

Coexistence de deux espèces cryptiques de chauves-souris en Guyane française : apprentissages à partir de la génétique, de l'acoustique et de l'écologie

Par **Ondine FILIPPI-CODACCIONI**^{1,2,3} (ondine.filippi@universite-lyon.fr),
Marie-Pauline BEUGIN^{1,2,4}, **Damien M. DE VIENNE**^{1,2},
Elodie PORTANIER^{1,5,6}, **David FOUCHET**^{1,2}, **Cécile KAERLE**⁴,
Lina MUSELET⁴, **Guillaume QUENEY**⁴, **Eric J. PETIT**⁷, **Corinne REGIS**^{1,2},
Jean-Baptiste PONS^{1,2}, **Dominique PONTIER**^{1,2}

Résumé

Dans le but de rechercher quels mécanismes facilitent la coexistence des espèces cryptiques, nous avons estimé les divergences génétiques, acoustiques, morphologiques et écologiques entre deux chauves-souris néotropicales du lignage *Pteronotus parnellii*. La distinction entre lignages a été faite antérieurement dans d'autres études à partir de la génétique, la morphologie et l'acoustique, dans le but de séparer ces deux espèces qui vivent dans les mêmes cavités en Guyane française ; mais soit la taille d'échantillon était trop faible quand les données génétiques et morphologiques étaient disponibles en même temps sur les mêmes individus, soit les données diverses étaient collectées sur des individus différents.

La présente étude a pour objectif premier de combiner toutes les approches dans le but de valider les divergences



génétiques, morphologiques et acoustiques entre deux espèces distinctes, et secondairement de rechercher des phénomènes d'hybridation entre ces espèces, de même que les processus phénologiques et écologiques qui pourraient expliquer l'hybridation. Pour cela, grâce à une étude menée en Guyane française de 2010 à 2015, nous avons utilisé à la fois de l'ADN mitochondrial et nucléaire (20 microsatellites), des enregistrements acoustiques, et les mesures externes de 748 individus. Nos résultats ont confirmé les précédentes découvertes sur l'existence de deux espèces séparées de *Pteronotus parnellii* en Guyane française et suggèrent que les cavités n'ont pas d'effet sur la structure génétique de leurs populations. Le taux très faible d'hybridation trouvé pourrait être expliqué à la fois par les différences de phénologie de cycle de vie entre espèces, et des distinctions acoustiques et morphologiques entre sexes pour l'une et l'autre espèce. Finalement, en combinant génétique, acoustique, morphologie et écologie, nous avons observé des différences qui pourraient correspondre à des stratégies de coexistence.



Figure 1.
Pteronotus alitonus ou *rubiginosus*

Introduction

Une grande part de la diversité naturelle est morphologiquement cachée [1]. La détection des espèces cryptiques, espèces génétiquement divergentes classées antérieurement comme une seule et même espèce du fait de leur similarité morphologique [1, 2], a augmenté chez tous les groupes taxonomiques terrestres et aquatiques et dans différentes régions biogéographiques [2, 3], grâce à l'utilisation d'approches de séquençage d'ADN à large échelle comme le barcoding [4, 5]. La découverte de cette diversité cryptique a eu de profondes implications, à la fois sur la théorie de l'évolution et sur les décisions futures de conservation (voir [6–8] pour un exemple sur les chauves-souris), spécialement dans les écosystèmes en danger pour lesquels la biodiversité a été vraisemblablement sous-estimée. Les espèces morphologiquement similaires peuvent en effet varier dans leur distribution géographique ainsi que dans leurs besoins écologiques ; en conséquence, au sein d'un complexe d'espèces cryptiques, le statut de conservation peut différer d'un taxon à l'autre (voir [9] pour un exemple chez l'Entelle des Indes *Semnopithecus entellus*).

Même si ces espèces peuvent être facilement identifiées grâce à leurs différences d'ADN mitochondrial (ADNmt), l'isolement reproductif fait l'objet de peu de recherche.

Il y a en effet une hypothèse implicite, selon laquelle la divergence moléculaire génétique au sein de ces espèces cryptiques peut être prise comme un substitut de l'isolement reproductif [10–14]. Alors que des différences substantielles d'ADNmt au sein d'un taxon en apparence homogène, sont capables de révéler des espèces cryptiques, cela ne permet pas de

conclure forcément à l'existence d'espèces distinctes (voir [15] pour une illustration du danger d'utiliser seulement une quantité limitée d'ADN pour conclure sur l'histoire évolutive). Cela peut au contraire donner un regard sur le passé évolutif d'animaux ayant divergé, mais constituant maintenant une population d'individus qui se reproduisent quand même les uns avec les autres. Pour confirmer leur isolement reproductif, il est nécessaire d'utiliser des marqueurs nucléaires qui, contrairement à l'ADN mitochondrial, sont hérités des deux parents. Cela permet de répondre à la question de savoir si ces espèces cryptiques se reproduisent entre elles ou non.

Une autre question importante, en relation avec la précédente, est de comprendre comment de véritables espèces cryptiques peuvent maintenir leur cohésion spécifique dans les zones de sympatrie. Des mécanismes subtils d'isolement, comme des systèmes de reconnaissance écologique [16–19], peuvent avoir évolué, permettant la coexistence d'espèces cryptiques vivant en sympatrie. En exemple, on peut citer *Drosophila paulistorum* pour laquelle les semi-espèces sont morphologiquement différentes mais ont différents modes de chants de parade [20].

Les espèces cryptiques sont assez communes chez les chauves-souris utilisant l'écholocation [21]. Une des premières découvertes majeures porte sur la Pipistrelle commune (*Pipistrellus pipistrellus*) - l'une des chauves-souris européennes les plus répandues - qui cache en son sein deux espèces cryptiques [22], *P. pipistrellus* et *P. pygmaeus* (Pipistrelle pygmée). Bien qu'elles soient assez similaires morphologiquement, des divergences écologiques marquées ont été mises en évidence [23]. La chauve-souris néotropicale *Pteronotus parnellii*

(famille Mormoopidae, sous-genre *Phyllodia*) représente également un exemple remarquable de diversité cachée. A l'heure actuelle, neuf espèces cryptiques réparties en Amérique centrale et sur les Caraïbes ont été reconnues au sein du complexe *P. parnellii* [24–27]. Les analyses phylogénétiques des génomes mitochondriaux suggèrent qu'une séparation s'est produite dans leurs lignages maternels il y a 1,1 à 2,8 millions d'années, alors que le complexe entier aurait partagé un ancêtre commun il y a 2,5 à 6,1 millions d'années [24].

En Guyane française, la présence de deux groupes sympatriques, nommés *Pteronotus* sp3 et sp4 (*sensu* [24, 27], **Figure 1**), a été proposée en utilisant plusieurs outils : génétiques (marqueurs moléculaires mitochondriaux comme la cytochrome oxydase 1 (CO1), le Cytochrome b (Cyt b), ou les gènes Dby liés au chromosome Y [24, 25, 28]), morphologiques [24, 28], et bioacoustiques [28, 29]. Récemment ces deux groupes ont été diagnostiqués comme deux espèces distinctes : *P. rubiginosus*, correspondant à *P. sp4*, alors que *P. sp3* était nommé *P. alitonus* [27]. Cependant ces études étaient limitées, soit par le faible nombre d'échantillons lorsque les données génétiques, morphologiques et acoustiques étaient disponibles pour les mêmes individus, soit parce que ces données diverses étaient collectées sur des individus différents. Les études morphologiques n'ont pas permis de mettre en évidence des caractères diagnostiques pour distinguer les deux constituants de ce complexe, mais des différences existent dans leurs fréquences d'écholocation [28, 29] : *P. rubiginosus* utilise une fréquence autour de 53 kHz alors que *P. alitonus* est autour de 59 kHz. Nous n'en savons toujours que très peu sur ces groupes nouvellement découverts en

termes d'écologie : préférence d'habitat, régime alimentaire, emplacement des colonies, systèmes de reproduction, structure de population et interfécondité ; ainsi, l'information sur ces nouvelles espèces est encore de nos jours très lacunaire.

Dans cette étude, nous avons fait des recherches sur des colonies de *Pteronotus* sp. dans quatre cavités en Guyane française pendant la période de 2010 à 2015. Nous avons combiné différentes approches dans le but de rechercher des divergences génétiques, morphologiques et acoustiques entre les deux groupes. Pour la première fois nous avons testé si les groupes identifiés dans les colonies se reproduisaient entre eux en utilisant des marqueurs microsatellites autosomaux, et avons recherché d'éventuels hybrides dans les populations échantillonnées. Finalement, nous avons exploré la structure

génétique spatiale de *Pteronotus* sp., notamment le fait que les cavités puissent avoir un effet sur cette structure génétique populationnelle.

