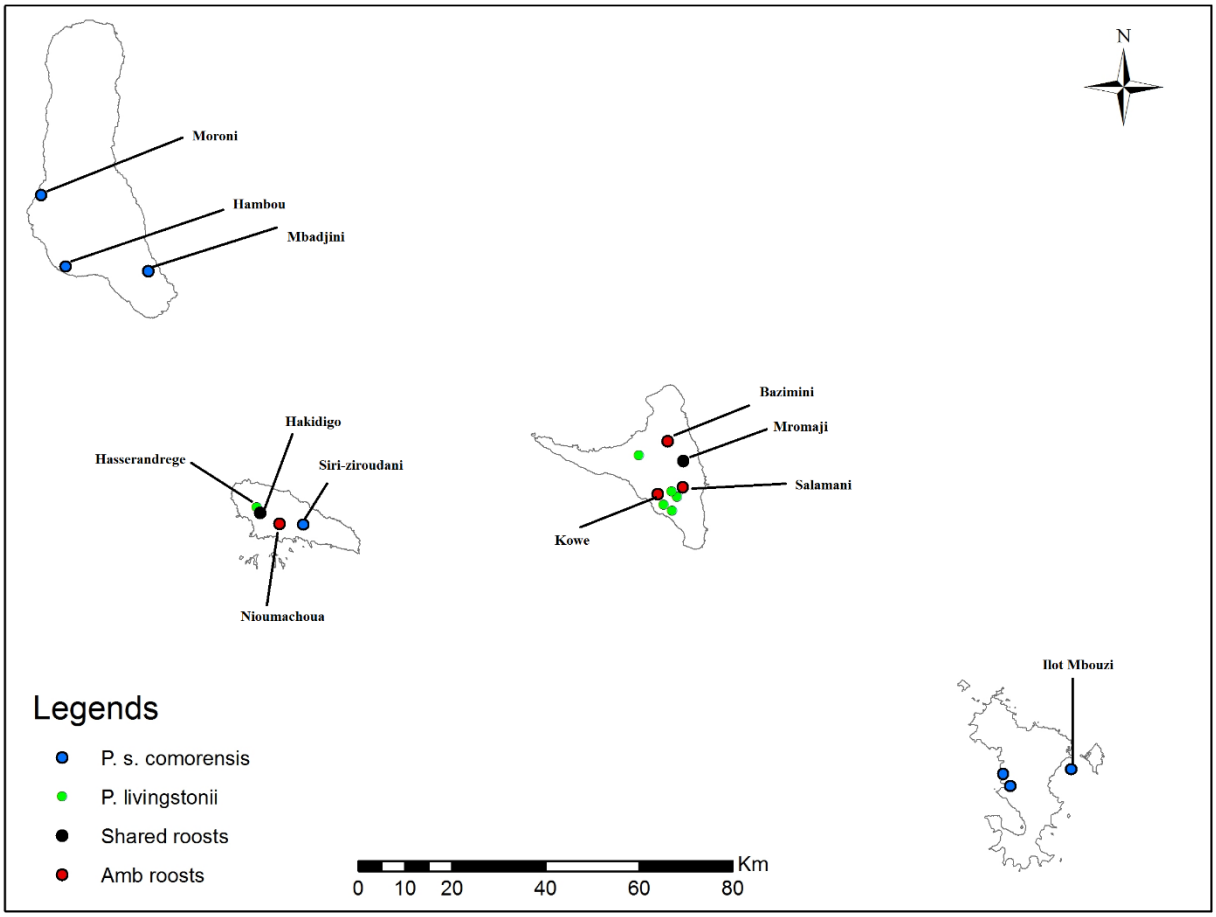


Figure S1: Sampling locations in the four islands of Comoros (tissue samples are collected in the four islands while fecal samples are collected only in the three islands of the Union of Comoros (Anjouan, Mohéli and Grande Comore); green and blue circles represent the sampling location for *Pteropus livingstonii* and *P. seychellensis* comorensis respectively; Black circles represent the roost shared by the two species and red represent all sites where *P. livingstonii* apparently occurs alone during the daytime but using genetic analysis we found sequences for P. s. comorensis in the droppings

