

Livrable LIFE4BEST

Analyse comparative de signaux acoustiques déterminés comme appartenant au type acoustique *Chiroptera sp1* avec des sons d'espèces de chauves- souris connues

Romain FERNANDEZ, Gildas MONNIER, Sarah FOURASTÉ

Novembre 2021



With the financial support from the LIFE Programme of the European Union, the French Office for Biodiversity and the French Agency for Development through the LIFE4BEST Programme

Groupe Chiroptères Océan Indien

180 Chemin Ligne, La Saline, 97422 Saint-Paul

Tel : 06 92 67 65 92

E-mail : contact@gcoi.org

Résumé :

L'identification acoustique des espèces de chauves-souris est un outil désormais couramment employé pour l'étude de ce taxon. À La Réunion, quatre types acoustiques sont définis dans les clés de détermination, mais seules deux espèces sont connues et décrites : *Mormopterus francoismoutoui* et *Taphozous mauritanus*. Le troisième et quatrième type acoustique ont été nommés comme des taxons en attente d'être décrit : *Chiroptera sp1* et *Chiroptera sp2*. Il existe des mentions historiques dans la littérature d'autres espèces de Chiroptères ayant été présentes sur l'île, mais rien ne permet actuellement de les rapprocher de *Chiroptera sp1* suite à l'absence d'individus capturés.

Ce projet, financé par l'Union européenne, l'OFB et l'AFD, au travers du programme LIFE4BEST, propose une nouvelle approche pour la prospection et l'investigation de ce type acoustique. Grâce à l'extraction automatique des paramètres acoustiques des signaux de Chiroptères enregistrés à l'envol, un nombre important de données acoustiques a pu être analysé. L'objectif de cette étude est d'utiliser les sons identifiés comme appartenant au type acoustique de *Chiroptera sp1* tel que décrits dans la littérature et de les comparer aux sons issus des individus identifiés avec certitude comme *Mormopterus francoismoutoui* et *Taphozous mauritanus*, pour valider ou infirmer l'hypothèse que ce type acoustique appartient à une espèce distincte, encore non décrite.

Abstract:

Acoustic identification has become a standard method to study bat species. In the Reunion Island, four acoustic types have been defined in the identification keys, but only two of them have been described so far; *Mormopterus francoismoutoui* and *Taphozous mauritanus*. The third and fourth acoustic types were respectively named *Chiroptera sp1* and *Chiroptera sp2*, as these taxa still need to be described. If literature mentions other bat species on the island, no comparison has been made possible with *Chiroptera sp1*, as no individuals were captured.

Financed by the European Union, the OFB and the AFD, through the LIFE4BEST program, this project offers a new research approach to decipher this acoustic type. Thanks to automatic extraction of bat signal acoustic parameters recorded in flight, a lot of acoustic data could be analyzed. The aim of this study is to use the identified sounds of *Chiroptera sp1* previously described, and to compare them to the identified species sounds of *Mormopterus francoismoutoui* and *Taphozous Mauritanus*, to prove or disprove the hypothesis that this acoustic type belongs to a new species.