Pour les études sur l'ADN, nous avons utilisé le CO1 mitochondrial et développé un panel de 20 microsatellites spécifiques dans un multiplex en utilisant la technique du pyroséquençage 454.

Le but de l'étude est de faire des comparaisons exhaustives qui révéleraient les relations entre les deux groupes, et de comprendre leur histoire microévolutive - ce qui pourrait inclure des patrons d'hybridation et d'introggression.

Méthodes

Aire d'étude et capture

Les *Pteronotus* ont été échantillonnés sur quatre cavités dans la forêt tropicale humide de Guyane française (**Figure 2**) : Mathilde (MA), Scierie (SC), Parfums (PA) et Montagne des gouffres (MG), sur quatre sessions (fin août/septembre 2010, juillet 2011, juillet 2012, octobre 2015, à l'exception de MG qui a seulement été échantillonnée en octobre 2015). Les distances entre cavités varient de 12 à 15 km entre MA et SC et 80 km entre MA, SC et PA. MG est distante de 55 km de PA et 25 km de SC et MA.

Les chauves-souris ont été capturées en sortie de gîtes grâce à un harp-trap « deux banks » (AUSTBAT Research Equipment, Victoria, Australia) dont la surface de capture est de 4 m². Elles ont été gardées en pochons individuels jusqu'à manipulation. Nous avons sexé puis estimé le statut reproducteur de chaque chauve-souris à partir de caractéristiques phénotypiques (développement des mamelles et des testicules). Les adultes ont été différenciés des juvéniles en regardant l'épiphyse

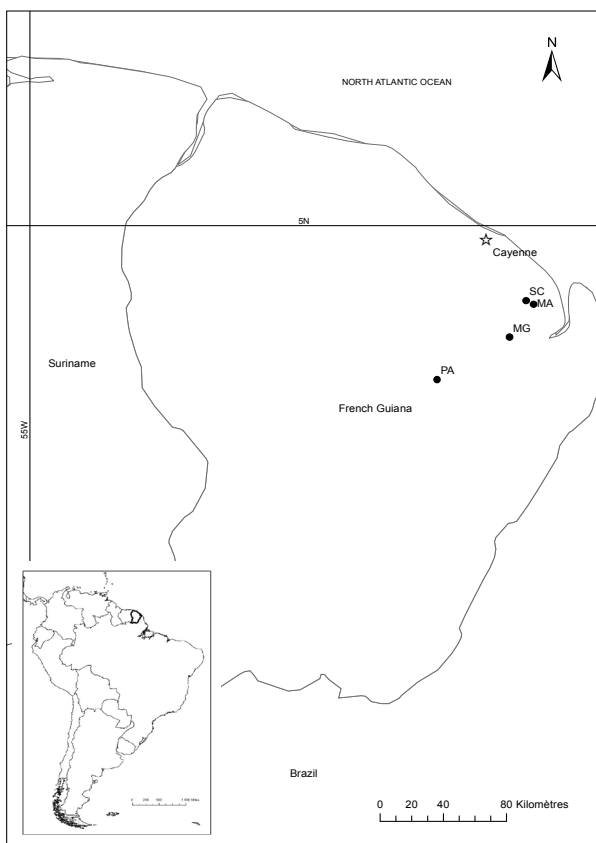


Figure 2. Localisation des 4 cavités échantillonnées en Guyane française.

cartilagineuse des phalanges [30]. Les adultes étaient classés soit mâles inactifs ou actifs, soit femelles inactives, gestantes ou allaitantes. L'avant-bras a été mesuré avec un pied à coulisse de précision (à 0,05 mm près) et la masse prise avec une balance électronique (précision de 0,1 g). Les échantillons de tissu ont été collectés sur le patagium en utilisant un punch à biopsie de 3 mm de diamètre (Kai 354 Industries, Gifu, Japan) et préservé dans une solution avec 70 % d'éthanol jusqu'à extraction de l'ADN. Les chauves-souris étaient relâchées après les prélèvements.

Analyse moléculaire

Identification des microsatellites via un séquençage haut débit

Dix individus ont été choisis au hasard pour construire un pool d'ADN. Ce pool a été utilisé pour concevoir les marqueurs microsatellites en se basant sur la méthode GS-FLX® [31]. Trente marqueurs microsatellites ont été choisis parmi le

panel de 3487 marqueurs identifiés. Pour plus de détails sur la méthodologie, voir [32].

Séquençage et génotypage

Sur les 1349 *Pteronotus* capturés, 748 ont été génotypés sur 20 marqueurs microsatellites. Pour plus de détails sur la méthodologie voir [32].

Identification des espèces et détection d'hybridation

Dans le but d'attribuer chaque individu à une espèce, nous avons construit un arbre phylogénétique basé sur les séquences de CO1 de 80 individus, et ajouté 28 échantillons provenant d'études précédentes [24, 25, 27], pour lesquels les séquences de CO1 ont été tirées de Genbank. *Pteronotus gymnonotus* et *P. personatus* ont été utilisés comme groupes extérieurs.

L'identification de tous les individus a aussi été réalisée en utilisant les microsatellites développés spécifiquement pour *Pteronotus*, en utilisant le logiciel bayésien



Figure 3.

Harp-trap « deux banks » positionné en sortie de cavité naturelle, en forêt.

STRUCTURE 2.3.4 [33, 34], ce procédé permettant également la détection des hybrides. Pour ce dernier objectif, nous nous avons aussi utilisé le logiciel NEWHYBRIDS 1.1 [35].

Variabilité génétique de *Pteronotus* sp.

La richesse allélique et les estimateurs de F_{st} de Weir and Cockerham's pour chaque espèce ont été estimés en utilisant FSTAT 2.9.3.2 [36]. Dans le but de tester le rôle des cavités dans la structuration des populations de chauves-souris, les F_{st} entre paire de cavités ont également été calculés.

Finalement, le biais de dispersion spécifique au sexe a été testé à partir de l'analyse des F_{st} (une plus faible différenciation génétique entre colonies est attendue pour le sexe qui disperse le plus) [37]. Un millier de randomisations a été fait pour chaque espèce, ainsi que des tests unilatéraux plaçant le mâle ou la

femelle comme sexe dispersant.

Morphologie

Seuls les adultes ont été pris en compte. Une ANOVA a été appliquée sur les données afin de déterminer s'il y a des différences de longueur d'avant-bras (AB) entre sexes et entre espèces. Parce que le dimorphisme sexuel peut être différent entre espèces [24, 27], nous avons testé l'effet du sexe en comparant les modèles Sex*Group et Group à l'aide d'un test de Fisher (le groupe représente l'espèce). Rejeter l'hypothèse nulle révélerait la présence d'un dimorphisme sexuel dans au moins une espèce. Dans ce cas, des tests t post-hoc comparant mâles et femelles ont été appliqués pour chaque groupe indépendamment, et l'hypothèse que le dimorphisme sexuel soit identique d'une espèce à l'autre a été testée en comparant les modèles Sex*Group et Sex+Group. La masse corporelle des individus n'a pas été analysée, à cause de la grande



© Ecofact 2018-5

Figure 4.

Poste de travail sous moustiquaire, en forêt, à proximité des cavités.

variabilité due au moment de capture (avant ou après alimentation en chasse), et à la période (état de gestation).

Les analyses statistiques ont été faites avec R version 3.3.3, et le seuil de la signification statistique a été fixé à 5 %.