Table S1: Accession number of sequences (for *P. livingstonii* and *P. s. comorensis*) collected in Gene Bank in order check for the belonging of fecal samples to the target species using phylogenetic analyzes

Species	Accession numbers	Island
P. livingstonii	JF327234	Anjouan
	JF327233	Anjouan
	JF327229	Anjouan
	JF327227	Anjouan
	JF327226	Anjouan
	JF327225	Anjouan
	JF327232	Anjouan
	JF327231	Anjouan
	JF327230	Anjouan
	JF327228	Anjouan
P. s. comorensis	JF327215	Anjouan
	JF327216	Anjouan
	JF327217	Anjouan
	JF327218	Anjouan
	JF327219	Anjouan
	JF327220	Anjouan
	JF327221	Anjouan
	JF327222	Anjouan
	JF327223	Anjouan
	JF327224	Anjouan
	JF327261	Grande Comores
	JF327262	Grande Comores
	JF327263	Grande Comores
	JF327264	Grande Comores
	JF327265	Grande Comores
	JF327266	Grande Comores
	JF327268	Grande Comores
	JF327269	Grande Comores
	JF327271	Mohéli
	JF327272	Mohéli

Table S2: Detailed genetic diversity metrics using microsatellite loci for the two flying fox species from different Islands of Comoros.

Pteropus livingstonii						
Pop	**Locus**	**N**	**Na**	**Ho**	**He**	**Fis**
Anjouan	**A1**	46	3	0,52	0,48	-0,09
	C6	48	5	0,38	0,35	-0,07
	PH9	48	9	0,63	0,66	0,05
	A2	49	8	0,84	0,70	-0,19
	CSP7	48	4	0,54	0,53	-0,03
	A3	47	5	0,38	0,41	0,05
	B29	49	3	0,10	0,17	**0,39***
Mohéli	**A1**	23	3	0,65	0,66	0,01
	C6	23	4	0,65	0,69	0,05
	PH9	22	4	0,55	0,68	0,19
	A2	23	6	0,65	0,73	0,10*
	CSP7	23	2	0,17	0,16	-0,09
	A3	22	5	0,45	0,48	0,04
	B29	23	2	0,04	0,12	0,64**
P. s. comorensis						
Anjouan	**A1**	6	3	0,33	0,54	0,38
	C6	7	1	0,00	0,00	NA
	PH9	7	9	1,00	0,85	-0,18
	A2	7	4	0,86	0,70	-0,21
	CSP7	7	3	0,43	0,57	0,25
	A3	4	3	1,00	0,59	-0,68
	B29	6	3	0,17	0,40	0,58
Mohéli	**A1**	8	2	0,13	0,12	-0,06
	C6	10	1	0,00	0,00	NA
	PH9	10	7	0,90	0,79	-0,14
	A2	10	3	0,40	0,58	0,31
	CSP7	10	4	0,70	0,63	-0,12
	A3	7	4	0,57	0,46	-0,24
	B29	10	2	0,00	0,18	1**
Grande Comore	**A1**	29	3	0,24	0,27	0,11**
	C6	31	2	0,03	0,03	-0,01
	PH9	30	13	0,70	0,81	0,14**
	A2	31	6	0,39	0,53	0,26***
	CSP7	31	4	0,61	0,64	0,04

	A3*	30	5	0,60	0,56	-0,07
	B29	30	4	0,10	0,27	0,62***
Mayotte	**A1**	21	2	0,05	0,05	-0,02
	C6	21	1	0,00	0,00	NA
	PH9	21	11	0,86	0,79	-0,07
	A2	21	3	0,38	0,53	0,27
	CSP7	21	4	0,57	0,67	0,14
	A3	21	5	0,33	0,52	0,35**
	B29	21	4	0,14	0,37	0,61***

Annexe 3 :