Introduction

Au cours de leur évolution, les chiroptères ont réussi progressivement à occuper une niche écologique spécifique notamment grâce au développement de l'écholocation. Ces signaux sonar leur permettent d'appréhender efficacement l'environnement dans lequel elles évoluent, afin de s'y déplacer ou de s'y nourrir. Depuis plus de 70 ans, l'évolution de la technologie a rendu possible l'étude de ces signaux, qui a entraîné la découverte de nouvelles espèces et a contribué à l'amélioration des connaissances sur l'écologie des chiroptères (Zamora-Gutierrez *et al.*, 2021). C'est notamment le cas sur l'île de La Réunion où les répertoires acoustiques de deux espèces de chauves-souris insectivores ont été décrits, le petit molosse de La Réunion (*Mormopterus francoismoutoui*) et le taphien de Maurice (*Taphozous mauritanus*) (Barataud et Giosa, 2013). Ces découvertes s'inscrivent dans le cadre de deux missions initiées par le Parc national de La Réunion, menées en 2009 puis 2012 par la Société Française pour l'Étude et la Protection des Mammifères. Ces missions ont également mis en évidence deux types acoustiques inconnus, nommés *Chiroptera sp1* et *Chiroptera sp2*, qui ne sont actuellement rapprochés d'aucun répertoire acoustique des espèces connues sur l'île. Plusieurs études ont été menées depuis pour tenter de décrire les chauves-souris à l'origine de ces sons et leur répartition géographique, mais les chauves-souris qui émettent ces signaux restent non déterminées (Augros, 2017 ; Monnier et Fourasté, 2018 ; Prié *et al.*, 2016). L'occurrence extrêmement faible du type acoustique *Chiroptera sp2* ne permet pas actuellement de mener des analyses spécifiques. La présente étude porte ainsi uniquement sur le type acoustique *Chiroptera sp1*, contacté régulièrement. Son objectif est d'utiliser les sons identifiés comme appartenant au type acoustique de *Chiroptera sp1* et de les comparer aux sons issus d'individus identifiés avec certitude comme *M. francoismoutoui* ou *T. mauritanus* pour valider ou infirmer l'hypothèse que ce type acoustique appartient à une espèce encore non décrite. Cette étude vise à tester plusieurs hypothèses envisageables ; H1 : *Chiroptera sp1* est un type acoustique non identifié chez *M. francoismoutoui* ou *T. mauritanus* ; H2 : *M. francoismoutoui* et *Chiroptera sp1* sont des espèces cryptiques ; H3 : *Chiroptera sp1* est une nouvelle espèce encore non décrite.

Méthode

La méthodologie mise en place dans le cadre de cette étude vise à analyser quatre types de sons issus de trois techniques différentes. La première méthode d'enregistrement consistait à réaliser des points d'écoute de 40 minutes en écoute active (à l'aide d'un Pettersson D1000X ou du logiciel SoundChaser couplé à un micro Dodotronic Ultramic250K) pour obtenir des sons de *Chiroptera sp1* identifiés selon la clé d'identification de Barataud et Giosa, 2013 (1). Les autres signaux n'appartenant pas au type acoustique *Chiroptera sp1* étaient également enregistrés pour la suite de l'analyse et ont été identifiés comme « signaux inconnus » (2). La seconde méthode consistait à capturer au filet *M. francoismoutoui*, à relever la biométrie des individus, puis à les équiper d'une capsule chimioluminescente, pour les suivre lors du relâcher et enregistrer leurs signaux acoustiques (3). Une troisième méthode a été mise en place pour enregistrer avec certitude les signaux acoustiques de *T. mauritanus*. Cette dernière consistait à identifier un gîte fréquenté spécifiquement par *T. mauritanus* et à enregistrer les individus lors de la sortie de leur gîte à la nuit tombée (4). Ces méthodes nous permettent d'obtenir une correspondance certaine de *M. francoismoutoui* et *T. mauritanus* avec leurs registres acoustiques respectifs.

L'ensemble des sons (1, 2, 3 et 4) a permis d'isoler 11 114 signaux sur lesquels ont été mesurées automatiquement plusieurs caractéristiques acoustiques : la Fréquence Maximale d'Énergie (FME), la Largeur de Bande (LB), la Fréquence Initiale (FI), la Fréquence Terminale (FT) et la durée du signal. Seules les caractéristiques acoustiques des sons de *Chiroptera sp1* (1) ont été mesurées manuellement sur le logiciel Batsound 4. Des analyses multivariées suivies de tests de moyennes (tests de Student ou de Wilcoxon) et d'une analyse de *clustering* (partitionnement de données) ont ensuite été effectuées sur les caractéristiques acoustiques mesurées pour valider ou infirmer les hypothèses énoncées ci-dessus. Préalablement à l'analyse de *clustering* une analyse par Variance Inflation Factor (VIF) a permis d'éliminer les variables colinéaires supérieures au seuil arbitraire de 3, employé communément dans la littérature. Un modèle de mélange gaussien avec un paramétrage variable entre 2 et 3 clusters a été utilisé pour l'analyse de *clustering*. L'isolement, les mesures automatiques et les analyses sur les signaux ont été réalisés grâce à des scripts codés en langage R (version 3.6.3 – 29-02-2020).