Fréquence d'écholocalisation

Les cris d'écholocalisation ont été enregistrés en 2015 sur 262 *Pteronotus* tenus en main ; cette méthode est la seule façon d'obtenir les fréquences propres des individus, non décalées par leur vitesse de vol, les taxons étudiés utilisant des signaux sonar de structure « FM ascendante - FC - FM descendante » (Figure 7) correspondant à la technologie sonar de détection des mouvements grâce à l'effet Doppler [38] ; les individus étaient positionnés à 30 cm du microphone d'un détecteur d'ultrasons Pettersson D240X (Pettersson Elektronik AB, Uppsala, Sweden). Les signaux en expansion de temps x 10 étaient collectés grâce à un enregistreur ZoomH2 (Zoom Corporation, Japan) dont la fréquence d'échantillonnage est de 44,1 kHz, puis analysés avec le logiciel BatSound Pro 3.4 (Pettersson Elektronik AB, Uppsala, Suède) à partir des spectrogrammes (Hanning window, fenêtre FFT 512 points). Deux à cinq cris ont été analysés par chauve-souris ; la fréquence du maximum d'énergie de la partie fréquence constante (FME-FC) a été mesurée grâce à une densité spectrale sur l'harmonique contenant le plus d'énergie [27]. Parmi les individus génotypés une ANOVA été appliquée afin d'évaluer les différences de FME-FC entre groupes et sexes. La procédure statistique décrite plus haut pour la longueur d'avant-bras a été suivie pour les valeurs de FME-FC ; cinq points hors-norme ont été identifiés dans le groupe A pour les mâles (valeurs très basses comparées au reste de

l'échantillon) et ont été enlevés du jeu de données pour l'analyse.

Périodes de reproduction

Dans le but d'appréhender les périodes de reproduction des deux groupes de *Pteronotus*, nous avons analysé le statut de reproduction de chaque individu et leur âge (juvénile versus adulte) pendant la période de relevés.

Résultats

Analyse moléculaire

Identification des espèces

La reconstruction phylogénétique (Figure 5) a montré que les 80 individus de *Pteronotus* échantillonnés dans cette étude forment deux groupes bien distincts correspondant à *P. alitonus* (nommé ici *Pteronotus* B) et *P. rubiginosus* (nommé ici *Pteronotus* A), précédemment mis en évidence par [24, 27, 28].

La divergence des séquences était très faible au sein de chaque groupe A et B (respectivement 0,15 % et 0,77 % en moyenne) mais beaucoup plus grande entre groupes (5,72 %).

Analyse génétique nucléaire

Nous avons construit un multiplex de 20 microsatellites qui ont été amplifiés avec succès pour 748 échantillons de chauves-souris avec un taux d'amplification moyen de 98,7 %. Tous les marqueurs étaient polymorphes, avec un nombre d'allèles allant de 2 à 17.

L'analyse STRUCTURE sur les 20 microsatellites a également permis de détecter deux groupes nettement différenciés. Parmi les 748 individus génotypés, 325 appartenaient à *Pteronotus* A (*P. rubiginosus*) et 423 à *Pteronotus* B

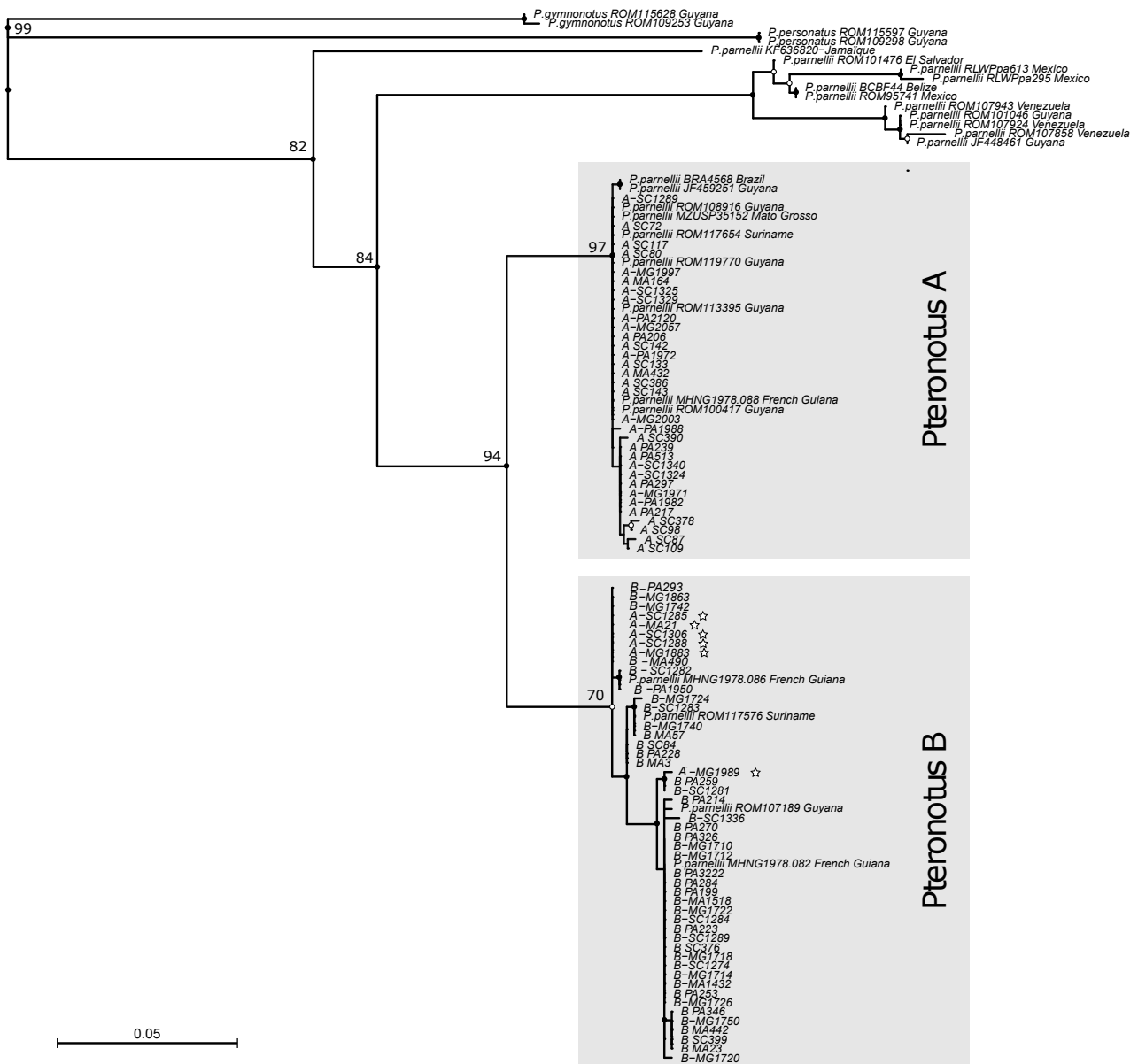


Figure 5. Relations phylogénétiques parmi les 26 séquences de COI de *Pteronotus* extérieures à l'étude, et 80 séquences de COI provenant de notre étude. Les étoiles représentent les hybrides (n=6 identifiés comme *Pteronotus* A à partir de l'ADN nucléaire alors qu'ils comportent de l'ADN mitochondrial de B). Dans le nom des échantillons, les lettres A ou B font référence à l'assignation nucléaire des individus à une espèce ou à une autre, alors que les carrés gris clair font référence à l'assignation via l'ADN mitochondrial.

(*P. alitonus*) (voir **Tableau 1**). La diversité allélique des 20 microsatellites était comparable pour chaque groupe, mais non identique. Les deux groupes étaient présents dans chacune des quatre cavités échantillonnées. Les deux espèces de *Pteronotus* étaient significativement différenciées par un F_{st} de 0,139 [0,104–0,171] 95 %. Les mâles de *Pteronotus* A montraient une différenciation génétique (F_{st} globale

0,002, $p = 0,007$) et de structure entre cavités (seulement significative entre PA et SC). De plus, aucun biais sexuel de dispersion n'a été trouvé ($p > 0,05$).

Détection des hybrides

La procédure de simulation basée sur l'ADN nucléaire nous a permis de trouver un hybride potentiel, 10 individus avec un statut indéfini grâce à l'approche dite « conservatrice », et 30 hybrides potentiels

Tableau 1.

Nombre de *Pteronotus* A (*P. rubiginosus*) et B (*P. alitonus*) génotypés à chaque session de terrain. F : femelle ; M : mâle ; NS : non sexé ; n(A) : nombre de *Pteronotus* A ; n(B) : nombre de *Pteronotus* B ; n : nombre total de *Pteronotus*.

| Année | Mois | <i>Pteronotus</i> A (<i>P. rubiginosus</i>) | | | n (A) | <i>Pteronotus</i> B (<i>P. alitonus</i>) | | | n (B) | n |
|--------------|-----------|--|------------|----------|------------|---|------------|----------|------------|------------|
| | | F | M | NS | | F | M | NS | | |
| 2010 | août | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 | 4 | 0 | 7 | 8 |
| 2010 | septembre | 24 | 97 | 0 | 121 | 29 | 70 | 2 | 101 | 222 |
| 2011 | juillet | 7 | 63 | 0 | 70 | 26 | 37 | 0 | 63 | 133 |
| 2012 | juillet | 17 | 32 | 0 | 49 | 48 | 26 | 0 | 74 | 123 |
| 2015 | octobre | 24 | 54 | 6 | 84 | 71 | 105 | 2 | 178 | 262 |
| TOTAL | | 72 | 247 | 6 | 325 | 177 | 242 | 4 | 423 | 748 |

avec l'approche dite « relâchée ».

