



HAL
open science

Étude des macro-invertébrés des milieux aquatiques dans un territoire à vocation agricole en cours d'urbanisation

Christophe Hanot

► **To cite this version:**

Christophe Hanot. Étude des macro-invertébrés des milieux aquatiques dans un territoire à vocation agricole en cours d'urbanisation. *Ecologie, Environnement*. 2020. hal-02949327

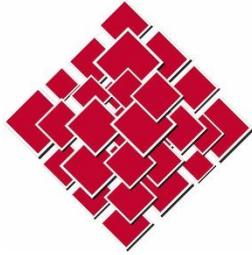
HAL Id: hal-02949327

<https://ephe.hal.science/hal-02949327>

Submitted on 25 Sep 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



École Pratique
des Hautes Études



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES
Sciences de la Vie et de la Terre

MEMOIRE

présenté
par
HANOT Christophe

pour l'obtention du Diplôme de d'Ecole Pratique des Hautes Etudes

**Etude des macro-invertébrés des milieux aquatiques dans un territoire à vocation
agricole en cours d'urbanisation**

Soutenu le 10 janvier 2020

devant le jury :

Mme GOUTTE Aurélie – Présidente
Mme BESSA-GOMES Carmen – Tutrice scientifique
Mme DOUMS Claudie – Tutrice pédagogique
M. POLLET Nicolas – Rapporteur
M. LEROY Boris – Examineur
M. LACROIX Gérard – Examineur

Mémoire préparé sous la direction de :

Carmen BESSA-GOMES (Tutrice Scientifique)
Unité Ecologie, Systématique et Evolution, UMR 8079 UPSaclay - CNRS - AgroParisTech
Directrice : Jane LECOMTE

et de

Claudie DOUMS (Tutrice Pédagogique)
ISYEB, UMR 7205 CNRS MNHN UPMC EPHE, Département Systématique et Evolution
Directeur : Philippe GRANDCOLAS

Remerciements

Finalement, reprendre ses études est simple, un engagement, un papier à signer, une brouille quand on y pense, mais sans un réel soutien, je pense que cet engagement peut rapidement dériver en un parcours du combattant. Je tiens donc à adresser mes sincères remerciements :

A mes tutrices Carmen Bessa-Gomes et Claudie Doums qui ont cru en moi, ont accepté cette fonction, et qui ont su répondre à mes interrogations malgré des emplois du temps de ministres.

A Emmanuelle Baudry pour son soutien régulier, le temps passé à parler du projet, pour ses avis éclairés, son indéfectible bonne humeur, mais aussi nos discussions parfois totalement hors sujet.

A Toutes les personnes qui sont venues m'accompagner sur le terrain, en tentant de n'oublier personne (et là c'est compliqué), je citerai parmi l'équipe les membres de l'équipe EPC, Emmanuelle Baudry (et oui, toujours la), Sara Karolak, Florence Hulot, Claire Barraud, Mélanie Trémoureux, Sara Siboni ; pour les joyeux drilles, mais non moins sérieux, d'Ecosys, je citerai Sylvie Nélieu, Isabelle Lamy, Amélie Trouvé, Nathalie Chevion, Sébastien Breuil.

A Myriam Harry et Claire Capdevielle-Dulac du laboratoire EGCE pour nos discussions sur ce projet et la réalisation de tout le travail lié à la génétique, qui appartient encore actuellement à un domaine que je pourrais qualifier de « trop petit à mes yeux ».

A Dorian Spaak, Marion Bruère et Thomas Joly (†) de Terre et Cité, sans qui la mise en relation avec les acteurs du plateau auraient été beaucoup plus compliquées, leur rôle de facilitateurs est indéniable et précieux.

A Toute la joyeuse équipe des statutaires et non statutaires d'EPC, qui assurent un excellent cadre de travail, avec de la joie, des chants, des rires, des repas souvent animés dans ces locaux qui ont tout de même, il faut l'avouer, un âge qui se lit sur les murs.

Aux membres du jury qui ont accepté de s'investir dans la lecture critique de ce manuscrit, et qui ont bravé les aléas des transports en cette période perturbée.

Je tiens de plus ici à remercier tout particulièrement les acteurs du plateau qui ont accepté mes intrusions sur leurs terres. Dans le respect de l'anonymat qui nous lie, je ne les nommerai néanmoins pas ici, mais ils sauront se reconnaître.

Enfin, je tiens à remercier ceux qui me supportent (au sens français du terme) et me soutiennent au quotidien, mais qui subissent aussi cette passion dévorante qu'est l'entomologie, à savoir ma compagne Sandra Autran et nos deux petits monstres Olivier et Adrien. Que pourrais-je faire sans vous ?

Avants propos

Ce travail est une des composantes du projet DYNAMIQUES, financé par un programme régional PSDR4 (Pour et Sur le Développement Régional, 4^{ème} édition). Ce projet a pour objectif de mettre en œuvre un programme pluridisciplinaire de recherche sur les conséquences du développement périurbain sur la biodiversité. Dans sa globalité, il implique directement :

- quatre laboratoires

- Laboratoire ESE, UMR 8079, Ecologie, Systématique et Evolution, Univ Paris Sud
- Laboratoire SAD-APT, UMR 1048, Science Action Développement, Activités Produits Territoires, INRA AgroParisTech
- Laboratoire ECOSYS, UMR 1402, Ecologie Fonctionnelle et Ecotoxicologie des Agrosystèmes Contaminés INRA
- Laboratoire EGCE, UMR 9191, Evolution, Génome, Comportement, Ecologie CNRS

- deux partenaires :

- Terre et Cité
- EPAPS Etablissement public d'aménagement Paris-Saclay

Sommaire

Index des tableaux	8
Index des figures	8
Liste des abréviations	12
I - Introduction générale.....	14
II - Présentation du protocole général d'échantillonnage.....	20
Cadre de l'étude	20
Choix du (des) groupe(s) taxonomique(s) d'intérêt.....	22
Protocole d'échantillonnage	25
Sélection des mares et caractérisation du contexte local.....	25
Protocole de collecte des méso- et macro-invertébrés.....	27
Saisonnalité et nombre de campagnes	29
Pression de récupération.....	29
Méthodes d'identification des méso- et macro-invertébrés.....	30
III - Caractérisation des communautés de méso- et macro-invertébrées à l'aide d'une identification morphologique des taxons présents.....	32
Méthode d'identification morphologique.....	32
Analyse de données	33
Résultats	34
Identification morphologique des taxons prélevés	34
Effet de la pression de collecte.....	37
Effet du nombre de campagnes de prélèvement et leur saisonnalité.....	43
IV - Séquençage individuel du CO1 en vérification des identifications morphotaxonomiques et validation de l'outil BOLD pour le projet.....	46
Protocole de barcoding individuel.....	47
Résultat du barcoding individuel.....	49
Conclusion sur l'apport du barcoding individuel.....	53
V - Protocole de Metabarcoding pour la représentation taxonomique des communautés d'Arthropodes issus des collectes en mares	54
Protocole du metabarcoding	54
Résultats de l'analyse de la liste issue du metabarcoding.....	56
VI - Caractérisation des communautés de macro-Arthropodes des mares	60
Protocole de caractérisation des mares.....	60

Caractérisation des mares	63
Caractérisation de la diversité des macro-invertébrés	64
Analyse en tenant compte de l'environnement des mares et de leur composition végétale	73
VII - Discussion.....	78
Bibliographie	82
Annexes	88
Projet de recherche proposé à la première inscription EPHE-SVT.....	98

Index des tableaux

Tableau 1 : Répartition des morphotaxons aquatiques pour utilisation et base de comparaison ultérieure, par Classe, dans les prélèvements du biote animal des mares sur les années 2015 à 2017. Une distinction est apportée sur la taille des organismes. 37

Index des figures

Figure 1 : Emprise géographique globale du projet de cluster scientifique du plateau de Saclay (F-91). 20

Figure 2 : Schéma global du suivi des mares. Chaque code couleur de flèche implique une voie propre d'analyse. Les encarts en vert représentent les parties du projet réalisé par l'équipe EGCE. La flèche verte pointillée représente d'une part le test effectué et d'autre part la possibilité de traiter les stocks actuels par la méthode de metabarcoding..... 25

Figure 3 : Zoom sur le positionnement des mares dans la zone sud du plateau de Saclay qui accueillera le cluster scientifique sur un fond de carte MOS 2012, Val d'Or (Guyancourt (78) exclu). Les triangles noirs bordés bleu représentent les mares suivies en 2015 uniquement en test, puis remplacées par de nouvelles, les cercles noirs bordés rouges représentent les mares suivies pour l'étude..... 26

Figure 4 : Filet troubleau(en haut) et action de prélèvement à l'aide de ce dernier sur la mare M09 (en bas). 27

Figure 5 : Bassine de récupération du contenu du filet troubleau, peu dense en végétaux (en haut) et dense en végétaux (en bas)..... 28

Figure 6 : Répartition des morphotaxons par Phylum dans les prélèvements du biote animal des mares sur les années 2015 à 2017. Une distinction est apportée sur le milieu de vie des taxons identifiés. ... 34

Figure 7 : Répartition des morphotaxons conservés pour utilisation et base de comparaison ultérieure, par Phylum, dans les prélèvements du biote animal des mares sur les années 2015 à 2017. Une distinction est apportée sur le milieu de vie des taxons identifiés..... 35

Figure 8: Répartition des morphotaxons aquatiques pour utilisation et base de comparaison ultérieure, par Classe, dans les prélèvements du biote animal des mares sur les années 2015 à 2017. Une distinction est apportée sur la taille des organismes..... 36

Figure 9 : Corrélation des années 2016 et 2017 sur la base des cohortes de méso-taxons prélevés. 38

Figure 10 : Corrélation des années 2016 et 2017 sur la base des cohortes de macro-taxons prélevés.. 39

Figure 11 : Répartition des morphotaxons aquatiques pour utilisation et base de comparaison ultérieure, par Classe, dans les prélèvements du biote animal des mares sur les années 2015 à 2017. Une distinction est apportée sur la taille des organismes. 40

Figure 12 : Deux stades de Chironomidae, larve vivante (à gauche), nymphe conservée dans de l'éthanol (à droite)..... 41