Résultats

1^{ère} hypothèse

L'Analyse en Composante Principale (ACP) sur les caractéristiques acoustiques mesurées permet de mettre en évidence 3 ellipses avec des orientations différentes qui regroupent chacune 80 % des données de chaque classe (Figure 1A). Les signaux de *M. francoismoutoui* sont séparés à plus de 80% des signaux de *Chiroptera sp1*. Cependant un recouvrement entre l'ellipse du *T. mauritanus* et *Chiroptera sp1* est visible. L'utilisation de signaux inconnus dans l'ACP permet de mettre en évidence que les registres acoustiques de certaines espèces ne sont pas identifiés dans l'analyse. La projection du sexe des individus de *M. francoismoutoui* sur l'ACP (Figure 1B) ne met en évidence aucune discrimination acoustique entre les mâles et les femelles et aucun des deux genres ne se rapproche plus de l'ellipse de *Chiroptera sp1* dans le repère de l'ACP.

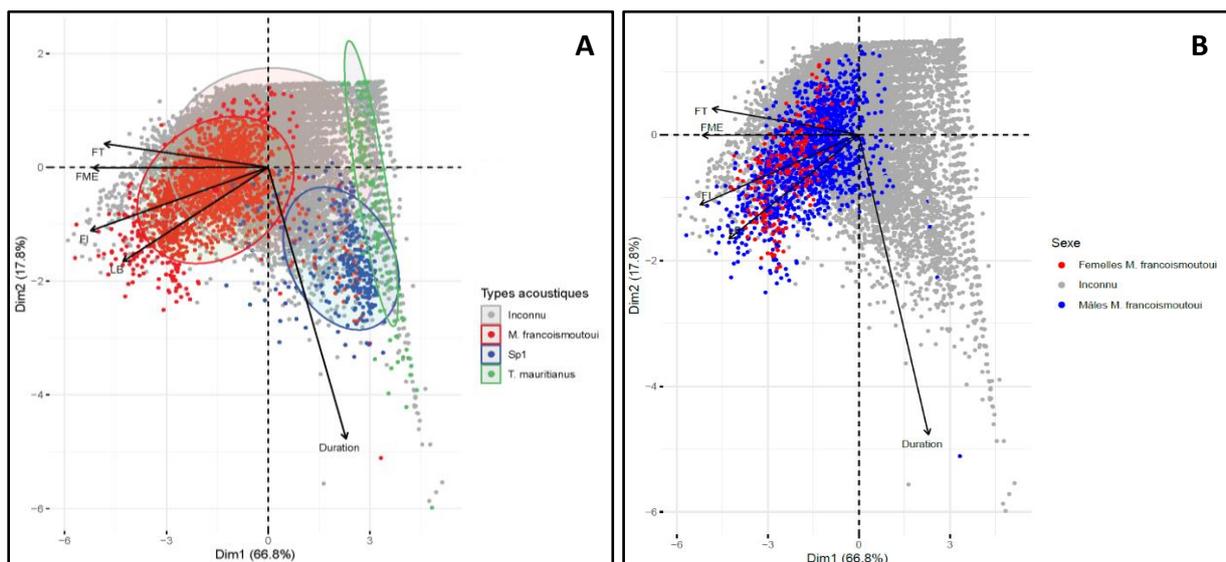


Figure 1 : ACP en fonction des différents critères acoustiques mesurés sur les signaux avec l'ensemble des différents sons analysés (1, 2, 3 et 4). Les signaux ont été identifiés soit selon l'espèce et le type acoustique auquel ils appartiennent (A) soit par le sexe des individus de *M. francoismoutoui* (B). Les ellipses représentent 80% des données de la classe.

La mise en place de l'analyse de *clustering* a nécessité l'élimination des variables colinéaires FT et FI suite à l'analyse VIF. Le modèle de *clustering* a séparé les données en 3 clusters distincts. Les résultats présentés en Figure 2 montrent l'isolation de 97% des signaux de *M. francoismoutoui* dans le cluster n°2, cependant 9% des signaux de *Chiroptera sp1* appartiennent au même cluster et ne sont donc pas discriminables de *M. francoismoutoui*. De la même manière, 91% des sons de *Chiroptera sp1* appartiennent au cluster n°3, cependant 3% des sons de *M. francoismoutoui* appartiennent à ce même cluster et ne sont donc pas discriminables de *Chiroptera sp1*. Pour finir 59% des signaux de *T. mauritanus* sont discriminés de *M. francoismoutoui* et *Chiroptera sp1*, mais 41% ne le sont pas du fait de leur appartenance au cluster n°3.