Aucun hybride n'a été détecté avec le logiciel NEWHYBRIDS.

Parmi les individus (n = 80) dont l'ADN mitochondrial a été séquencé, tous les 42 individus assignés à *Pteronotus* B par leur ADN nucléaire possédaient de l'ADN mitochondrial de B. Par contre, 6 individus sur les 38 assignés à *Pteronotus* A par leur ADN nucléaire ont été trouvés avec de l'ADN mitochondrial de B (voir **Figure 5**).

Morphologie

Des données morphométriques étaient disponibles uniquement pour 23 des 30 individus identifiés comme hybrides potentiels avec l'approche relâchée.

En excluant ces 23 individus, de même que les 6 hybrides identifiés à partir de l'ADN mitochondrial, *Pteronotus* A (n=166) avait une longueur d'avant-bras de 64,37 mm (95 % CI [64,13 ; 64,56]) versus 62,06 mm (95 % CI [61,90 ; 62,22]) pour *Pteronotus* B (n=300) (**Figure 6**). Cette différence entre groupes était significative même après correction de l'effet potentiellement confondant du sexe (F = 293,17, df = (1462), p < 10⁻¹⁶). La comparaison globale entre sexes a montré une longueur d'avant-bras non homogène, au moins chez un groupe

(F = 8,38, df = (2462), p = 2,7.10⁻⁴).

L'analyse post-hoc a révélé que cet effet du sexe était significativement différent entre les deux groupes (F = 5,90, df = (1462), p = 1,5.10⁻³) et se retrouvait uniquement chez le groupe B (t = 4,07, df = 298, p = 6.10⁻⁵), l'avant-bras étant plus grand chez les femelles que chez les mâles ; pour le groupe A : t = -0,38, df = 164, p = 0,73.

Echolocalisation

Parmi les 262 *Pteronotus* (73 *P. A.*, 171 *P. B.* ; 13 hybrides nucléaires potentiels identifiés avec l'approche relâchée et 5 hybrides mitochondriaux) enregistrés au microphone, 146 (parmi lesquels 15 sont des hybrides) ont eu une mesure précise de la FME-FC avec BatSound.

En excluant les 15 individus hybrides de l'analyse et les 5 valeurs atypiques du groupe A, les *Pteronotus* A (*rubiginosus*) émettaient à une fréquence située autour de 53 kHz (53,73 kHz, 95 % CI [53,51 ; 53,96]) alors que les *Pteronotus* B (*alitonus* ; n = 65) émettaient autour de 59 kHz (59,64 kHz, 95 % CI [59,49 ; 59,8]) (**Figure 2**). Cette différence entre groupes était significative même après correction de l'effet potentiellement confondant du sexe (F = 2080,8, df = (1116) p < 10⁻¹⁶).

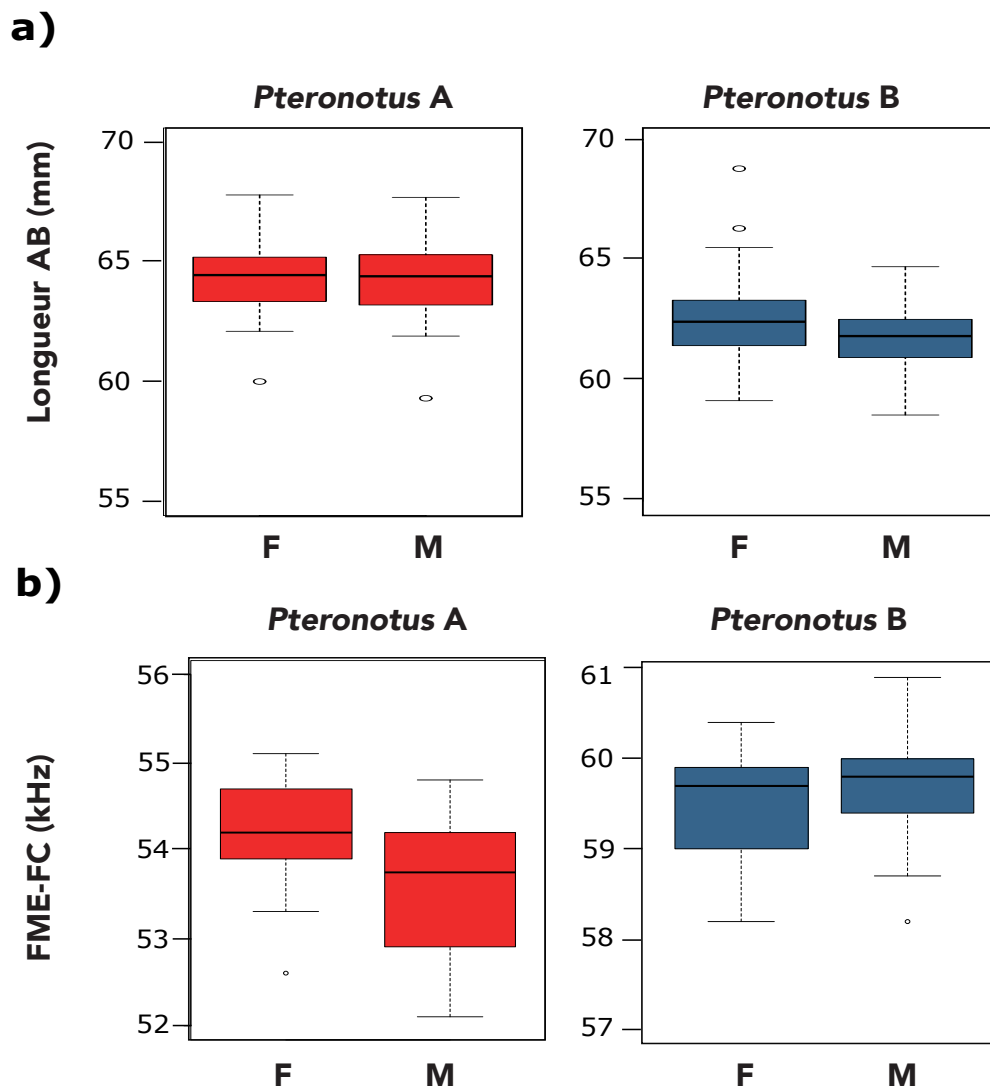


Figure 6.

Médiane, quartiles et extrêmes : a) longueur de l'avant-bras (AB) en mm ; b) fréquence d'écholocation (FME-FC, en kHz) chez les femelles (F) et chez les mâles (M) en fonction du groupe (A = *P. rubiginosus* ; B = *P. alitonus*).

La comparaison globale entre sexes a montré une différence de FME-FC dans au moins un groupe ($F = 6,32$, $df = (2116)$, $p = 2,4 \cdot 10^{-3}$). L'analyse post-hoc a révélé que cet effet du sexe était significativement différent entre les deux groupes ($F = 10,68$, $df = (1116)$, $p = 1,4 \cdot 10^{-3}$). La différence était seulement significative pour le groupe A ($t = 2,92$, $df = 53$, $p = 5,2 \cdot 10^{-3}$), les fréquences étant plus hautes chez les femelles. Pour le groupe B : $t = -1,37$, $df = 63$, $p = 0,18$.

Périodes de reproduction

Pour *Pteronotus A* (*rubiginosus*), seulement deux femelles (sur 24) étaient gestantes en juillet avec une à MA et une à PA. Une femelle (sur 24) allaitante a été trouvée en octobre. Aucun juvénile n'a été trouvé pendant les sessions de terrain. Pour *Pteronotus B* (*alitonus*), des femelles gestantes (27 sur 74) et allaitantes (15 sur 74) ont été trouvées en juillet ainsi que des post-lactantes (33 sur 103) entre fin août et octobre à MA et PA. Dix juvéniles ont été capturés en septembre à la cavité PA.

Discussion

Dans cette étude, la différenciation moléculaire, acoustique et morphologique a été analysée chez *Pteronotus* sp., dans quatre cavités de Guyane française.