Figure 13 : Répartition des morphotaxons de Macro-Arthropodes aquatiques répartis par Ordre sur les deux ans d'étude. 42

Figure 14 : Répartition des abondances de Macro-Arthropodes aquatiques répartis par Ordre sur les deux ans d'étude (morphotaxons et non référencés).....	42
Figure 15 : Analyse factorielle de la composition taxonomique des mares lors de 4 périodes de passage de 2015. Ce graphe représente sous forme d'une ellipse par session la distribution des différences de composition taxonomique des relevés pour chaque mare (Chiron, com. pers.). Les points représentent les taxons et les traits de chacun d'eux les relie au barycentre de l'ellipse.	44
Figure 16 : Ratios des statuts d'apport sur les noms via le séquençage du CO1, par Ordre d'Arthropodes récoltés sur 2015 et première campagne 2016.....	50
Figure 17 : Effectif des statuts d'apport sur les noms via le séquençage du CO1, par stade de développement des Arthropodes récoltés sur 2015 et première campagne 2016. La catégorie N/A (Non Affecté) représente les individus pour lesquels le stade n'a pas été renseigné ou non affectable.	51
Figure 18 : Types de qualités de séquences suite à codage individuel du CO1 sur les Arthropodes prélevés dans les mares lors des campagnes de 2015 et de la première campagne de 2016.	52
Figure 19 : Taxons, par Famille, issus du traitement par metabarcoding de la campagne C1 (2016) de prélèvements d'Arthropodes prélevés dans les mares. Données brutes sans filtre sur le milieu de vie des organismes.	57
Figure 20 : Comparaison des richesses (morpho) taxonomiques des Arthropodes aquatiques collectés dans les mares lors de la campagne C1 avec le nombre de taxons / OTU proposé suite à un metabarcoding sur ces mêmes spécimens. Les Familles en rouges sont <i>a priori</i> terrestres et non aquatiques. Les valeurs ont subi une transformation de type racine carrée.....	58
Figure 21 : Mare M09 en 2016 (à gauche) et en 2018 (à droite). Les deux clichés montrent la mare selon le même axe, orientation nord.....	62
Figure 22 : Visualisation de l'évolution de l'environnement de la M09 grâce à des vues aériennes centrées sur la mare (point rouge). Prise de vue sur la période 2006-2010 à gauche, avec la même vue en 2018 à droite (source Géoportail).....	62
Figure 23 : Graphes ternaires positionnant les mares selon les axes traduisant le pourcentage de couverture du sol sur trois types d'occupation des sols : Zone perméable naturelle, Grande culture et urbain au sens large. Les mares sont regroupées en lots consistants de type d'environnements dans les zones tampons de 50m et 100m.	64
Figure 24 : Richesse taxonomique, indices de diversité de Shannon et index de diversité de Simpson pour (i) les Macro-Arthropodes aquatiques et (ii) pour l'ensemble des Arthropodes aquatiques, des mares suivies en 2016 et 2017.....	65
Figure 25 : Mare M18 en juin des années 2016 (en haut p.68), 2017 (en bas p.68) et 2018 (ci-dessus). Même axe de prise de vue (vers le nord-est). En 2019, cette mare ne présentait qu'une petite zone d'eau libre relictuelle.....	66
Figure 26 : Cercle des corrélations produit par l'AFM intégrant les morphotaxons d'Arthropodes aquatiques récoltés dans les mares en 2016 et 2017. Les méso-Arthropodes ont été mis en groupes illustratifs.....	67
Figure 27 : Graphe des groupes de morphotaxons (Ordres) sur les taxons collectés en 2016 et 2017. Les méso-Arthropodes (triangles évidés) sont ajoutés en qualité de groupes illustratifs sur ce graphe.....	68
Figure 28 : Carte des mares produite par l'AFM sur les collectes 2016 et 2017.	69

Figure 29 : Dendrogramme de proximité des mares établi sur le tableau de contingence des macro-Arthropodes aquatiques récoltés en 2016 et 2017.....	70
Figure 30 : Dendrogramme de proximité des mares établi sur le tableau de contingence de l'ensemble des Arthropodes aquatiques récoltés en 2016 et 2017.....	72
Figure 31 : Comparaison du pourcentage l'occupation du sol pour les 12 mares étudiées depuis 2016, dans les 50 m, avec regroupement des sorties de Theia 2016 en quatre grandes catégories (Rural, urbain, forêt et eau).	73
Figure 32 : Cercle de corrélation de l'ACP des variables.	75
Figure 33 : Top 10 des contributeurs aux deux axes principaux du cercle de corrélation de l'ACP des variables. la ligne rouge correspond à la contribution moyenne.	75

Liste des abréviations

ACOREP-France : Association des Coléoptéristes de France

BOLD : Barcode Of Life Data System

CO1 : Cytochrome c Oxydase subunit I

CEA: Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives

EcoSys : Écologie fonctionnelle et écotoxicologie des agroécosystèmes, UMR1402

EGCE : Evolution, Génomes, Comportement et Ecologie, UMR 9191

ESE : Ecologie Systématique et Evolution, UMR 8079

GRETIA : GRoupe d'ÉTude des Invertébrés Armoricaïns

I2M2 : Indice Invertébrés Multimétrique

IBGN : Indice Biotique Général Normalisé

IGN : Institut national de l'information géographique et forestière

IcoCAM : Indicateur composite Coléoptères Aquatiques des Mares

IPR : Indice Poisson Rivière

MOS : Mode d'occupation du Sol

NGS : séquençage nouvelle génération = Méta barcoding

UICN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature

SNPN : Société Nationale de Protection de la Nature

ZPNAF : Zone de Protection Agricole et Forestière

I - Introduction générale

Dans un contexte d'extension quasi constante des agglomérations, l'organisation du territoire est en remaniement permanent. Autant l'impact sur les terres est tout à fait visible : remembrement, perte des systèmes de haies, augmentation des surfaces urbaines, autant l'impact sur les systèmes aquatiques peut passer inaperçu de prime abord. Les systèmes lotiques, qui concernent les eaux courantes, sont actuellement relativement bien étudiés (Pauw et al., 1986; White et al., 2017), de par leur importance économique et récréative. La modification de l'utilisation des sols a entraîné une dégradation de ces systèmes (Miler et al., 2013), constatée de longue date, telle une augmentation des intrants retrouvés dans les cours d'eau, de divers polluants d'origine anthropique *etc.* Ceci a entraîné une dégradation dans la qualité de l'eau, qualité qui peut, entre autres, être appréciée par différents indicateurs tels l'IPR (Indice Poissons Rivières), l'IBGN (Indice Biotique Général Normalisé). L'IBGN utilisé en France de 1982 à 2009 est officiellement remplacé depuis 2016 par l'I2M2 (Indice Invertébrés Multimétrique) pour satisfaire aux directives européennes qui demandent un grain de notation des cours d'eau plus fin. La prise de conscience de ce constat a entraîné une réaction politique, législative et finalement pratique sous forme de la mise en place de la Directive Cadre sur l'Eau (Directive 2000/60/CE, réduite à l'acronyme DCE), adoptée en 2000, fixant des objectifs à l'échelle européenne. Cette directive a été ratifiée par la France et vise à améliorer la qualité de l'eau, de surface et souterraine, mais sans inclure les mares, avec obligation de résultats selon un échéancier.

Si un fleuve est un cours d'eau se jetant dans une mer et a donc une définition tout à fait standardisée et reconnue, la mare jouit quant à elle non pas d'une, mais de beaucoup de définitions. Par exemple le fait que son origine puisse être naturelle ou anthropique fait consensus, mais selon les auteurs, la surface d'une mare peut varier soit entre 1 m² et 5 ha (Céréghino et al., 2008), soit entre 1 m² et 2 ha (Biggs et al., 2005). Tous s'accordent sur le fait que l'eau y est présente tout ou partie de l'année, elle peut donc s'assécher. Certains auteurs considèrent que ce cycle peut avoir lieu sur plusieurs années. La profondeur est bien sûr variable, mais certains auteurs considèrent que la profondeur maximale doit permettre à la lumière d'accéder à la zone benthique, d'autres non. La présence de végétation au niveau du point d'eau est aussi un paramètre qui peut jouer sur les fonctions

de la mare, mais n'entre pas dans les critères de définition d'une mare. Ces variations de définition impliquent que travailler sur de tels systèmes est soumis à une définition au cas par cas de la mare, et donc que les observations et conclusions de chaque étude se doivent d'être étudiées en connaissance de cause. Un trait qui est par contre reconnu comme caractéristique des mares, est leur très fort potentiel de production d'organismes qui sont liés à des réseaux trophiques d'animaux vivant au voisinage des points d'eau (Biggs et al., 2017; Boix et al., 2001; Céréghino et al., 2014).

Les mares étant des dépressions du territoire ayant leur propre bassin versant, elles piègent différentes molécules de synthèses produites par l'Homme (phytosanitaires, résidus médicamenteux, etc.), mais aussi des métaux, etc. qui représentent autant de pressions sur le biote présent. Parmi les espèces caractérisées comme étant actuellement reconnues comme en danger dans les listes rouges de l'UICN, plusieurs sont liées aux mares, telles des Batraciens, des Odonates, certaines plantes (Oertli et al., 2018). Il existe à l'échelle nationale un moyen de noter les cours d'eau de petite taille basée sur l'observation de certains macro-invertébrés, en considérant leur polluosensibilité / polluo-tolérance et le nombre de taxons rencontrés (IBGN, I2M2 (Mondy et al., 2012)). De par les différences de taxons rencontrés entre rivières et mares, ces indices ne peuvent être appliqués à ces dernières.