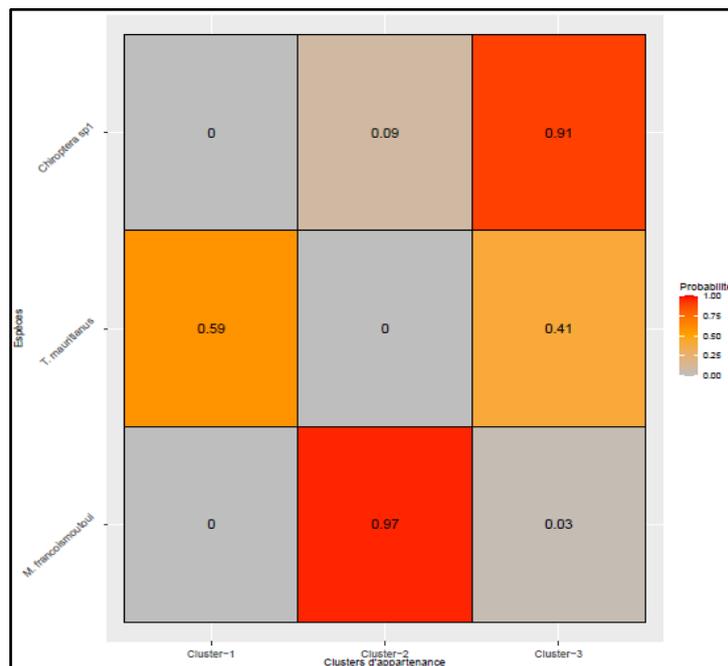


Figure 2 : Résultat de l'analyse de clustering sous un format matriciel. Les couleurs représentent le taux d'appartenance des différentes espèces aux clusters.

La comparaison des moyennes des différentes caractéristiques acoustiques permet de mettre en évidence des différences significatives entre les deux espèces connues et le type acoustique *Chiroptera sp1* (Figure 3).