En utilisant le CO1 - un marqueur mitochondrial employé couramment pour faire du barcoding d'espèces - notre reconstruction phylogénétique des *Pteronotus* a révélé deux haplogroupes distincts et non recouvrants, correspondant aux espèces cryptiques *P. alitonus* et *P. rubiginosus*, en accord avec les résultats précédents [24, 25, 27, 28]. La plus petite divergence entre *P. alitonus* et *P. rubiginosus* est presque trois fois plus importante (2,7) que la plus grande divergence au sein du groupe – une valeur typique pour des différences interspécifiques chez les mammifères [5, 40].

Nous avons trouvé une bonne concordance entre les marqueurs mitochondriaux et nucléaires microsatellites, indiquant que les deux lignages d'ADN mitochondriaux incluent deux groupements génétiques d'ADN nucléaires.

La valeur de F_{st} de 0,139 entre *P. rubiginosus* (A) et *P. alitonus* (B) indique une forte différenciation génétique de la population sur les 15 marqueurs microsatellites utilisés.

Périodes de reproduction

P. alitonus et *P. rubiginosus* semblent avoir une saison de reproduction chevauchante. Cependant le taux très faible de femelles allaitantes et gestantes de *P. rubiginosus* par rapport à *P. alitonus*, de même que l'absence de juvéniles chez le premier, suggèrent un léger décalage de phénologie entre les deux espèces. D'un autre côté, nous ne pouvons

exclure la possibilité que *P. rubiginosus* utilise d'autres sites de mise bas que les cavités (bâtiments, dessous de pont), réduisant potentiellement la compétition avec *P. alitonus* pour les ressources alimentaires. L'identification d'une colonie avec des femelles gestantes (9 sur 24) de *P. rubiginosus* sous le toit d'une maison de village en juin 2017 peut conforter cette seconde hypothèse.

Il a également été suggéré que *P. alitonus* préfère chasser dans des forêts plus denses que *P. rubiginosus* [27]. Une telle séparation spatiale d'habitats de chasse peut réduire la compétition entre les deux espèces et expliquer leur coexistence dans une même région.

Différenciation phénotypique

En comparant la longueur de l'avant-bras entre les deux espèces cryptiques, nous avons trouvé un large recouvrement de mesures montrant que les distinctions d'espèces ne sont pas totalement en accord avec les différences génétiques (voir aussi [24, 28, 41]).

Nous avons également montré que *P. alitonus* est légèrement plus petit que *P. rubiginosus*, comme préalablement rapporté par DE THOISY *et al.* [28] dans la même région géographique et dans LÓPEZ-BAUCELLS *et al.* [41] dans une diversité d'habitats de l'Amazonie brésilienne centrale.

De façon intéressante, PAVAN *et al.* [27] ont montré que la différence phénotypique est supérieure dans les régions où les deux espèces sont sympatriques – un résultat attendu chez des espèces subissant un déplacement de caractère [27, 42].

De plus, dans notre étude, nous avons observé que les femelles avaient un avant-bras légèrement plus grand que les mâles chez *P. alitonus*. Un dimorphisme sexuel a déjà été démontré par CLARE *et al.* [24]

sur la taille du cerveau (plus gros chez les mâles).

Echolocalisation

Comme précédemment rapporté en Guyane française, et dans l'Amazonie centrale [24, 28, 29, 41], les deux espèces cryptiques correspondent à deux types phoniques distincts – un émettant à des fréquences de 53 kHz (*P. rubiginosus*), et l'autre autour de 59 kHz (*P. alitonus*). JIANG *et al.* [43] et LIN *et al.* [44] ont suggéré que des variations de 5 à 7 kHz n'impactaient pas la capacité à détecter les mêmes types de proies et en conséquence, ne devraient pas induire l'utilisation de ressources différentes.

Les deux espèces occupent les mêmes cavités (qui constituent cependant une ressource limitante dans l'aire d'étude), suggérant qu'elles coexistent sans compétition écologique majeure, que ce soit pour former des colonies ou pour chasser, comme déjà discuté pour d'autres espèces cryptiques comme *Rhinolophus mehelyi* et *Rhinolophus euryale* [45]. En conséquence, nous faisons l'hypothèse que les différences acoustiques ont pu évoluer pour faciliter la reconnaissance/communication intra et interspécifique, plutôt que pour faciliter le partage des ressources. L'écart de FME-FC entre les deux espèces intègre certainement le complexe de différenciation par des voies diverses (morphologie fine, olfaction, comportement...), et peut contribuer à l'évitement de l'hybridation. Certaines études ont suggéré que la fréquence d'écholocalisation (par exemple chez *Rhinolophus philippinensis*) est associée avec de l'appariement sélectif, et au final, à de l'isolement reproductif et de la spéciation, quelles que soient les barrières externes au flux génétique [18]. Cependant, une explication neutre d'un

point de vue évolutif concernant cette différenciation fréquentielle, ne peut pas être exclue.

Nous avons par ailleurs trouvé chez *P. rubiginosus* des FME-FC plus élevées chez les femelles que chez les mâles ; les deux sexes étant de la même taille, la loi de l'allométrie ne peut expliquer cette différence. La technologie Doppler du sonar de *P. rubiginosus*, interdit à un individu donné de varier ses FME-FC dans de telles proportions (au risque de sortir de sa fenêtre de sensibilité auditive très restreinte), en fonction de son comportement. GRILLIOT *et al.* [46] ont noté cette variation chez *Eptesicus fuscus*, mais cette espèce utilise une technologie sonar de localisation en distance. Ainsi, il est plausible de considérer que cette différence de fréquence entre sexes chez *P. rubiginosus*, ait évolué dans un but de reconnaissance entre sexes, peut-être sous pression d'une sélection sexuelle comme chez *Rhinolophus mehelyi* [45].

Hybridation

Une hybridation limitée a été mise en évidence entre les deux espèces en utilisant les marqueurs microsatellites : seulement 1 individu sur 460 a montré des signes clairs d'hybridation.

Sur le long terme, cependant, de tels événements laissent des traces qui sont mieux observés dans le génome mitochondrial : 6 individus sur 80 contiennent des séquences de CO1 de l'autre espèce.

Le résultat le plus intéressant réside dans le fait que dans tous les cas l'introgession s'est déroulée de façon asymétrique, de *P. alitonus* vers *P. rubiginosus* (6 sur 38 *P. rubiginosus* ont de l'ADN mitochondrial de *P. alitonus* alors que tous les 42 *P. alitonus* contiennent de l'ADNmt de *P. alitonus*). Notre proportion

d'ADN mitochondriaux hybrides chez *P. rubiginosus* (0,158) est supérieure à ce qui a été rapporté précédemment par CLARE *et al.* [24] qui ont seulement identifié un hybride sur 61 spécimens (35 *P. alitonus* et 26 *P. rubiginosus*), mais de façon similaire, cet hybride portait l'ADN mitochondrial de *P. alitonus* (donnant une proportion d'hybride de 0,04). De tels résultats ont déjà été rapportés chez les chauves-souris, entre deux espèces jumelles *Myotis myotis* et *Myotis blythii* [47], ainsi que chez *Rhinolophus sinicus septentrionalis* et *R. s. sinicus* [48].

De nombreux scénarios différents ont été suggérés pour expliquer l'hybridation biaisée de l'ADN mitochondrial comme la dispersion différentielle entre sexes, une asymétrie dans le choix du partenaire, une production différentielle de descendance, des dynamiques démographiques des espèces locales et colonisantes, de la sélection différentielle, ou une combinaison de ces effets [49]. Trancher entre ces différentes causes est complexe mais certaines d'entre elles peuvent être discutées afin d'expliquer cette asymétrie inattendue des lignages d'ADN mitochondriaux entre *P. alitonus* et *P. rubiginosus*.

En se basant sur l'analyse de nos données génétiques à l'échelle de la colonie, la dispersion biaisée entre sexes semble une explication improbable de l'asymétrie observée puisqu'il n'y a pas de preuve que les mâles et les femelles - de chaque espèce - dispersent à des distances différentes.