Quid de l'évolution des mares ? Un programme participatif de la Société Nationale de Protection de la Nature (SNPN) sur l'Ile-de-France ("Si les mares m'étaient comptées ... inventaire des mares d'Ile-de-France," 2018), a depuis son lancement en 2010, permis, de recenser 22 300 mares de tailles variables, dont la répartition est influencée par l'usage des sols. Mais revenons dans un premier temps au pourquoi de l'existence des mares, notamment celles d'origine anthropiques qui sont les plus nombreuses. Elles étaient principalement liées aux activités agricoles et d'élevage : elles servaient à abreuver les animaux en champs, à l'irrigation, voire à la production de poisson pour l'alimentation. Ce sont des sites qui concentrent les sédiments, mais aussi les polluants depuis leur bassin versant propre (Biggs et al., 2017). Au cours du temps, avec la modernisation des pratiques et l'industrialisation, ces points d'eau se sont comblés soit naturellement au fil du temps soit par l'action humaine directe afin de simplifier les travaux en champ. La perte de connectivité entre les points d'eaux restants entraîne un isolement de leurs populations, par disparition de certains biotopes. Il a été montré que l'effet sur les communautés s'y développant est indubitablement négatif (Bagella et al., 2016; Boix et al., 2012), et donc

représente un des facteurs de l'érosion de la biodiversité. Cette diminution du nombre de mares, influant sur les communautés qui y vivent habituellement, est un des éléments qui a conduit à la mise en place de la trame verte et bleue, un réservoir de biodiversité liés par des corridors écologiques, permettant ainsi à la faune et la flore de trouver des refuges et de se déplacer.

Nous proposons dans ce travail d'évaluer dans un premier temps le cortège de macro-invertébrés présents dans une sélection de mares du territoire francilien. Cette étude est vouée à se focaliser sur un espace réduit de l'Ile-de-France, en particulier à la zone d'urbanisation du plateau de Saclay (F - 91). Nous prévoyons de faire un suivi dans le temps, ceci permettra ainsi de déterminer si l'urbanisation a un impact sur ces organismes. Ne pouvant actuellement pas prétendre avoir une vue sur un pas de temps conséquent, seule sera abordée dans la suite de ce travail l'aspect communauté territoriale. Le biote, animal ou végétal, peut être étudié d'un point de vue quantitatif et / ou qualitatif. Comme dit précédemment, la présence de végétaux dans la mare est une caractéristique facultative. Nous avons donc choisi le biote animal pour cette étude de suivi au long cours des mares ayant pour but d'estimer les impacts de l'urbanisation. Nous envisageons de suivre la présence / absence de taxons, qui pourraient de manière simple, voire même simpliste, traduire un effet d'un intrant, en parallèle avec une quantification des taxons. En effet, la réponse à l'urbanisation peut aussi se traduire par des variations n'aboutissant pas à une disparition de certains taxons.

Démarrer une étude sur le Plateau de Saclay, un territoire périurbain en cours d'urbanisation rapide suite à l'implantation d'un cluster scientifique et technologique sur ce qui étaient des terres agricoles est une excellente opportunité. Parmi les perturbations générées par l'urbanisation de ce site, l'imperméabilisation du sol, entraîne une modification dans le devenir de l'eau de pluie. En effet, même s'il a été choisi dans le plan d'urbanisation lié à la création du cluster Paris-Saclay de limiter l'emprise au sol des bâtiments, les eaux de ruissellement et de pluie seront acheminées de manière très différente à la fin du projet vers les points de collecte et les nappes. La réhabilitation du ru de Corbeville en zone de promenade avec ripisylve, la présence même des nouveaux bâtiments, la création de systèmes favorisant l'écoulement des eaux vers ce ru depuis les abords des immeubles, entraîne *de facto* que ces eaux ne passeront plus dans la colonne de sable de Fontainebleau permettant la distribution des sources et plan d'eau en vallée de l'Yvette. De même, le changement de pratique sur le plateau, depuis une utilisation

d'intrants et pesticides d'origine agricoles, l'agriculture étant actuellement majoritairement de type conventionnel, vers une utilisation du site par les usagers du tertiaire, entrainera inévitablement une modification dans la nature et les quantités des substances arrivant au sol, et par la suite, dans les eaux de surface voire de profondeur, avec un potentiel de stockage dans les sols avec un relargage décalé dans le temps. Nous pouvons envisager une diminution dans les intrants de type engrais et pesticides, mais en parallèle une augmentation des apports liés aux véhicules tel par exemple l'antimoine, des huiles et résidus de carburants. Une autre perturbation envisageable est liée au piétinement des usagers piétons et cyclistes du site entraînant une rudéralisation des abords des zones de circulations.

L'évolution du Plateau de Saclay offre ainsi l'opportunité de travailler dans le temps, sur une échelle spatiale réduite, sur un des principaux facteurs du changement global, l'urbanisation, et particulièrement sur la caractérisation de l'impact de ces changements sur ces mésocosmes « naturels » que sont les mares.

Nous présenterons dans ce travail une étude comportant l'échantillonnage des macro-invertébrés de douze mares sélectionnées sur le plateau de Saclay, suivie d'une identification des taxons. Cette estimation de la diversité de macro-invertébrés nous permettra ensuite de comparer les mares entre elles sur la base de leurs richesses taxonomiques selon un gradient environnemental, permettant d'étudier le processus d'urbanisation du territoire visé.

Mon projet a pour objectif à long terme l'étude de l'influence de l'urbanisation sur les mésocosmes mares. Ce manuscrit présente la phase préliminaire de ce projet, concrètement, l'établissement d'un protocole qui permettra d'optimiser l'effort pour accéder aux organismes cibles en lien avec la méthode à appliquer en fonction des outils disponibles. Cette partie méthodologique comprend notamment un travail de comparaison des méthodes d'identification des espèces morphologiques et moléculaires permettant de caractériser ces mésocosmes. Ce travail comporte plusieurs axes qui sont développés dans les parties suivantes : (i) la présentation du protocole général d'échantillonnage (ii) la caractérisation des communautés de méso- et macro-invertébrées à l'aide d'une identification morphologique des taxons présents (iii) le séquençage individuel du CO1 en vérification des identifications morphotaxonomiques et validation de l'outil BOLD pour le projet (iv) le protocole de Metabarcoding pour la représentation taxonomique des

communautés d'Arthropodes issus des collectes en mares (v) la caractérisation des communautés de macro-Arthropodes des mares..

II - Présentation du protocole général d'échantillonnage

Cadre de l'étude

Le plateau de Saclay se situe à environ 17 km, au sud-ouest de Paris. Il est considéré comme une des dernières zones agricoles à fort rendement en région parisienne. A cheval entre les départements de l'Essonne (91) et des Yvelines (78), il est bordé au sud par l'Université Paris-Saclay. Une campagne d'urbanisation de la frange sud du plateau, avec comme incidence directe une modification dans l'occupation du sol, a pour objectif de créer un technopôle d'envergure et de rayonnement international. Une carte produite par X. de Geyter & F. Alkemade (Figure 1) présente le projet de cluster dans son emprise globale (<https://alto-ingenierie.fr/projets/cluster-scientifique-et-technologique-du-plateau-de-saclay>).

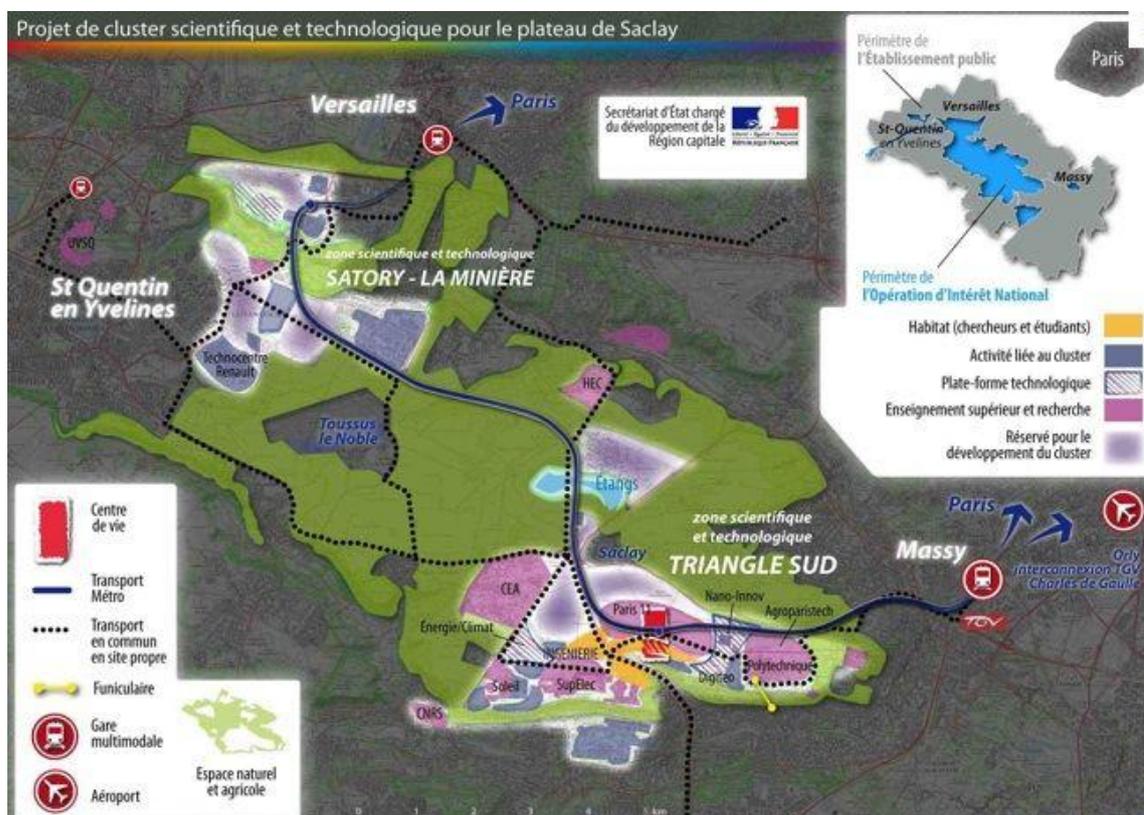


Figure 1 : Emprise géographique globale du projet de cluster scientifique du plateau de Saclay (F-91).