Matériel supplémentaire du chapitre 4

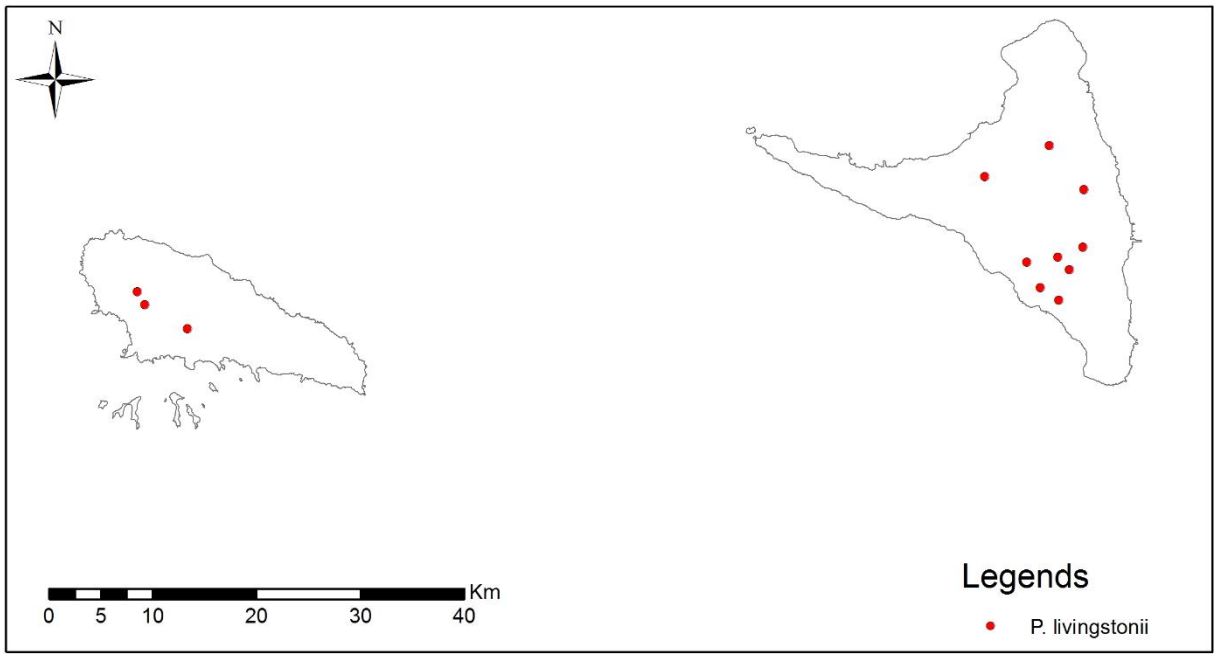


Figure S1: *Pteropus livingstonii* fecal sampling locations in the two islands (Mohéli and Anjouan)

Annexe 4:

Matériel supplémentaire du chapitre 5

Table S1: Q-sort results; values on the tables represent the number of statements, see table 2 (chapter 5) for details of statements.

N°1 : Nioumadzha Gde Comore

			19	10	33			
		28	1	9	8	31		
	12	2	29	17	5	3	30	
15	23	7	16	18	11	22	32	13
26	25	24	21	4	6	14	20	27
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°2 : Walla1, Mohéli

			18	2	30			
		16	13	31	1	24		
	6	15	28	19	12	8	17	
11	27	21	32	26	4	14	22	29
10	5	20	7	9	23	25	33	3
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°3 : Walla1, Mohéli

			6	13	12			
		28	10	19	21	4		
	20	9	11	26	1	16	3	
7	29	23	33	30	27	22	5	2
25	18	15	24	17	14	32	31	8
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°4 : Walla1, Mohéli

			10	19	26			
		7	16	27	32	30		
	18	12	11	13	22	31	4	
6	9	15	21	28	24	1	33	5
17	14	23	29	20	2	8	3	25
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°5 : Walla1, Mohéli

			10	6	14			
		26	7	9	16	5		
	1	18	2	27	17	33	12	
28	25	31	20	13	8	23	29	3
4	15	30	22	11	32	24	21	19
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N° 6 : Walla1, Mohéli