L'introggression unidirectionnelle observée de l'ADN mitochondrial pourrait refléter une propension à l'accouplement entre les mâles de *P. alitonus* et les femelles de *P. rubiginosus*, mais pas le contraire (femelles de *P. alitonus* et mâles de *P. rubiginosus*). Une telle asymétrie d'accouplement entre sexes a été

observée chez les insectes [50] et les oiseaux [51], mais à notre connaissance, très peu de données sur le comportement de reproduction existent chez les chauves-souris [52–54] et aucune en particulier chez nos espèces étudiées. Par exemple, BOGDANOWICZ *et al.* [55] ont proposé que le comportement de swarming sur les sites, où de grands nombres de chauves-souris appartenant à plusieurs espèces se rencontrent, soit un facteur important qui pourrait expliquer l'hybridation.

Etant donné que les deux espèces étudiées coexistent dans le même habitat, forment des colonies mixtes de maternité dans les cavités, ont une période de reproduction semblant se chevaucher, diffèrent par leurs fréquences d'émissions ultrasonores, ont un taux extrêmement bas d'hybridation sur les marqueurs microsatellites, on peut considérer l'asymétrie d'accouplement entre sexes comme anecdotique. Les différences phénotypiques entre *P. alitonus* et *P. rubiginosus*, à la fois en taille globale et au regard de la présence ou l'absence de dimorphisme sexuel [24, 27, 28], pourraient aider les espèces dans la reconnaissance de leurs conspécifiques et participer à limiter l'hybridation. Comme déjà mentionné, la reconnaissance entre partenaires sexuels peut aussi se faire via de moyens acoustiques comme l'écholocation.

Enfin, l'asymétrie de l'introggression peut également survenir si l'ADN mitochondrial de *P. rubiginosus* a quelque avantage sélectif qui encourage cette introggression dans un environnement alternatif (un scénario proposé pour expliquer la propagation de l'ADN mitochondrial dans une population de lièvres [56] ou dans un contexte génétique différent [57]). Le génome mitochondrial joue un rôle central dans l'approvisionnement d'énergie pour les cellules et peut affecter différents traits d'histoire de vie comme la longévité

et la fertilité, et/ou des comportements comme l'activité et l'exploration [58]. Un nombre croissant d'études indique que l'ADN mitochondrial semble être soumis à sélection [59–61] mais les arguments en faveur de ces hypothèses, jusqu'à présent, ne sont pas établis pour *Pteronotus*. Que l'hybridation asymétrique de l'ADN mitochondrial se produise à une large échelle géographique (plateau des guyanes) mais à différentes fréquences, peut cependant apporter un soutien à cette hypothèse.

Structuration génétique des populations

Pour la première fois ces deux espèces cryptiques ont été étudiées en utilisant des microsatellites autosomiaux. Ces nouveaux marqueurs nous ont permis de faire la lumière sur la structure génétique des populations. Dans notre jeu de données, le niveau de différenciation génétique a une ampleur supérieure entre espèces, comparée à l'intérieur de celles-ci ($F_{st} = 0,13$ versus $F_{st} = 0,002$ respectivement), suggérant l'existence d'un important flux de gènes entre les cavités pour les deux espèces. En conséquence les cavités n'apparaissent pas comme des éléments structurants puisque les populations de *P. alitonus* et *P. rubiginosus* semblent former deux populations uniques couvrant des distances de plus de 80 km (de la région des Nouragues à la montagne de Kaw).

Une explication possible pour ce manque de structure génétique peut résider dans le fait que la distance entre cavités est inférieure à la distance de dispersion des deux espèces. En conséquence l'unité structurante peut être un ensemble de cavités plutôt que chacune d'elles.

Conclusion

En accord avec de précédentes études, les résultats génétiques, acoustiques et morphologiques justifient la classification de *Pteronotus* en deux espèces - *P. alitonus* et *P. rubiginosus* - en Guyane française. Beaucoup de travail reste à accomplir pour accroître la connaissance sur les mécanismes évolutifs qui génèrent le processus de spéciation dans ce complexe de *Pteronotus* et pour identifier les causes d'incongruence entre données mitochondriales et nucléaires.

De plus, il serait crucial d'étudier l'utilisation de l'habitat et le régime alimentaire de chaque espèce pour analyser si les différences de signaux sonar résultent de la compétition pour la nourriture ou de la reconnaissance intra spécifique.

Il reste à déterminer la période de reproduction des deux espèces, de même que leurs sites de reproduction.

De futures études devraient également regarder plus profondément les relations entre morphologie, fréquence des signaux sonar et utilisation de l'habitat chez des populations sympatriques et allopatriques de *Pteronotus*.

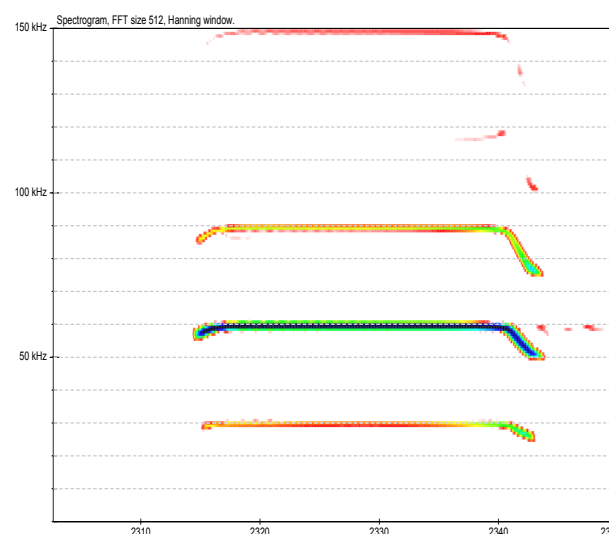


Figure 7.

Spectrogramme d'un signal sonar de *P. alitonus*, montrant la structure FMa-FC-FMd.

- 1. BICKFORD D, LOHMAN DJ, SODHI NS, NG PKL, MEIER R, WINKER K.** Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol Evol.* 2007;22:148–55.
- 2. PFENNINGER M, SCHWENK K.** Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions. *BMC Evol Biol.* 2007;7:1–7.
- 3. BEHEREGARAY LB, CACCONE A.** Cryptic biodiversity in a changing world. *J Biol.* 2007;6.
- 4. HEBERT PDN, CYWINSKA A, BALL SL, DEWAARD JR.** Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc B Biol Sci.* 2003;270:313–21. <http://rspsb.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rspsb.2002.2218>
- 5. HEBERT PDN, RATNASINGHAM S, DE WAARD JR.** Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc R Soc B Biol Sci.* 2003;270:S96–9. <http://rspsb.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rsbl.2003.0025>
- 6. ASHRAFI S, RUTISHAUSER M, ECKER K, OBRIST MK, ARLETTAZ R, BONTADINA F.** Habitat selection of three cryptic *Plecotus* bat species in the European Alps reveals contrasting implications for conservation. *Biodivers Conserv.* 2013;22:2751–66.
- 7. RUTISHAUSER MD, BONTADINA F, BRAUNISCH V, ASHRAFI S, ARLETTAZ R.** The challenge posed by newly discovered cryptic species: Disentangling the environmental niches of long-eared bats. *Divers Distrib.* 2012;18:1107–19.
- 8. WITT JDS, THRELOFF DL, HEBERT PDN.** DNA barcoding reveals extraordinary cryptic diversity in an amphipod genus: Implications for desert spring conservation. *Mol Ecol.* 2006;15:3073–82.
- 9. KARANTH KP.** Molecular systematics and conservation of the langurs and leaf monkeys of South Asia. *J Genet.* 2010;89:393–9.
- 10. BALLARD JWO, WHITLOCK MC.** The incomplete natural history of mitochondria. *Mol Ecol.* 2004;13:729–44.
- 11. COYNE JA, ORR HA.** *Patterns of Speciation in Drosophila.* Evolution (N Y). 1989;43:362–81.
- 12. FUNK DJ, OMLAND KE.** Species-Level Paraphyly and Polyphyly: Frequency, Causes, and Consequences, with Insights from Animal Mitochondrial DNA. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 2003;34:397–423. <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132421>
- 13. KARANTH KP.** Species complex, species concepts and characterization of cryptic diversity: vignettes from Indian systems. *Curr Sci.* 2017;112:1320–24.
- 14. PATERSON ID, MANGAN R, DOWNIE DA, COETZEE JA, HILL MP, BURKE AM.** Two in one: cryptic species discovered in biological control agent populations using molecular data and crossbreeding experiments. *Ecol Evol.* 2016;6:6139–50.
- 15. MILLER W, SCHUSTER SC, WELCH AJ, RATAN A, BEDOYA-REINA OC, ZHAO F.** Polar and brown bear genomes reveal ancient admixture and demographic footprints of past climate change. *Proc Natl Acad Sci.* 2012;109:E2382–90. <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1210506109>
- 16. HÖBEL G, GERHARDT HC.** Reproductive character displacement in the acoustic

communication system of green tree frogs (*Hyla cinerea*). *Evolution*. 2003;57:894–904.