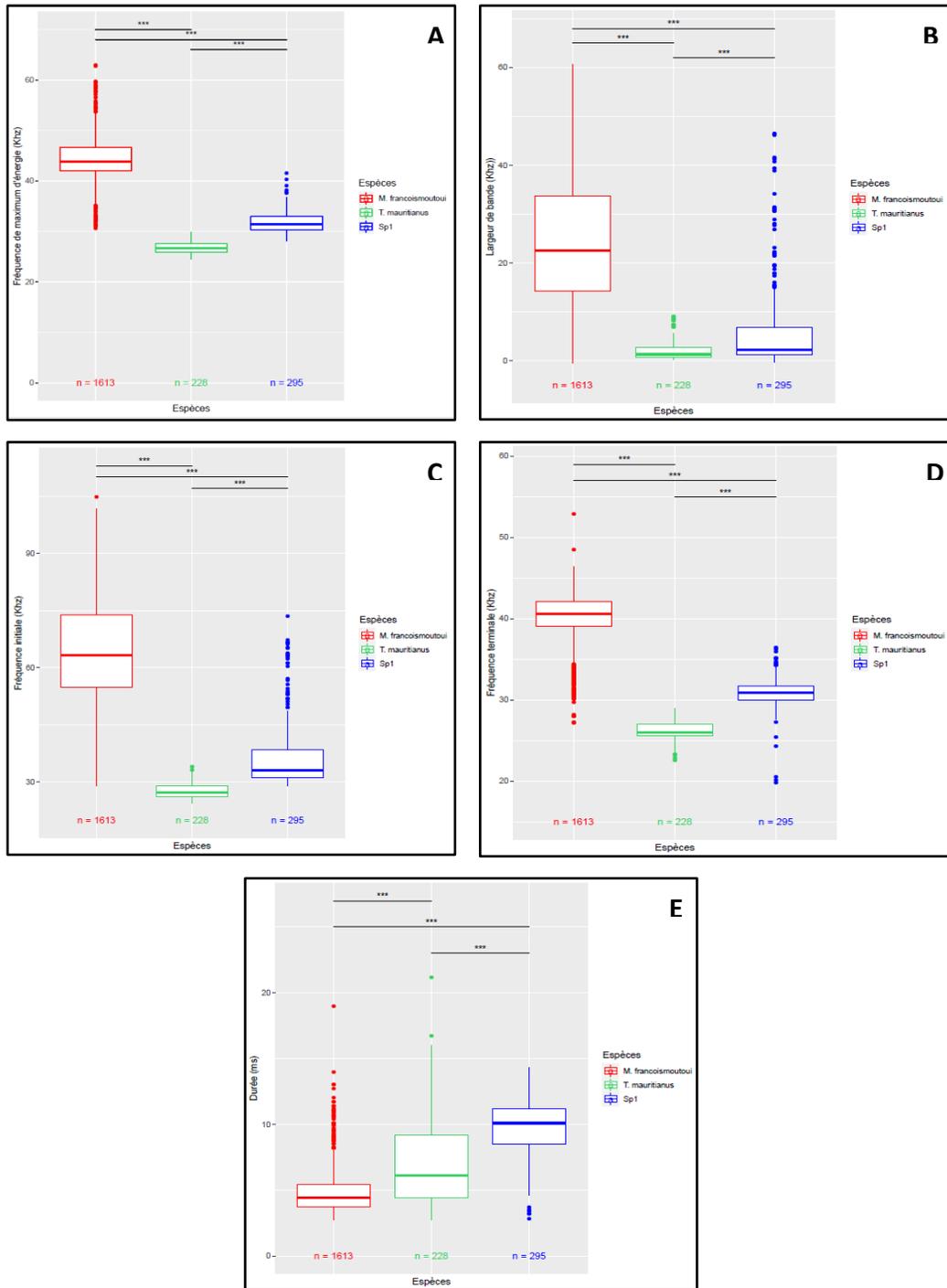


Figure 3 : Comparaison des moyennes de la fréquence maximale d'énergie (A), de la largeur de bande (B), de la fréquence initiale (C), de la fréquence terminale (D) et de la durée (E) entre *M. francoismoutoui*, *T. mauritanus* et *Chiroptera sp1*.

2^{ème} hypothèse

L'analyse s'attache à projeter les variables biométriques (poids (g) ou charge alaire (kg/m²)) sur l'ACP réalisée précédemment (Figure 4). Celles-ci ne permettent pas de mettre en évidence une discrimination acoustique des individus ayant des caractéristiques morphologiques similaires.

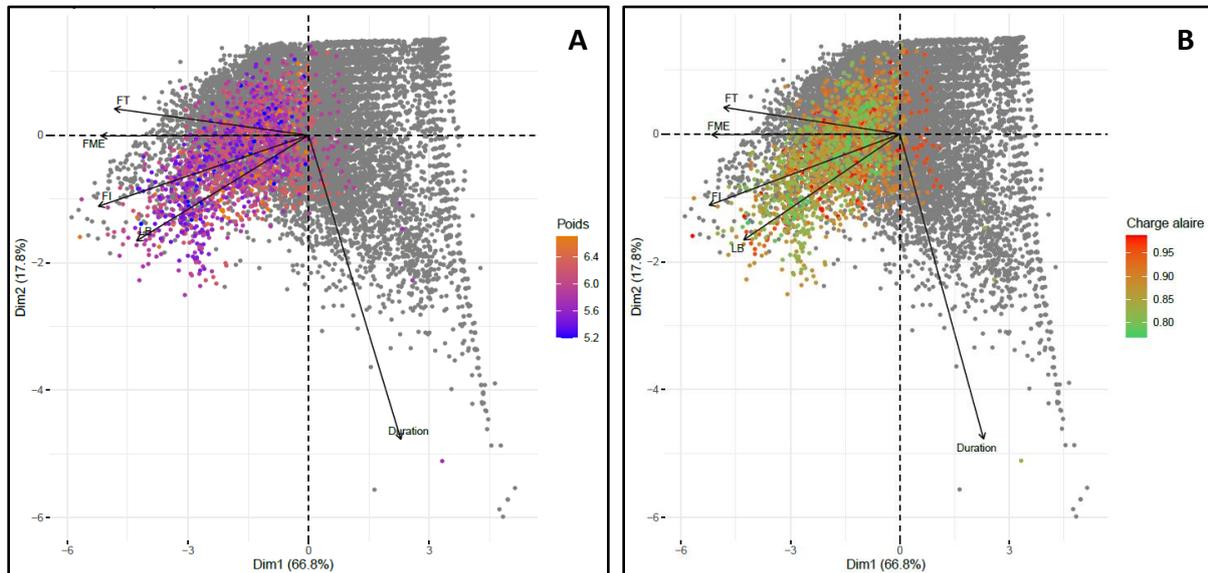


Figure 4 : ACP en fonction des différents critères acoustiques mesurés sur les signaux avec l'ensemble des différents sons analysés (1, 2, 3 et 4). Les signaux ont été identifiés selon le poids des individus (A) ou la charge alaire (B).