			10	21	21			
		22	32	7	7	5		
	28	2	13	12	12	24	4	
18	6	1	16	23	23	31	26	25
15	9	17	11	27	20	3	29	30
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°7 : Walla1, Mohéli

			22	23	4			
		15	6	16	5	1		
	13	2	7	29	3	33	31	
10	12	32	24	25	8	27	21	14
9	18	11	20	26	28	19	30	17
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N° 8 : Walla 2 Mohéli

			11	19	4			
		16	24	3	33	9		
	7	28	1	13	20	26	25	
14	15	22	21	17	31	30	29	8
18	5	6	10	23	12	27	32	2
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°9 : Walla 2 Mohéli

			8	1	27			
		28	32	25	16	13		
	10	15	22	29	30	26	3	
18	6	11	17	7	23	12	33	31
9	20	21	2	14	24	19	4	5
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°10 : Nioumachoua Mohéli

			1	22	30			
		16	27	24	32	33		
	6	29	28	2	26	8	3	
18	9	7	23	11	12	25	19	31
20	15	17	10	14	21	4	13	5
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°11 : Nioumachoua Mohéli

			18	20	9			
		1	10	12	11	23		
	28	6	15	14	21	29	30	
19	7	16	8	17	33	31	24	25
22	27	32	2	13	26	4	3	5
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N° 12 : Ndrondroni Mohéli

12			10	7	8			
		2	11	19	30	1		
	13	6	27	22	31	4	3	
15	18	12	14	20	26	5	33	23
16	28	9	29	32	21	17	24	25
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

QQ

N°13 : Nioumachoua Mohéli

			19	27	24			
		32	7	11	14	5		
	2	18	10	12	1	17	31	
6	15	28	13	9	21	30	33	3
20	22	29	16	26	8	32	25	4
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°14 : Walla 2 Mohéli

			13	27	3			
		18	7	10	14	16		
	6	15	8	31	31	4	12	
29	23	1	11	22	33	30	5	9
2	28	20	21	19	24	17	26	25
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°15 : Ndrondroni Mohéli

			10	29	33			
		2	11	12	3	1		
	21	18	6	22	20	19	14	
27	7	16	23	13	26	30	25	31
8	9	15	28	17	4	32	5	24
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°16 : Nioumadzaha, Grande Comore

			29	14	27			
		10	18	16	12	20		
	2	28	24	19	13	30	33	
6	11	8	17	26	25	7	1	4
9	15	21	14	14	31	32	3	5
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°17 : Nganzalé, Anjouan

17			27	29	17			
		6	16	5	20	32		
	22	10	26	19	21	25	9	
18	7	2	13	12	14	33	31	23
28	15	8	24	11	1	4	3	30
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°18 : Salamani Anjouan

			13	17	19			
		29	7	12	33	14		
	21	16	22	10	26	30	5	
18	28	1	2	24	8	23	31	20
6	15	11	9	27	32	4	3	25
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°19 : Moya, Anjouan

			17	16	30			
		19	20	33	22	29		
	15	7	2	12	27	13	24	
28	6	26	18	11	25	14	8	32
10	9	21	23	1	5	4	3	31
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°20 : Moya, Anjouan

			18	27	14			
		29	13	9	16	30		
	7	19	24	1	17	31	4	
28	21	22	11	12	8	32	25	23
015	6	10	2	26	33	3	23	5
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°21 : Ada Anjouan

			10	1	7			
		29	24	21	26	32		
	6	9	13	22	33	14	8	
2	15	27	11	23	16	4	31	5

18	19	28	20	17	12	25	30	3
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°22 : Ada Anjouan

			11	23	17			
		2	12	24	7	14		
	28	15	27	9	8	19	31	
6	22	26	32	13	16	21	1	5
20	18	29	10	30	25	3	33	4
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°23 : Limbi Anjouan

			9	19	17			
		2	11	26	16	24		
	15	7	23	12	20	5	31	
18	28	32	27	25	10	30	8	14
6	22	13	29	21	1	4	33	3
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°24 : Limbi Anjouan