Les changements dans la politique locale d'occupation des sols sur le plateau de Saclay impliquent une réduction de la zone agricole au profit d'une forte augmentation de l'emprise au sol de la zone urbaine. Cette modification de l'usage des sols est entre autres synonyme d'une imperméabilisation de la surface, et donc implique un changement majeur dans les flux d'eau, une variation dans les intrants, etc. De plus, la présence humaine va être beaucoup plus forte, le chiffre de 15.000 usagers par jour ouvré ayant été avancé lors de certaines présentations orales du projet de cluster. Il est *a priori* à prévoir un impact sur la végétation qui sera mise en place sur les zones récréatives, ainsi que sur les parcelles qui seront modifiées lors de la mise en place des structures du cluster. Parallèlement à la mise en place du projet, une proportion non négligeable du plateau a été classée en Zone de Protection Agricole et Forestière (ZPNAF) ("Paris-Saclay Open Data — Accueil," 2018; "Zone de protection naturelle, agricole et forestière," 2018). Cette ZPNAF de 4115 ha se décompose en 1469 ha de surface agricole et 1646 ha de zone forestière. Elle représente une zone sanctuarisée sur laquelle l'empreinte d'urbanisation est limitée afin de sauvegarder un espace agricole et naturel. Par contre, l'usage des sols de cette ZPNAF est une forte dominance d'une agriculture dite conventionnelle.

C'est dans ce contexte que le projet de suivi de l'impact de l'urbanisation du plateau a pris forme. Les mares présentes sur le territoire d'étude ont été recherchées via des outils en ligne tels les sites de la SNPN ("Si les mares m'étaient comptées ... inventaire des mares d'Ile-de-France," 2018). Actuellement, ce site fait état de 22.300 mares et point d'eau en Ile-de-France. Ce site nous a aidés dans la présélection de nos mares. En effet, malgré l'intitulé du site, y sont référencés des mares, mais aussi toutes les formes d'eau de surface de type stagnant, telles les mouillères, flaques, etc. La première phase de recherche en ligne a permis de sélectionner des sites, mais lors de la visite de contrôle initiale au printemps, nombre d'entre eux étaient secs depuis probablement plusieurs mois voire années d'après la végétation présente. Le choix s'est donc aussi, et même surtout, fait grâce aux vues aériennes Géoportail ("Géoportail," 2018), site internet mis à disposition par l'institut national de l'information géographique et forestière (IGN), mais aussi sur les observations directes, ainsi qu'une enquête par le bouche à oreille, complémenté par le contact direct avec les acteurs du plateau (agriculteurs, communes), randonneurs, joggeurs, etc. Bien que l'urbanisation soit limitée à une zone géographique restreinte, la zone d'étude a volontairement été élargie au plateau, pour vérifier les éventuels effets à distance sur les points d'eau.

Choix du (des) groupe(s) taxonomique(s) d'intérêt

La première interrogation a été de définir quel(s) serai(en)t le(s) meilleur(s) groupe(s) qui permettrai(en)t d'obtenir des informations pertinentes et qui intégrerai(en)t les effets de l'Anthropisation et de l'urbanisation prévue sur le site d'étude. Ce choix devait de plus être fait en adéquation avec les biotopes disponibles sur la zone d'étude. Les sujets d'études d'impact et de suivis les plus classiques portent sur les Oiseaux, les Mammifères et les Arthropodes, tout au moins certaines guildes ou espèces de ces groupes d'animaux. Or les études d'impact ont pour but de faire un état des lieux d'un site et n'ont pas vocation initiale à observer une évolution temporelle. Le projet d'un observatoire de la biodiversité du Plateau de Saclay a ainsi émergé au sein de l'équipe Ecologie des Population et des Communauté (EPC) du laboratoire d'Ecologie des Systématique et Evolution (ESE). Ce projet n'est pas défini en nombre d'années, l'urbanisation étant prévue sur une échelle de temps suffisamment longue pour qu'on ne puisse réellement lui donner une date de fin. De plus, les effets peuvent prendre du temps à être détectés.

Parmi les Invertébrés, les bureaux d'études optent le plus souvent pour des insectes qui sont d'accès « facile » et relativement aisés à identifier, tels les Carabidae, les Rhopalocères, Acridiens, les Odonates *etc.* (BIOTOPE, 2018, 2017, 2015; Ecosphère, 2018, 2016; OPIE - AEV, 2005a, 2005b) Nous partons du constat que le territoire d'intérêt est actuellement très anthropisé, car principalement agricole. Les outils pour les collecter sont souvent de mise en œuvre rapide et simple.

La mise en place de pots pièges pour les Carabidae, avec une bibliographie disponible conséquente pour leur identification paraît de prime abord attirant. Cela pose néanmoins le problème du suivi au long terme avec un besoin de répétition sur des périodes longues, sur des sites voués à évoluer rapidement. De plus, il faut pouvoir intercepter suffisamment d'individus pour une bonne représentation des espèces présentes et de leurs ratios en utilisant un piégeage considéré comme basé sur l'aléatoire du mouvement des individus. Nous avons écarté ce groupe d'insectes de l'étude.

Concernant les Rhopalocères, autrement dit les papillons de jour, il existe un nombre restreint d'espèces sur notre région, leur identification est relativement aisée, ne nécessitant

souvent pas de collecte létale, uniquement une capture avec relâché immédiat, voire quelques photos des ailes ou même une identification à vue. Ceci peut être perçu comme un avantage certain pour une étude de ce genre. Encore une fois, considérant ce plateau à forte pression agricole, nous n'observons que très peu d'espèces actuellement, sans toutefois avoir fait de réelle étude. L'urbanisation ne semblant a priori pas devoir améliorer les choses, il semblait risqué de prétendre baser l'étude sur ce groupe d'insectes, qui de plus a la capacité de se déplacer facilement par le vol, leur présence sur une parcelle peut de fait s'avérer n'être qu'un artefact. Ce groupe a ainsi aussi été écarté du champ des possibles.

Une étude basée sur les Orthoptères, et en particulier sur les Acridiens serait possible dès lors que les zones à prospecter soient à très fort couvert végétal, type friches *etc.*, ces animaux étant phytophages. Le nombre d'espèce est assez faible, l'identification, hormis quelques Genres, est relativement aisée avec une bibliographie à jour. Il est même possible d'enregistrer les chants des mâles grâce par exemple à une "batbox" puis d'analyser les sonogrammes obtenus pour identifier les espèces. Encore une fois, l'évolution de parcelles agricoles évoluant principalement vers des bâtiments n'offre ni un contexte initial, ni *a priori* final favorable aux Acridiens.

Les Odonates sont quant à eux représentés par relativement peu d'espèces en Ile-de-France. Leur identification est assez facile avec un contrôle en main, voire photographique et l'existence de clés d'identification récentes est un réel avantage. Etant insectivores, elles ont néanmoins une forte capacité de déplacement par le vol, tout comme mentionné précédemment pour les papillons de jours. Ceci implique la même contrainte concernant l'observation de spécimens sur le plateau de Saclay. De plus, leur capture, si besoin est pour confirmation ou photo de détail, peut être assez sportive, tout au moins les spécimens appartenant au sous-Ordre des Anisoptères. En effet, leur vol est rapide, ils changent souvent de direction voire volent assez haut. Leur capture ou identification à distance peut de fait être compliquée, mais pas impossible avec de la pratique. Les Zygoptères ont quant à eux un vol plus lent, proche des herbes présentes. Les réflexions ont ainsi dérivé sur le fait que les traces de présence de ces animaux peuvent offrir d'autres avantages. Les stades juvéniles se déroulent en milieu aquatique, et les sub-adultes sortent de l'eau pour la mue imaginale. On retrouve fréquemment les exuvies sur la végétation aux abords des cours et points d'eau. De plus, il existe une bibliographie permettant l'identification des exuvies de ce dernier stade larvaire (Heidemann and Seidenbusch, 2002). Ceci implique une

information accessible qui de plus prouve leur présence de manière certaine, sans pour autant impacter les populations. Les juvéniles de ces animaux sont aussi des prédateurs, ils sont donc liés à la présence d'autres organismes leur servant de proie. Néanmoins, la recherche des exuvies implique un effort d'échantillonnage important, les exuvies pouvant être dégradées avec le temps, peu visibles, etc.

Ceci nous a permis de modifier notre approche pour l'étude. Tenter de trouver un groupe taxonomique cible ne semblait pas la bonne option à prendre. Par contre, l'option d'une étude d'un biotope particulier était tout à fait dans le champ des possibles. Le compartiment aquatique présente une accessibilité aisée, offre un milieu de vie confinant, et intégrant des organismes à la biologie variée. L'observation des états larvaires dans l'eau prouve le développement des espèces localement de manière indubitable. Les cours d'eau sont principalement les bornes du plateau de Saclay, quelques rigoles sont présentes, mais avec un niveau d'eau bas. Le plateau recèle par contre plusieurs mares et étangs. Le choix s'est donc arrêté sur les plans d'eau de faible surface, à savoir les mares.

La problématique des groupes taxonomiques d'intérêt pour mener l'étude et le suivi s'est de nouveau présentée. Pour la plupart des mares, la présence de poissons n'est pas avérée, et si oui, peu aisée à estimer. Les autres vertébrés présents sont soit des oiseaux, non strictement liés à chaque mare, donc inutilisable pour une étude de suivi, soit des Batraciens, qui sont protégés, ce qui implique une contrainte supplémentaire, en plus de leur relative difficulté de capture. Le choix s'est donc porté sur les macro-invertébrés, qui malgré la difficulté liée à leur identification, permettent d'avoir une importante variabilité spécifique, sont relativement facilement capturés, ont une forte dynamique de reproduction, une bonne capacité de colonisation et permettent d'avoir une vue intégrative des perturbations que peut subir leur milieu de vie. En effet, vivant sur place tout ou partie de leur cycle de vie, ils sont de bons indicateurs des perturbations subies par "leur" mare (Pakulnicka et al., 2015; Picard and Leroy, 2015; Sánchez-Fernández et al., 2006).

Ceci m'a amené à évaluer les différentes actions, méthodologiques ou analytiques, qui pourraient être mises en œuvre pour réaliser cette étude, afin d'en établir leur ordonnancement. Une partie méthodologie du protocole est commune à tous les tests opérés, et sera traitée dans un chapitre à part. Les particularités propres à chacune des analyses seront présentées à chaque début de chapitre. Néanmoins, malgré ces disparités de

méthodes, un schéma global (Figure 2) peut être produit afin de visualiser le contour du projet.