3^{ème} hypothèse

Afin de valider la dernière hypothèse, il est nécessaire de continuer les points d'écoute pour cibler des zones favorables à la capture et maintenir l'effort de capture dans ces zones. L'objectif est de capturer les individus à l'origine du type acoustique *Chiroptera sp1* pour les identifier sans ambiguïté. Des captures associées au même moment à de l'écoute active sont également réalisées afin d'enregistrer les signaux *Chiroptera sp1* avant une potentielle capture de l'individu. Cette technique permettrait d'avoir une correspondance indéniable entre le type acoustique inconnu et l'identification de l'individu capturé, afin d'infirmer ou valider cette dernière hypothèse.

Discussion

1^{ère} hypothèse

Au vu des différents résultats, l'hypothèse H1 semble pouvoir être réfutée pour *M. francoismoutoui* et *T. mauritanus*. Le recouvrement entre l'ellipse de *Chiroptera sp1* et de *T. mauritanus* pourrait laisser un doute persister (Figure 1A), mais la structure de leurs signaux est très différente pour qu'ils appartiennent à la même espèce (Barataud et Giosa, 2013). Cette différence de structure est bien visible lors de la comparaison des signaux de chasse utilisés par *Chiroptera sp1* et ceux utilisés par *T. mauritanus*. Ce dernier répartit l'énergie de ses signaux sur plusieurs harmoniques alors que *Chiroptera sp1* ne produit aucun harmonique en phase de chasse. Cette notion d'harmonique n'étant pas prise en compte par une variable de l'ACP, les

ellipses de *T. mauritanus* et de *Chiroptera sp1* restent insuffisamment discriminées. L'ambiguïté est plus importante entre *Chiroptera sp 1* et *M. francoismoutoui* qui ont des structures de signaux plus similaires. Cependant les ellipses présentées en Figure 1A sont suffisamment séparées dans l'espace et orientées dans des sens différents pour laisser penser que *M. francoismoutoui* est une espèce différente de *Chiroptera sp1* (Prié *et al.*, 2016). Notons cependant que les signaux de *M. francoismoutoui* enregistrés étaient majoritairement constitués de signaux FM (Fréquence Modulée) alors que l'espèce est en capacité de réaliser de la QFC (Quasi-Fréquence constante). Ceci est certainement lié au stress de la capture préalable au relâché. L'intégration de signaux QFC dans l'ACP pourrait entraîner l'élargissement de l'ellipse de *M. francoismoutoui* vers des signaux plus longs et une FME plus faible. Si c'était le cas, un chevauchement avec l'ellipse de *Chiroptera sp1* pourrait être observé. L'absence de discrimination acoustique entre les mâles et les femelles de *M. francoismoutoui*, ainsi que la faible proximité de l'un des sexes avec l'ellipse *Chiroptera sp1* (Figure 1B), permet de supposer qu'aucun des deux sexes ne semble être à l'origine du type acoustique *Chiroptera sp1* et renforce le rejet de l'hypothèse H1.

L'analyse de *clustering* met en évidence des résultats similaires à ceux de l'ACP. Le modèle met en évidence que l'ensemble des signaux peuvent être divisées en 3 clusters, laissant penser qu'ils appartiennent à trois espèces différentes (Figure 2). Le chevauchement entre les ellipses du *T. mauritanus* et de *Chiroptera sp1* (Figure 1A) est à nouveau visible au travers de l'appartenance de ces deux espèces au cluster 3 (Figure 2). La discrimination plus importante sur l'ACP entre *M. francoismoutoui* et *Chiroptera sp1* (Figure 1A) est visible sur l'analyse de *clustering* car ces deux espèces ont leurs signaux en majorité regroupés dans deux clusters distincts, respectivement le cluster n°2 et n°3.