			18	32	14			
		15	10	24	29	4		
	2	25	9	23	12	5	21	
16	1	19	28	20	30	11	17	33
6	7	27	22	26	8	13	3	31
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

UU

N°25 : Mromaji, Anjouan

			29	6	30			
		22	19	16	25	33		
	9	26	7	27	10	4	31	
18	1	11	15	24	20	5	12	32
2	28	13	23	14	17	21	3	8
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°26 : Tsinimoipanga, Grande Comore

26			10	11	21			
		2	19	16	32	3		
	13	23	24	8	27	5	30	
18	22	28	12	1	9	7	33	32
15	6	29	17	26	20	14	4	8
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°27 : Nkourani, Grande Comore

		10	15	20	
	3	11	14	21	25

	32	7	12	17	22	5	29	
1	4	16	26	18	23	27	30	31
2	6	9	8	19	24	28	13	33
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°28 : Nkourani, Grande Comore

			2	29	1			
		22	11	28	5	25		
	15	21	10	24	18	4	31	
6	23	19	8	32	26	14	20	30
12	9	27	16	13	7	3	17	33
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°29 : **Nkourani, Grande Comore**

			18	23	17			
		2	26	32	13	5		
	6	22	27	7	28	25	4	
11	1	10	24	26	14	19	8	12
9	15	33	21	16	30	3	29	31
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

N°30 : Nkourani, Grande Comore

		23	28	29	
	33	22	32	8	27

WW

	26	10	20	19	9	24	25	
18	15	11	4	13	5	6	31	16
21	1	2	12	17	30	7	3	14
-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

ABSTRACT

The Comoros Islands are known for their important biodiversity with a high endemism rate for each taxonomic group. This natural richness face huge anthropogenic pressures due to a high rate of habitat loss and fragmentation estimated to be the highest in the word. Wild endemic mammals are the most threatened fauna in these islands. These species are often characterized by small population sizes making them highly vulnerable to disturbances. Indeed, small population size makes populations prone to allee effect, genetic drift or inbreeding depression, which subsequently conducts to a decrease of species' evolutionary potential, thus diminishing their long term viability. In order to understand the effect of habitat disturbance on the Comoros Islands natural fauna, I studied two endemic and highly threatened flying fox species (*Pteropus livingstonii* with a population size estimated of 1300 individuals and *P.seychellensis comorensis* whose population is estimated to few thousands of individuals). For that, I combined different approaches including spatial distribution and ecological niche modeling, as well as population demography and socio-economic approaches. This integrated approach is crucial to identify the different causes of mammals' population loss and propose relevant conservation measures. In a first part of this thesis, I show the results of the spatial distribution modeling and habitat selection of the two flying fox species as well as their geographic distribution ranges using Species Distribution Modelling (SDM) and Ensemble of Small Models approach specifically adapted to rare and threatened species. This first part allowed me to assess which ecological variables and anthropogenic pressures are determinant for the distribution of both species as well to characterize the degree of threat of the two species. In the second part of this thesis, I studied the genetic diversity and genetic population structure of both species among the four islands of Comoros with the aim to look for possible gene flow breaks between sub-populations but also to uncover which species face a high risk of extinction. This study highlights that these two phylogenetic and morphologically related species show different genetic structures among islands. In a third part, I explored the feasibility and costs of a non-invasive genetic monitoring protocol to obtain accurate population size, demographic parameters and develop a long-term monitoring of *P. livingstonii*. Due to the sensitivity of this species to capture and handling but also because of its rareness, a direct monitoring using classical capture-recapture method was not possible. This study showed that this approach is realistic but involves a high cost that seems to be unsuitable with the budgets available for conservation of the species in the Comoros Islands. In a fourth part of my thesis, I characterized the anthropogenic pressures that impacts both species using a socio-economic characterization of these islands (forest exploitation and hunting pressures among others) by using semi-structured interviews and a Q-methodology approach. This allows me to understand the relationship of local communities with the local biodiversity as well as to interpret the ongoing natural habitat evolution and to predict its future. In the last chapter (fifth), I combined the results of all the different but complementary approaches used along the thesis with the aim to propose a management plan appropriate for these two species.