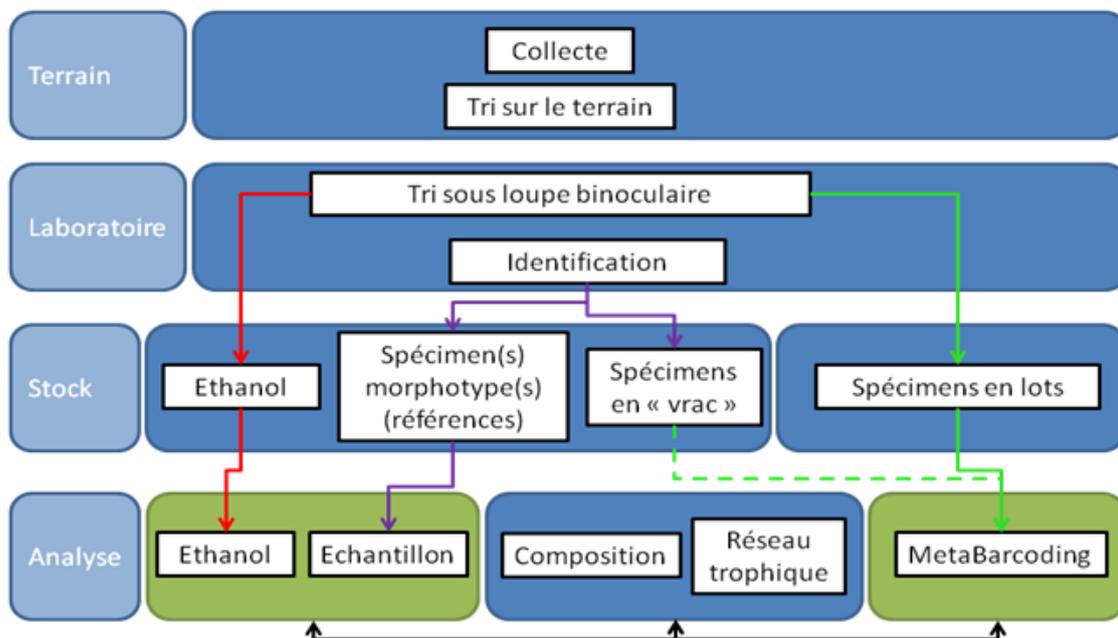


Figure 2 : Schéma global du suivi des mares. Chaque code couleur de flèche implique une voie propre d'analyse. Les encarts en vert représentent les parties du projet réalisé par l'équipe EGCE. La flèche verte pointillée représente d'une part le test effectué et d'autre part la possibilité de traiter les stocks actuels par la méthode de metabarcoding.

Protocole d'échantillonnage

Sélection des mares et caractérisation du contexte local

Considérant que le plateau de Saclay (91) est limité par les vallées de la Mérantaise à l'ouest, de l'Yvette au sud et de la Bièvre au nord et à l'est, j'ai sélectionnés 12 mares facilement accessibles depuis le campus d'Orsay pour l'année de test notre méthodologie en 2015. Ces points d'eau sont pour six d'entre eux dans la vallée de l'Yvette, sur le site de l'Université Paris-Saclay et pour six d'entre eux sur le plateau. L'année suivante, en 2016, certaines mares ont été remplacées : trois d'entre elles situées sur le campus d'Orsay, ainsi qu'une mare située sur le plateau de Saclay mais atypique car trop petite et en lien direct avec un grand plan d'eau, ont été substituées par d'autres mares hors campus (Annexe 1). Ce choix permet de mieux couvrir la zone d'étude et d'obtenir un panel plus représentatif dans les variations d'occupation des sols à leurs abords. Les demandes annuelles d'autorisation d'accès ont été faites auprès des exploitants agricoles, des propriétaires des sites, privés ou institutionnels. Par ailleurs, les mares sont des biotopes où se déroule une

partie du cycle de vie d'organismes soumis à protection. La perturbation du milieu est alors soumise à demande (Cerfa 13616*01).

Chaque point d'eau a ensuite été caractérisé selon l'occupation du sol (Figure 3) dans une zone tampon de 50m de rayon autour du barycentre, basée sur le Mode d'Occupation des sols (MOS) 2012 (Foulard, n.d.). Les mares sont volontairement anonymes, sans aucune mention codée ou lien avec leur propriétaire en respect de l'engagement fait dans le cadre du projet Dynamiques. Ceci permet de caractériser chaque mare selon trois axes principaux (milieu urbain, milieu agricole, milieu forestier), mais avec une possibilité d'affiner la classification si nécessaire car le MOS se décline en plusieurs séries de critères nommés « postes ». Ces postes peuvent être affinés dans la finesse de caractérisation. Par exemple la forêt du MOS 11 postes peut être séparée dans sa déclinaison en 47 postes en (i) Bois ou Forêt, (ii) Coupes ou clairières en forêts, (iii) Peupleraie (Annexe 2).



Figure 3 : Zoom sur le positionnement des mares dans la zone sud du plateau de Saclay qui accueillera le cluster scientifique sur un fond de carte MOS 2012, Val d'Or (Guyancourt (78) exclu). Les triangles noirs bordés bleu représentent les mares suivies en 2015 uniquement en test, puis remplacées par de nouvelles, les cercles noirs bordés rouges représentent les mares suivies pour l'étude.

Protocole de collecte des méso- et macro-invertébrés

La collecte s'est faite au filet troubleau ayant un manche de 77 cm, un arceau de forme trapézoïdale de 39 cm x 32 cm, poche de 40 cm de profondeur, avec un filet à vide de maille 1x1 mm (Figure 4 haut). Elle s'est déroulée dans la colonne d'eau, à une portée de bras de la berge, proche de la zone de sédiments, sans la toucher tant que faire se pouvait (Figure 4 bas), selon la méthodologie suivante : huit (8) sigles "infini" (∞) opérés de manière tonique pour terminer par une remontée du troubleau dans la colonne d'eau du vortex formé à l'axe central du sigle.



Figure 4 : Filet troubleau(en haut) et action de prélèvement à l'aide de ce dernier sur la mare M09 (en bas).

L'objectif est ici de capturer les individus par le mouvement, qui de plus crée une turbulence dans la colonne d'eau en arrière du filet. Les individus hors filet, ainsi que les individus de la zone benthique qui sont décollés du fond, sont piégés dans le vortex en axe du sigle infini. Le dernier mouvement de filet dans ce vortex permet de capturer les individus attirés en arrière, bloqués lors de la session de mouvements. Le contenu du filet est ensuite vidé dans une bassine blanche de dimensions 80x40x10 cm. Ce contenu (Figure 5) est plus ou moins riche en matière végétale, ce qui influe sur le temps de récupération des animaux.



Figure 5 : Bassine de récupération du contenu du filet troubleau, peu dense en végétaux (en haut) et dense en végétaux (en bas).

L'effort de collecte en termes de nombre de points de collecte et de méthode de récupération des individus a été l'objet d'une mise en point méthodologique sur les années 2015 & 2016. Les mares sont des sites aux abords souvent relativement encombrés, avec des accès parfois difficiles. L'objectif de pouvoir opérer des prélèvements dans chaque méso-habitat de la mare, en cas de présence d'hélophytes, de zones caillouteuses ou de graviers par exemple, pourrait avoir un intérêt. Ceci fait partie intégrante des relevés de type IBGN et I2M2 en milieu courant, les cohortes animales étant variées d'un méso-habitat à un autre. Dans ce projet, le choix s'est fait sur un côté pratique, et s'est porté à trois sites par mare quand cela était possible pour l'année test 2015, suite à une observation des milieux et à l'accessibilité. Concrètement, devant la difficulté de prospecter trois sites par mare, seuls deux sites ont été prospectés à partir de 2016, ce qui permet d'obtenir des résultats comparables entre les mares.

Saisonnalité et nombre de campagnes

Afin de définir quelle serait la stratégie à adopter en termes de nombre et saisonnalité des campagnes de prélèvement, chaque mare a été visitée en mai, juin, septembre et octobre durant l'année 2015. L'identification sur la base de la morphologie des individus collectés pour ces quatre campagnes vise à pouvoir comparer les cohortes afin de caractériser les campagnes sur la base de la richesse taxonomique. Ceci permettra d'effectuer un choix sur la ou les périodes permettant de définir les mares vis à vis des taxons présents tout en limitant la pression.

Pression de récupération

Pour chaque point de collecte, deux méthodes distinctes ont été testées sur deux années (une méthode par an) afin de tester la pression de prélèvement.

D'une part, en 2015, durant l'année test, une méthode dite à faible pression a été mise en place. Dans ce cas, tout individu mobile dans la bassine est prélevé à l'aide de pinces entomologiques souples et transféré dans un flacon 40 ml contenant de l'éthanol absolu (E/0680DF/21, Fisher Chemical, CAS 64-17-5). Chaque flacon est alors identifié par le code mare (MXX) suivi du code de la campagne de collecte et la date. Cette indication est

reportée sur une étiquette notée au graphite placée dans le flacon, ainsi que sur le corps et le bouchon de ce dernier. En cas d'abondance de spécimens, le prélèvement peut être divisé en plusieurs flacons avec mention des lots (1/n à n/n) afin d'avoir toujours un minimum de 1 cm de hauteur d'éthanol au-dessus des spécimens, donc au minimum un volume d'éthanol surnageant de 8 ml, assurant une meilleure qualité de conservation des individus en vue des études génomiques. Le contenu de la bassine est régulièrement bougé pour déloger les spécimens qui se cachent dans les éléments végétaux ramassés lors de l'opération. La collecte par point de prélèvement stoppe lorsque qu'aucun spécimen mobile n'est aperçu dans la bassine 5 min après le dernier collecté. Le contenu de la cuvette est alors remis à l'eau.

D'autre part, lors d'une seconde année de test en 2016, une méthode dite à forte pression a été appliquée. Celle-ci consiste à collecter au point d'eau de la même manière qu'en 2015, mais le contenu du filet est non pas déposé dans une bassine, mais l'eau en est éliminée au maximum. La partie solide (feuilles, branches, individus, etc.) est alors placée dans un, voire plusieurs bidons de 1 ou 2 litres selon le volume récupéré, et noyé à l'éthanol 99 %. Le tout est ensuite trié sous loupe binoculaire en laboratoire pour extraire tous les animaux du prélèvement.