Pour finir la significativité des moyennes des différentes caractéristiques acoustiques entre les deux espèces connues et *Chiroptera sp1* (Figure 3) permet de conforter la réfutation de l'hypothèse H1 et de mettre en évidence que le type acoustique *Chiroptera sp1* est suffisamment différent des deux autres espèces pour appartenir à une espèce encore non décrite sur l'île de La Réunion.

2^{ème} et 3^{ème} hypothèse

Les résultats pour valider ou infirmer l'hypothèse H2 ne se basent que sur deux critères morphologiques de *M. francoismoutoui* et pourraient ne pas suffire pour le discriminer de *Chiroptera sp1* si ces deux espèces sont cryptiques. Au regard de ces résultats, la répartition aléatoire des individus dans l'espace de l'ACP en fonction de leur poids (Figure 4A) ou de leur charge alaire (Figure 4B) semble infirmer l'hypothèse H2. De la même manière que pour l'hypothèse H3, la nécessité de capturer un individu à l'origine de ce type acoustique inconnu est indispensable pour valider ou infirmer définitivement ces deux hypothèses.

Conclusion

Les résultats préliminaires de cette étude ont permis de tester les hypothèses H1, H2 et H3 énoncées, avec des techniques d'analyse statistique communes, mais jamais appliquées à ce groupement d'espèces. Les résultats laissent penser que le type acoustique *Chiroptera sp1* semble appartenir à une espèce différente de *M. francoismoutoui* ou *T. mauritanus*, mais des analyses complémentaires sont encore nécessaires. Parmi celles-ci, il serait intéressant de tester

la discrimination des signaux en tenant compte de leur forme (Rocha et Romano, 2021). Ceci permettrait notamment de prendre en considération l'émission d'harmonique chez *T. mauritanus* et donc de le discriminer statistiquement de *Chiroptera sp1*. Cependant pour affirmer que *Chiroptera sp1* est une nouvelle espèce réunionnaise, il sera indispensable de capturer un individu pour pouvoir décrire l'espèce et mettre en place une étude de *tracking* pour en apprendre plus sur son écologie afin de pouvoir définir des mesures de conservation adaptées.

Remerciements : Nous remercions Marie TAUREL pour sa participation au projet au travers de son stage de Master 2 et notamment la production du script d'automatisation de la relève des paramètres acoustiques.

Bibliographie

Augros, S. (2017). Update on the distribution of “Chiroptera sp1” in the southern and eastern parts of La Réunion Island based on acoustic surveys. *African Bat Conservation News*, 45, 5-9.

Barataud, M. et Giosa, S. (2013). Identification et écologie acoustique des chiroptères de La Réunion / Michel Barataud et Sylvie Giosa. *Identification et écologie acoustique des chiroptères de La Réunion / Michel Barataud et Sylvie Giosa*. <https://mediatheque.ville-bourges.fr/NUMERIQUE/doc/SYRACUSE/2034680/identification-et-ecologie-acoustique-des-chiropteres-de-la-reunion-michel-barataud-et-sylvie-giosa>

Monnier, G. et Fourasté, S. (2018). *Etude sur l'identification de micro-chiroptères jusqu'alors non décrits à La Réunion* (MAPA PNRun n°2017/PNR/010) [Rapport de mission]. Groupe Chiroptères Océan Indien.

Prié, V., Augros, S., Amirault, G., Bas, Y., Desmet, J.-F., Favre, P., Giosa, S., Hoarau, C., Souquet, M., Vinet, O. et Barataud, M. (2016). *Actualisation des critères acoustiques et synthèse des données concernant le présumé Scotophilus sp. à La Réunion (Mascareignes, France)*, (6). www.le-vespere.org

Rocha, P. C. et Romano, P. S. R. (2021). The shape of sound: A new R package that crosses the bridge between Bioacoustics and Geometric Morphometrics. *Methods in Ecology and Evolution*, 12(6), 1115-1121. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13580>

Zamora-Gutierrez, V., MacSwiney G., M. C., Martínez Balvanera, S. et Robredo Esquivelzeta, E. (2021). The Evolution of Acoustic Methods for the Study of Bats. Dans B. K. Lim, M. B. Fenton, R. M. Brigham, S. Mistry, A. Kurta, E. H. Gillam, A. Russell et J. Ortega (dir.), *50 Years of Bat Research: Foundations and New Frontiers* (p. 43-59). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-54727-1_3