17. HONDA-SUMI E. Difference in calling song of three field crickets of the genus *Teleogryllus*: The role in premating isolation. *Anim Behav*. 2005;69:881–9.

18. KINGSTON T, ROSSITER SJ. Harmonic-hopping in Wallacea's bats. *Nature*. 2004;429:9–12.

19. PUECHMAILLE SJ, GOUILH MA, PIYAPAN P, YOKUBOL M, MIE KM, BATES PJ. The evolution of sensory divergence in the context of limited gene flow in the bumblebee bat. *Nat Commun*. 2011;2.

20. RITCHIE MG, GLEASON JM. Rapid evolution of courtship song pattern in *Drosophila willistoni* sibling species. *J Evol Biol*. 1995;8:463–79.

21. JONES GJ. Acoustic signals and speciation: the roles of natural and sexual selection in the evolution of cryptic species. *Adv study Behav*. 1997;26:317–54.

22. BARLOW KE, JONES G. ROOSTS, echolocation calls and wing morphology of two phonic types of *Pipistrellus pipistrellus*. *Zeitschrift für Saugetierkunde*. 1999;64:257–68.

23. DAVIDSON-WATTS I, WALLS S, JONES G. Differential habitat selection by *Pipistrellus pipistrellus* and *Pipistrellus pygmaeus* identifies distinct conservation needs for cryptic species of echolocating bats. *Biol Conserv*. 2006;133:118–27.

24. CLARE EL, ADAMS AM, MAYA-SIMÕES AZ, EGER JL, HEBERT PDN, FENTON MB. Diversification and reproductive isolation: cryptic species in the only New World high-duty cycle bat, *Pteronotus parnellii*. *BMC Evol Biol*. 2013;13:26.

25. LÓPEZ-WILCHIS R, FLORES-ROMERO M, GUEVARA-CHUMACERO LM, SERRATO-

DÍAZ A, DÍAZ-LARREA J, SALGADO-MEJIA F. Evolutionary scenarios associated with the *Pteronotus parnellii* cryptic species-complex (Chiroptera: Mormoopidae). *Acta Chiropterologica*. 2016;18:91–116. <http://www.bioone.org/doi/10.3161/15081109ACC2016.18.1.004>

26. PAVAN AC, MARROIG G. Integrating multiple evidences in taxonomy: species diversity and phylogeny of mustached bats (Mormoopidae: *Pteronotus*). *Mol Phylogenet Evol*. 2016;103:184–98. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2016.07.011>

27. PAVAN AC, BOBROWIEC PED, R PA. Geographic variation in a South American clade of mormoopid bats, *Pteronotus* (Phyllodia), with description of a new species. *J Mammal*. 2018;99:624–45.

28. THOISY B DE, PAVAN AC, DELAVAL M, LAVERGNE A, LUGLIA T, PINEAU K. Cryptic Diversity in Common Mustached Bats *Pteronotus* cf. *parnellii* (Mormoopidae) in French Guiana and Brazilian Amapa. *Acta Chiropterologica*. 2014;16:1–13. <http://www.bioone.org/doi/abs/10.3161/150811014X683228>

29. BARATAUD M, GIOSA S, LEBLANC F, RUFRAY V, DISCA T, TILLON L. Identification et écologie acoustique des chiroptères de Guyane française. *Le Rhinolophe*. 2013;19:103–45.

30. ANTHONY ELP. Age determination in bats. *Ecological and behavioral methods for the study of bats* (T. H. Kunz, ed.). Washington, D.C: Smithsonian Institution Press; 1988. Pp. 47–58.

31. MALAUSA T, GILLES A, MEGLÉCZ E, BLANQUART H, DUTHOY S, COSTEDOAT C, ET AL. High-throughput microsatellite isolation through 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing of enriched DNA libraries. *Mol Ecol Resour*. 2011;11:638–44.

- 32. FILIPPI-CODACCIONI O. ET AL.** Coexistence of two sympatric cryptic bat species in French Guiana: insights from genetic, acoustic and ecological data. *BMC Evolutionary Biology* (2018) 18:175 <https://doi.org/10.1186/s12862-018-1289-8>.
- 33. EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J.** Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Mol Ecol*. 2005;14:2611–20.
- 34. EARL DA, VONHOLDT BM.** STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour*. 2012;4:359–61.
- 35. Anderson EC, Thompson EA.** A model-based method for identifying species hybrids using multilocus genetic data. *Genetics*. 2002;160:1217–29
- 36. Goudet J.** Computer Note. *J. Hered*. 1995;86:485–6.
- 37. MEEÛS T DE, BÉATI L, DELAYE C, AESCHLIMANN A, RENAUD F.** Sex-Biased Genetic Structure in the Vector of Lyme Disease, *Ixodes ricinus*. *Evolution*. 2002;56:1802–7. <http://doi.wiley.com/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00194.x>
- 38. SMOTHERMAN, M., GUILLÉN-SERVENT A.** 2008. Doppler-shift compensation behavior by Wagner's mustached bat, *Pteronotus personatus*. *J. Acoust. Soc. Am*. 123 (6) : 4331-4339.
- 39. R CORE TEAM.** R: A language and environment for statistical computing. 2015.
- 40. JOHNS GC, AVISE JC.** A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b gene. *Mol Biol Evol*. 1998;15:1481–90.
- 41. LÓPEZ-BAUCELLS A, TORRENT L, ROCHA R, PAVAN AC, BOBROWIEC PED, MEYER CFJ.** Geographical variation in the high-duty cycle echolocation of the cryptic common mustached bat *Pteronotus* cf. *rubiginosus* (Mormoopidae). *Bioacoustics*. 2018;27:341-57.
- 42. PFENNIG K.** Character displacement: Ecological and reproductive responses to a common evolutionary problem. *Q Rev Biol*. 2009;84:253–76.
- 43. JIANG T, YOU Y, LIU S, LU G, WANG L, WU H, ET AL.** Factors affecting geographic variation in echolocation calls of the endemic *Myotis davidii* in China. *Ethology*. 2013;119:881–90.
- 44. LIN A, JIANG T, KANWAL JS, LU G, LUO J, WEI X, ET AL.** Geographical variation in echolocation vocalizations of the Himalayan leaf-nosed bat: Contribution of morphological variation and cultural drift. *Oikos*. 2015;124:364–71.
- 45. PUECHMAILLE SJ, BORISSOV IM, ZSEBOK S, ALLEGRINI B, HIZEM M, KUENZEL S, ET AL.** Female mate choice can drive the evolution of high frequency echolocation in bats: A case study with *Rhinolophus mehelyi*. *PLoS One*. 2014;9.
- 46. GRILLIOT ME, BURNETT SC, MENDONÇA MT.** Sexual Dimorphism in Big Brown Bat (*Eptesicus fuscus*) Ultrasonic Vocalizations is Context Dependent. *J Mammal*. 2009;90:203–9. <https://academic.oup.com/jmammal/article-lookup/doi/10.1644/07-MAMM-A-161.1>
- 47. BERTHIER P, EXCOFFIER L, RUEDI M.** Recurrent replacement of mtDNA and cryptic hybridization between two sibling bat species *Myotis myotis* and *Myotis blythii*. *Proc R Soc B Biol Sci*. 2006;273:3101–23. <http://rspb.royalsocietypublishing.org>