Méthodes d'identification des méso- et macro-invertébrés

Les collectes et les identifications morphologiques complétées par l'approche barcoding, ont permis de visualiser les différences dans la composition taxonomique des points d'eau. A partir de ces collectes, la richesse taxonomique à l'échelle de chaque mare a été relevée afin de pouvoir calculer d'une part la diversité alpha par mare et d'autre part la diversité bêta entre mares.

Concernant le barcoding, les résultats ont permis de vérifier dans quelle mesure cette technique nous retourne de l'information plus / moins / aussi précise que la méthode dite conventionnelle (morphologique).

Le metabarcoding sur la campagne printemps 2016 nous a donné une vision de la capacité de cette technique à améliorer le grain de perception de la richesse spécifique de nos prélèvements. Cette analyse sera faite ultérieurement, le traitement du fichier

actuellement communiqué par nos collègues de l'UMR EGCE montrant un petit pourcentage d'anomalies dans les taxons proposés, par exemple des taxons exotiques considérés comme pertinents au regard des nombres de lecture ou de leur pourcentage de similarité avec les références de BOLD.

Les mares pourront être décrites selon deux axes :

- leur contexte paysager, évalué en termes de l'occupation des sols
- leurs taxons autant en termes de diversité globale qu'en termes de présence de groupes taxonomiques spécifiques

Ceci permettra de tester la corrélation qui pourrait exister entre les différentes dimensions.

III - Caractérisation des communautés de méso- et macro-invertébrées à l'aide d'une identification morphologique des taxons présents

Méthode d'identification morphologique

L'identification des spécimens récoltés s'est faite au plus bas rang taxonomique possible via l'utilisation de différents outils à disposition. D'une part, une base bibliographique (Guignot, 1947; Hansen, 1987; Holmen, 1997; Olmi, 1976; Tachet et al., 2010), principalement axée sur les Coléoptères et d'autre part l'utilisation du site institutionnel PERLA (<http://www.perla.developpement-durable.gouv.fr/index.php/arbre/>, ("PERLA," n.d.)), qui comprend une clef en ligne, basée sur le Tachet, richement illustrée de photos de détails. Ce site possède, outre son iconographie de détail de très bonne qualité, les avantages d'être d'une part régulièrement mis à jour, et d'autre part offre la possibilité de pouvoir effectuer un zoom sur les zones d'intérêt des photos, parfois nécessaire à l'identification. Une limite à l'utilisation de la clef en ligne est relevée à son utilisation, à savoir, parfois, un manque de photo pour les espèces liées plus particulièrement au milieu lotique. En effet, il est très axé sur une utilisation dans le cadre de l'évaluation en milieu lotique de l'IBGN et de l'I2M2.

L'identification s'est faite sous loupe binoculaire, modèle Motic SMZ-171 avec une plage de grossissement de x7.5 à x50 en standard, modifié si besoin sur la plage x15 à x100. Certains Coléoptères adultes ont été identifiés sur l'observation des genitalias des mâles, si nécessaire. En effet, ces pièces internes sclérifiées sont stables au sein d'une espèce mais suffisamment variables entre espèce pour que des clefs d'identifications les utilisent pour différencier des taxons de manière certaine. Il est possible de trouver des clefs utilisant les spermathèques des femelles, moins souvent, car les différences interspécifiques sont plus ténues. Les larves d'insectes sont pour la plupart identifiées au mieux au rang générique, le plus souvent à la Tribu voire la sous-Famille, les outils disponibles ne donnant pas plus de finesse.

Ces outils sont de plus renforcés par la possibilité, pour les Coléoptères adultes uniquement, de pouvoir comparer les individus avec deux collections de référence. Personnelle d'une part, ainsi que celle de Pierre Queney, spécialiste de cet Ordre, et qui a aimablement procédé à ma demande à des vérifications de spécimens collectés hors protocole dans les points d'eau. Par ailleurs, pour tous les organismes trouvés, un échantillon (un spécimen voire plusieurs quand cela est possible), a été isolé dans de l'éthanol 99%, dans un microtube de dimension *ad hoc* (1,5 ml, 5 ml, 40 ml en fonction de la taille de l'individu), avec attribution d'un code de référence, qui représente un morphotaxon. Je différencierai de plus dans ce chapitre, les deux termes distincts de morphotaxons et de pseudo-morphotaxons. Pour les spécimens uniques ou en très faible effectif et de petite taille dans les prélèvements, une entrée en qualité de pseudo-morphotaxon a été créée dans le fichier afin de matérialiser l'occurrence. Néanmoins, dans ces cas, aucun individu n'a été placé dans un microtube, mais est placé directement dans les flacons d'échantillons servant à la phase de metabarcoding (*cf.* chapitre V). Ces entrées sont alors enregistrées sous une appellation "NonRefXXX".

Ces morphotaxons, constituant une base référentielle de morphotaxons pour l'étude, sont conservés en chambre froide à 7 °C au sein du laboratoire ESE, bâtiment 362. Nous avons ainsi actuellement créé 299 morphotaxons de référence.

Analyse de données

Pour examiner l'effet pression, nous avons comparé la richesse spécifique par classe des Méso- et Macro-Invertébrés recensés en 2016 (forte pression) et 2017 (faible pression). La comparaison a été effectuée à l'aide d'un test de corrélation paramétrique, le test de corrélation de Pearson bilatéral, qui a calculé en utilisant la fonction *pairs()* du package *quantable* (Wolski, 2018) de R (R Development Core Team, 2005).

Pour examiner l'effet nombre de campagnes et leur saisonnalité, nous nous sommes basées sur une analyse factorielle multiple (AFM). Cette méthode factorielle est adaptée à l'étude des tableaux dans lesquels un ensemble des observations (ici les mares) est décrit par un ensemble de variables (quantitatives et/ou qualitatives) structuré en groupes (ici les campagnes de prélèvements). Nous avons pour cela utilisé avec les packages *FactoMineR*

(Le et al., 2008), pour l'analyse et *factoextra* (Kassambara and Mundt, 2017), pour la visualisation des données, pour R.

Résultats

Identification morphologique des taxons prélevés

De manière tout à fait descriptive, l'identification morphologique de la session préliminaire de 2015 et des deux sessions des années 2016 et 2017 a permis de déceler 350 morphotaxons ou pseudo-morphotaxons (Figure 6).

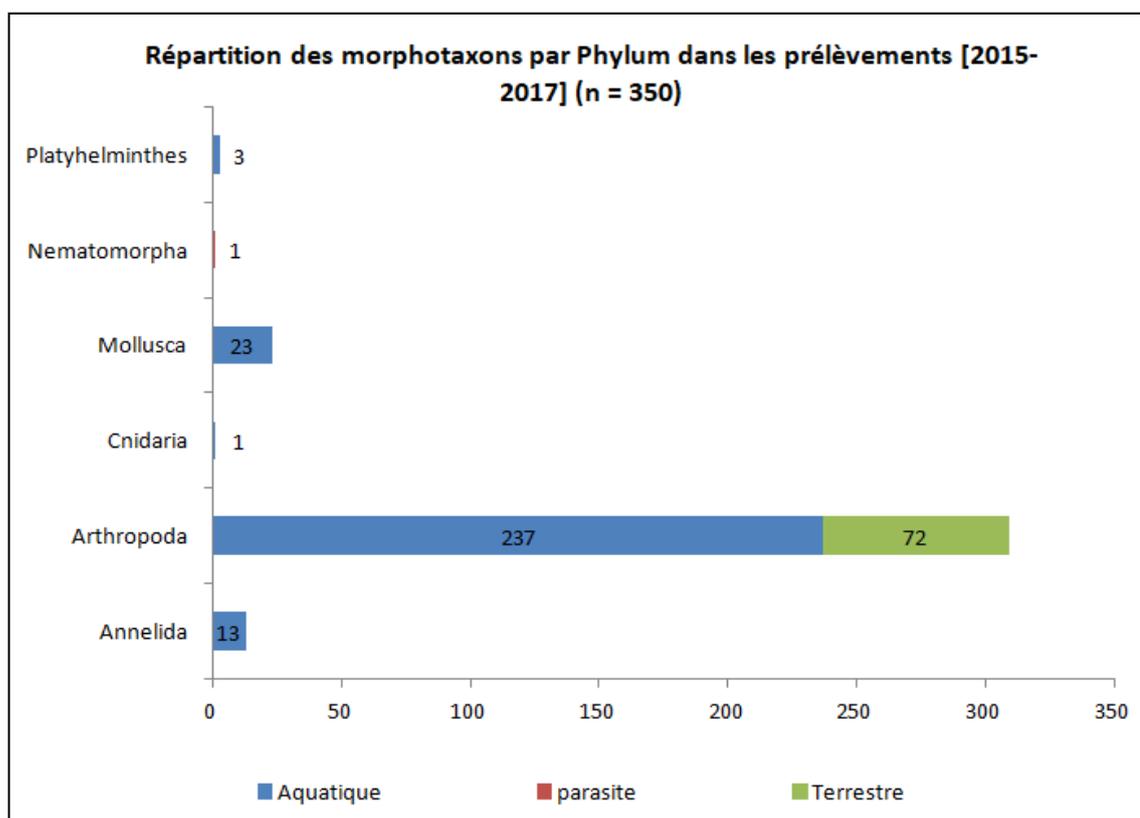


Figure 6 : Répartition des morphotaxons par Phylum dans les prélèvements du biote animal des mares sur les années 2015 à 2017. Une distinction est apportée sur le milieu de vie des taxons identifiés.

Sur ces 350 morphotaxons, certains ont été identifiés après la fin de la campagne visant à faire de l'analyse génomique individuelle.

L'écrasante majorité des taxons contactés (88%) lors des prélèvements appartient au Phylum des Arthropodes, avec parmi ceux-ci 76% d'organismes aquatiques et 24% d'organismes terrestres. Les autres Phylums observés (12%) sont des aquatiques stricts

(Gastéropodes, Annélides, Planaires, Hydres, Bivalves). Une mention particulière est accordée à la présence d'un ver Gordien, endoparasite d'Insectes terrestres provoquant un comportement de suicide de l'hôte afin de pouvoir s'en extraire, dans le milieu aquatique. Ceci lui permet d'assurer son cycle de reproduction dans un environnement adapté.