Key words: Natural habitat loss, Comoros Islands, Pteropus livingstonii, P.seychellensis comorensis, Conservation strategies

RESUME

L'archipel des Comores héberge une diversité biologique exceptionnelle avec un taux d'endémisme élevé au sein de chaque groupe taxonomique. Cette richesse fait cependant face aux effets alarmants de la perte d'habitats naturels et de leur fragmentation causées par les pressions anthropiques mal planifiées. Les mammifères sauvages sont parmi la faune la plus touchée par la perte d'habitats dans ces îles. Ces espèces sont souvent caractérisées par des tailles de populations faibles qui les rendent sensibles aux perturbations. De plus, ces petites tailles de populations peuvent amplifier les menaces à travers des mécanismes de consanguinités et/ou d'effet Allee, ce qui conduit à la réduction de leur potentiel évolutive et de leur viabilité dans le long terme. Pour mieux appréhender l'effet des actions anthropiques sur la faune des Comores, j'ai étudié deux Mégachiroptères endémiques et menacées d'extinction des Comores (*Pteropus livingstonii* dont la taille de la population est estimée à 1300 individus et *P. seychellensis comorensis* dont la taille de la population est estimée à plusieurs milliers d'individus). Je me suis appuyé sur des approches génétiques, d'écologie spatiale, de démographie mais aussi sur une étude socio-économique. Une telle approche intégrée est cruciale pour identifier les causes des déclins et proposer des mesures de conservation efficaces. Dans le premier volet de ma thèse, j'ai modélisé l'utilisation de l'espace par les deux espèces ainsi que leur distribution géographique à travers des modèles de niches, plus spécifiquement la méthode de « Species Distribution Modeling » à travers l'approche « Ensemble of Small Models » spécifiquement adaptés aux espèces rares. Ce premier axe m'a permis de déterminer quelles sont les variables écologiques et/ou les pressions anthropiques qui déterminent la distribution des deux espèces dans l'archipel. Cela m'a permis aussi de caractériser le degré de menace subi par ces deux espèces. Dans le deuxième volet de ma thèse, j'ai étudié la diversité génétique et la structuration des populations des deux espèces entre les quatre îles des Comores afin de détecter d'éventuels ruptures des flux géniques entre les différentes populations d'une même espèce et d'identifier les populations à risque d'extinction. Cette étude montre que les deux espèces, pourtant proches phylogénétiquement et morphologiquement, ne présentent pas du tout le même patron de structuration des populations. Dans un troisième volet, j'ai exploré la faisabilité et le coût de la mise en place d'un éventuel suivi individuel à long terme des paramètres démographiques des populations de *P. livingstonii* à travers un échantillonnage non-invasif combiné à l'approche capture-marquage-recapture (NIGS-CMR). En effet, la sensibilité à la capture et le degré de menace sur cette espèce ne permettent pas d'adopter les méthodes traditionnelles de suivi basées sur la capture physique et le marquage des individus. Cet axe montre que l'approche NIGS-CMR est réaliste mais induit des coûts qui paraissent peu compatibles avec les budgets disponibles pour le moment pour la conservation et le suivi de cette espèce aux Comores. Enfin, dans un quatrième volet, j'ai caractérisé les pressions anthropiques subies par ces populations en lien avec les caractéristiques socio-économiques de l'archipel (exploitation des forêts, pressions de chasse…) et cela à travers des interviews classiques et d'un dispositif original d'étude sociologique (Q-sort). Ces approches permettent de mieux comprendre quelles représentations ont les populations locales de ces espèces afin de mieux interpréter l'évolution de la forêt naturelle et prédire son avenir. Dans une dernière partie je mets en regard les résultats des différentes approches complémentaires pour discuter d'un plan de gestion et de conservation approprié pour ces espèces à fortes valeurs patrimoniales.

Mots clés : Perte des habitats naturels, Comores, Pteropus livingstonii, P.seychellensis comorensis, Stratégies de conservation