- 48. MAO X, HE G, ZHANG J, ROSSITER SJ, ZHANG S.** Lineage divergence and historical gene flow in the Chinese Horseshoe Bat (*Rhinolophus sinicus*). *PLoS One*. 2013;8.
- 49. TOEWS DPL, BRELSFORD A.** The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Mol Ecol*. 2012;21:3907–30.
- 50. SHAW KL, LUGO E.** Mating asymmetry and the direction of evolution in the Hawaiian cricket genus *Laupala*. *Mol Ecol*. 2001;10:751–9.
- 51. STEIN AC, UY JA.** Unidirectional introgression of a sexually selected trait across an avian hybrid zone: a role for female choice? *Evolution*. 2006;60:1476–85.
- 52. ANGELL RL, BUTLIN RK, ALTRINGHAM JD.** Sexual Segregation and Flexible Mating Patterns in Temperate Bats. 2013;8.
- 53. BOGDANOVICZ W, PIKSA K TA.** Genetic structure in three species of whiskered bats (genus *Myotis*) during swarming. 2012;93:799–807.
- 54. WATT E, FENTON MB.** DNA fingerprinting provides evidence of discriminate suckling and non-random mating in little brown bats *Myotis lucifugus*. *Mol Ecol*. 1995;4:261–4.
- 55. BOGDANOWICZ W, PIKSA K, TEREBA A.** Hybridization hotspots at bat swarming sites. *PLoS One*. 2012;7(12):e53334.
- 56. MELO-FERREIRA J, BOURSOT P, SUCHENTRUNK F, FERRAND N, ALVES PC.** Invasion from the cold past: extensive introgression of mountain hare (*Lepus timidus*) mitochondrial DNA into three other hare species in northern Iberia. *Mol Ecol*. 2005;14:2459–64.
- 57. LOREN H, RIESEBERG.** Evolution: replacing genes and traits through hybridization. *Curr Biol*. 2009;19:119–22.
- 58. BALLARD JWO, MELVIN RG, MILLER JT, KATEWA SD.** Sex differences in survival and mitochondrial bioenergetics during aging in *Drosophila*. *Aging Cell*. 2007;6:699–708.
- 59. BAZIN E, GLEMIN S, GALTIER N.** Population size does not influence mitochondrial genetic diversity in animals. *Science*. 2006;312:570–2.
- 60. GRANT WS, SPIES IB, CANINO MF.** Biogeographic evidence for selection on mitochondrial DNA in North Pacific walleye pollock *Theragra chalcogramma*. *J Hered*. 2006;97:571–80.
- 61. STEWART JB, FREYER C, ELSON JL, WREDENBERG A, CANSU Z, TRIFUNOVIC A, ET AL.** Strong purifying selection in transmission of mammalian mitochondrial DNA. *PLoS Biol*. 2008;6:0063–71.

Auteurs

JBP et **DP** ont conçu l'étude et supervisé le travail de terrain. **MPB, DF, EP1, EP2, OFC** et **DP** ont mené les analyses statistiques et génétiques, et **DDV** les analyses phylogénétiques. **LM, CK** et **GQ** ont développé les marqueurs microsatellites, et **CR** a génotypé les individus. **OFC, MPB, DF, DDV** et **DP** ont écrit le manuscrit.

Ondine FILIPPI-CODACCIONI - 1Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR5558, F-69622 Villeurbanne, France; 2Université de Lyon, LabExEcofect, Nadine Cizaire, 92 rue Pasteur, CS 30122 69361 Lyon Cedex 07, France; 3SEISE 26 bis Barrouil, 33720 Illats, France.
Email : seise.ofc@gmail.com

Marie-Pauline BEUGIN^{1,2,4} - 1Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR5558, F-69622 Villeurbanne, France; 2Université de Lyon, LabExEcofect, Nadine Cizaire, 92 rue Pasteur, CS 30122 69361 Lyon Cedex 07, France; 4ANTAGENE, Animal GenomicsLaboratory, 6 allée du Levant; 69890 La Tour de Salvagny (Lyon), France.
Email: marie.pauline.beugin@gmail.com

Damien M. DE VIENNE^{1,2} - 1Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR5558, F-69622 Villeurbanne, France; 2Université de Lyon, LabExEcofect, Nadine Cizaire, 92 rue Pasteur, CS 30122 69361 Lyon Cedex 07, France.
Email: damien.de-vienne@univ-lyon1.fr

Elodie PORTANIER^{1,5,6} - 1Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR5558, F-69622 Villeurbanne, France; 5Université de Lyon, VetAgro Sup - Campus Vétérinaire de Lyon, 1 Avenue Bourgelat, BP 83

F-69280, Marcy l'Etoile, France ; 6Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage - Unité Faune de Montagne, 147 Route de Lodève, Les Portes du Soleil F-34990, Juvignac, France.
Email: elodie.portanier@gmail.com

David FOUCHET^{1,2} - 1Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR5558, F-69622 Villeurbanne, France; 2Université de Lyon, LabExEcofect, Nadine Cizaire, 92 rue Pasteur, CS 30122 69361 Lyon Cedex 07, France.
Email : david.fouchet@univ-lyon1.fr

Cécile KAERLE⁴ - 4ANTAGENE, Animal GenomicsLaboratory, 6 allée du Levant; 69890 La Tour de Salvagny (Lyon), France
Email: ckaerle@antagene.com

Lina MUSELET⁴ - 4ANTAGENE, Animal GenomicsLaboratory, 6 allée du Levant; 69890 La Tour de Salvagny (Lyon), France
Email: lmuselet@antagene.com
Guillaume QUENEY⁴ - 4ANTAGENE, Animal GenomicsLaboratory, 6 allée du Levant; 69890 La Tour de Salvagny (Lyon), France
Email:gqueney@antagene.com

Eric J. PETIT⁷ - 7UMR ESE, Ecology and Ecosystem Health, INRA, AgrocampusOuest, 65 rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France
Email : eric.petit@inra.fr

Corinne REGIS^{1,2} - 1Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR5558, F-69622 Villeurbanne, France; 2Université de Lyon, LabExEcofect, Nadine Cizaire, 92 rue Pasteur, CS 30122 69361 Lyon Cedex 07, France.
Email : corinne.regis@univ-lyon1.fr

Jean-Baptiste PONS^{1,2} - ¹Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR5558, F-69622 Villeurbanne, France; ²Université de Lyon, LabExEcofect, Nadine Cizaire, 92 rue Pasteur, CS 30122 69361 Lyon Cedex 07, France.

Email: jean-baptiste.pons@universite-lyon.fr

Dominique PONTIER^{1,2,*} - ¹Univ Lyon, Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR5558, F-69622 Villeurbanne, France; ²Université de Lyon, LabExEcofect, Nadine Cizaire, 92 rue Pasteur, CS 30122 69361 Lyon Cedex 07, France.

Email: dominique.pontier@univ-lyon1.fr



Une partie de l'équipe ECOFECT, avec ses bénévoles, lors de la mission d'octobre 2015

Remerciements

Nous tenons tout particulièrement à remercier toutes les nombreuses personnes impliquées dans le travail de terrain depuis 2010 : V. Alt, M. Bely, G. Chagneau, M. Dorfiac, S. Dufour, C. Gizardin, G. Leblanc, M. Leuchtman, E. Loutfi, A. Le Guen, L. Trebucq, O. Vrignaud., J. Tribot, J. Jean-Baptiste, N. Aubouin, O. Zucchet, C. Guiraud, O. Allenou, A. Mary, A. Lec'hvien, A. Mateo, A. Cheron, L. Delamare, J. Dechartre, E. Jomat, T.Girard, J., J. Etienne, S. Péault, J. Duhayer, C. Lesage, F. Varenne, C., Gaboriaud, M. Gely, M. Berenger, F. Veinante, M. Ruchon, J. Yvernault, M.Gervot., V. Goma, A. Laforge, A. Le Nozahic, M. Daval, B. Baillat.

Nous remercions également le CNRS Guyane et notamment Philippe Gaucher pour sa collaboration et son accueil.

Merci au Groupe Chiroptère Guyane pour son aide lors du lancement et pendant l'étude (notamment S. Uriot, Q. Uriot et V. Ruffray) ainsi que la Réserve de l'Amana, du Mont Grand Matoury et de Kaw.

Un grand merci à Sébastien Dufour et à Joëlle de Rour'attitude : pour l'accueil de jour comme de nuit des équipes et du matériel au cours des nombreuses missions, pour les coups de pouce et pour leur bonne humeur.

Merci enfin à Michel Barataud pour ses avis éclairés et sa relecture de l'article.



© Ecofact 2018



Pour citer cet article :

FILIPPI-CODACCIONI, O., M-P. BEUGIN, D. M. DE VIENNE, E. PORTANIER, D. FOUCHET, C. KAERLE, L. MUSELET, G. QUENEY, E. J. PETIT, C. REGIS, J-B. PONS, D. PONTIER, 2018.

Coexistence de deux espèces cryptiques en Guyane: apprentissage de la génétique, de l'acoustique et de l'écologie.

Plume de Naturalistes 2 : 169-190.

ISSN 2607-0510

Pour télécharger tous les articles de *Plume de Naturalistes*:
www.plume-de-naturalistes.fr