En réduisant l'analyse aux morphotaxons conservés pouvant être utilisés et / ou permettre un contrôle ultérieur, nous obtenons une répartition similaire à la version totale (Figure 7). La différence se fait uniquement sur les Arthropodes qui sont les seuls organismes de l'étude soumis à plusieurs types d'analyses, tous les autres nouveaux organismes ont amenés à la création de morphotaxons conservés.

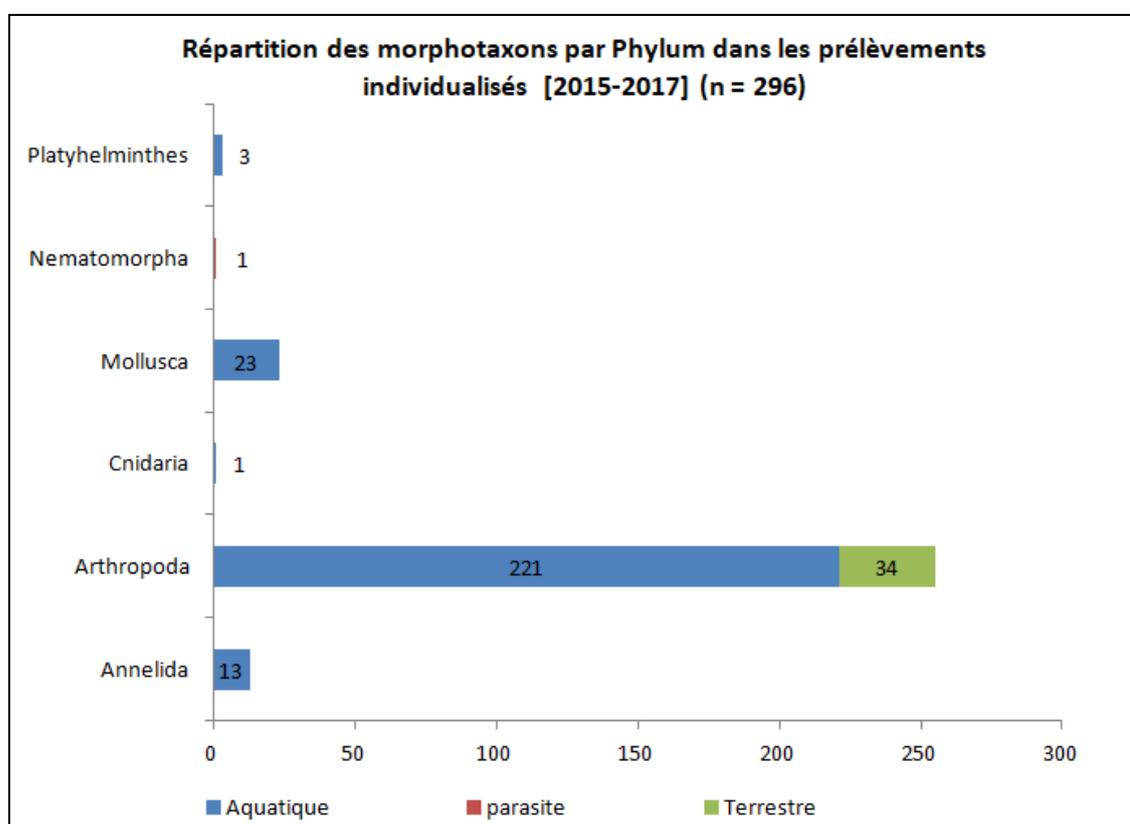


Figure 7 : Répartition des morphotaxons conservés pour utilisation et base de comparaison ultérieure, par Phylum, dans les prélèvements du biote animal des mares sur les années 2015 à 2017. Une distinction est apportée sur le milieu de vie des taxons identifiés.

Cette réduction du pool aux morphotaxons entraîne la perte de 16 pseudo-morphotaxons aquatiques et 38 terrestres, qui resteront de fait incontrôlables et ne pourront pas servir de base de comparaison si la méthode d'identification morphologique est conservée pour les années à venir. De plus, le fait de ne plus avoir accès au spécimen, impliquant de fait une impossibilité de comparaison avec des individus contactés post identification, provoque une potentielle surestimation du nombre de taxons.

Il est à remarquer que l'écart se visualise essentiellement sur la cohorte des organismes terrestres ce qui impactera peu la suite de l'analyse, basée sur les taxons aquatiques. La présence de taxons terrestres dans les lots issus des campagnes de prélèvement a plusieurs origines. Ce sont (i) des insectes vivant aux abords de l'eau, qui lors de l'approche pour les coups de troubleau ont fui / sauté dans l'eau depuis la végétation basse et se sont ainsi retrouvés dans la zone d'action du troubleau (Chrysomèles, Hémiptères, Arachnides, *etc.*), (ii) des insectes vivant dans le bois au-dessus des plans d'eau, tombés des arbres ou avec du bois mort (Chrysomèles, Trosclide, *etc.*) et (iii) des insectes volants éventuellement piégés en surface de l'eau lors d'un accès pour boire ou pondre. Cette étude ne tiendra pas compte de ces organismes terrestres dans l'analyse, qui seront éliminés du jeu de données.

En faisant ainsi un focus sur les Arthropodes aquatiques, nous obtenons une répartition par Classe selon la Figure 8.

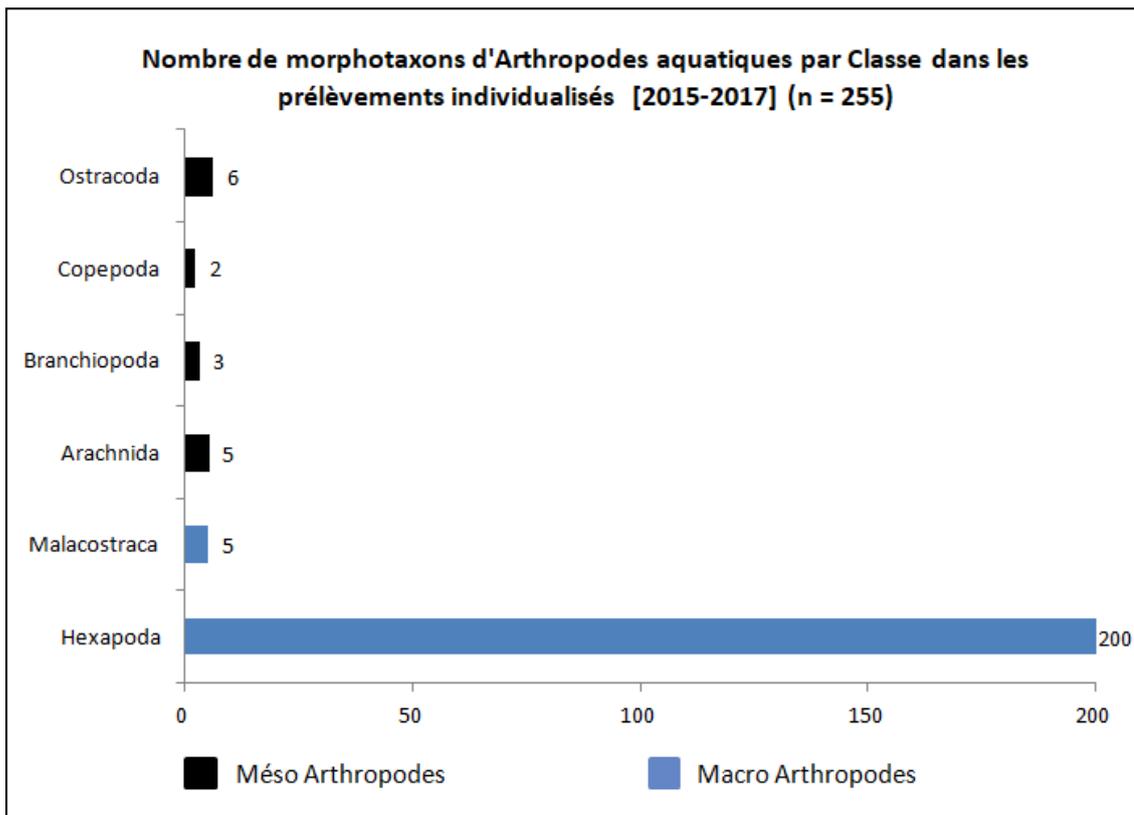


Figure 8: Répartition des morphotaxons aquatiques pour utilisation et base de comparaison ultérieure, par Classe, dans les prélèvements du biote animal des mares sur les années 2015 à 2017. Une distinction est apportée sur la taille des organismes.

Nous pouvons ainsi constater que parmi les Arthropodes, les Hexapodes sont majoritaires en nombre de taxons. La distinction entre méso et macro Arthropodes se fait sur la base de la taille des individus, avec une charnière à 2 millimètres. Le vide de maille du troubleau ayant servi aux prélèvements est de 1mm x 1mm, il est donc possible de récupérer des méso-Arthropodes dans la gamme haute des tailles, néanmoins, concrètement, il est constaté la présence de spécimens dont la taille est inférieure au millimètre, ces individus pouvant être bloqués par les végétaux obstruant en partie le fond de poche du troubleau. Pour exemple, les Copépodes et Ostracodes entrent totalement dans ce cas de figure, de même qu'une proportion des Branchiopodes et la plupart des spécimens d'Arachnides (Hydracariens).

Effet de la pression de collecte

Sur cette base, une synthèse du nombre de morphotaxons peut être faite pour les Arthropodes aquatiques des mares suivies, en séparant les organismes entrant dans chacune des deux catégories macro et méso Arthropodes (Tableau 1).

Tableau 1 : Répartition des morphotaxons aquatiques pour utilisation et base de comparaison ultérieure, par Classe, dans les prélèvements du biote animal des mares sur les années 2015 à 2017. Une distinction est apportée sur la taille des organismes.

	macro_2016	macro_2017	méso_2016	méso_2017
M01	57	35	7	7
M02	33	14	6	5
M04	32	27	10	3
M08	30	21	5	3
M09	21	30	1	1
M11	36	27	6	4
M12	44	37	7	3
M14	39	29	4	3
M15	42	15	3	2
M16	62	49	4	2
M17	22	31	4	3
M18	20	6	3	3

Un test de corrélation de Pearson appliqué aux deux groupes de tailles permet de comparer les deux années 2016 et 2017 (Figure 9 pour les méso-Arthropodes et Figure 10 pour les macro-Arthropodes).

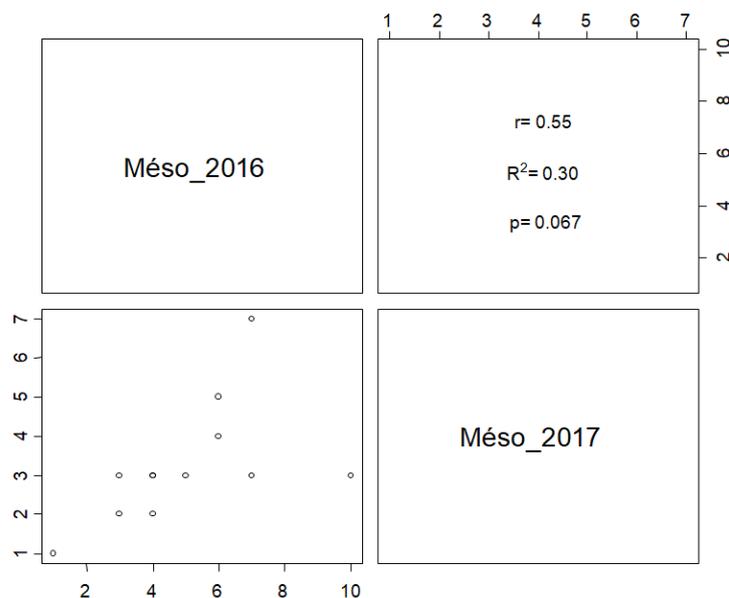


Figure 9 : Corrélation des années 2016 et 2017 sur la base des cohortes de méso-taxons prélevés.

Nous pouvons ici mettre en évidence que la richesse taxonomique en 2017 (en ordonnées) pour les méso-Arthropodes est inférieure à celle obtenue en 2016 (en abscisse), bien que peu différente, la corrélation étant moyennement élevée ($r=0,55$) mais n'est significativement pas différente entre les deux années 2016 et 2017 ($p = 0,067$). La méthode de 2016, dite pour rappel à forte pression car permettant de collecter exhaustivement les individus présents dans le relevé (considérant la mécanique de la capture), n'apporte néanmoins qu'une faible plus-value via cette cohorte de taxons "petite taille" relativement à l'effort de tri qui en découle, puisqu'au maximum dix taxons pour une des mares, sont collectés en 2016. Ce résultat est cohérent avec le fait que filet troubleau utilisé ne vise pas cette gamme de taille d'organismes, qui sont ainsi collectés plus par effet de bord, la méthode de collecte faible / forte pression n'a de fait que peu d'impact sur leur récupération. Ainsi, considérant que la méthode mise en place ne les vise pas directement et qu'ils représentent un total de 16 morphotaxons sur deux années, j'ai choisi pour les analyses de richesse taxonomique d'exclure les méso-Arthropodes.

Pour les macro-Arthropodes (Figure 10), la corrélation est plus élevée ($r = 0,63$), et est significative ($p = 0,029$).

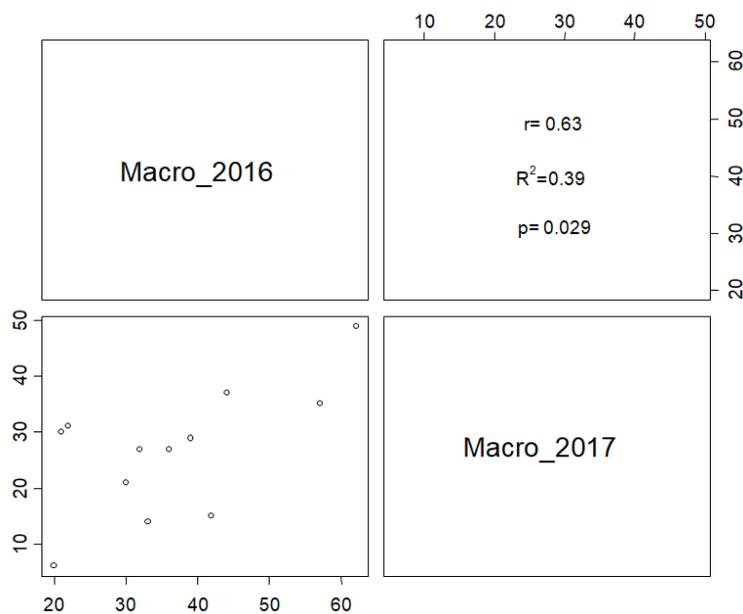


Figure 10 : Corrélation des années 2016 et 2017 sur la base des cohortes de macro-taxons prélevés.

Les différences observées ne peuvent par contre pas être formellement imputées à un effet année, un effet de méthodologie de collecte ou un effet cocktail de ces deux facteurs. Il m'est ainsi impossible de trancher entre les deux méthodes de collecte sur uniquement la base de cette analyse. Considérant que les temps de tri sous loupe binoculaire des échantillons de 2016 sont de 10h par mare en moyenne, contre 2h en appliquant la méthode de faible pression et que la richesse spécifique des macro-arthropodes estimé avec les 2 méthodes est significativement corrélée, le choix s'est porté sur l'application de ce dernier protocole.

Ne seront donc considérés que les 205 morphotaxons de macro Arthropodes regroupant les Hexapodes et les Malacostracés. Les méso-Arthropodes pourraient néanmoins être pris en compte dans analyse de réseaux trophiques, dans une version plus complète de la guildes des Arthropodes aquatiques de mares, ce qui ne sera pas abordé dans cette partie du projet.

En cherchant une caractérisation plus précise des Hexapodes, la répartition de ces morphotaxons par Classe (Figure 11) mise en relation avec les connaissances de la faune française apporte des réflexions intéressantes quant à la notion même des morphotaxons.

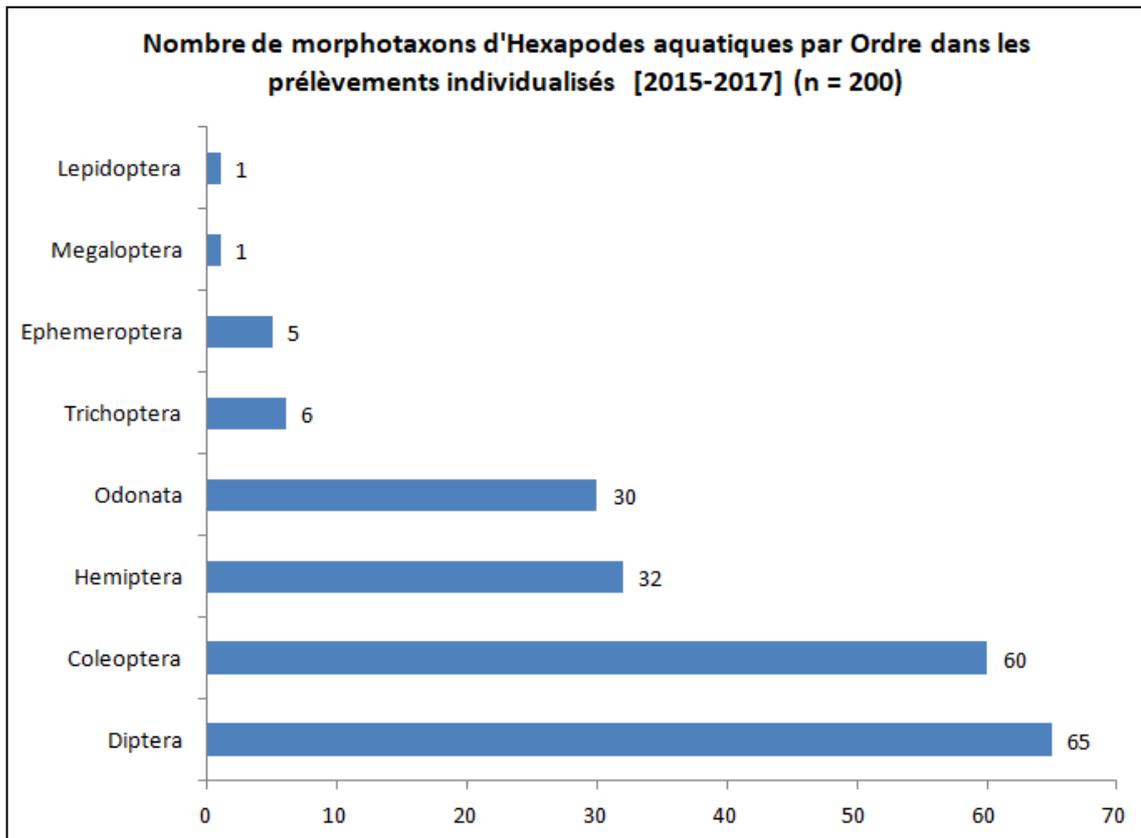


Figure 11 : Répartition des morphotaxons aquatiques pour utilisation et base de comparaison ultérieure, par Classe, dans les prélèvements du biote animal des mares sur les années 2015 à 2017. Une distinction est apportée sur la taille des organismes.

Nous observons 60 morphotaxons de Coléoptères. Actuellement, le catalogue des Coléoptères de la région Parisienne recense 260 espèces regroupées dans 16 Familles (Queney, 2016). Cet ouvrage traite de la zone géographique comprenant les départements franciliens ainsi qu'une portion de l'Aisne et de l'Oise, telle qu'en est la notion pour ses catalogues régionaux depuis 1989 de l'association Acorep-France (anciennement Acorep). Il apparaît une grande représentation pour cet Ordre par rapport à une zone géographique pour laquelle on a une connaissance relativement précise mais surtout récente. Néanmoins, cet ouvrage de référence s'appuie sur des identifications morphologiques d'adultes collectés, identifiés à l'espèce sur la base de critères tels que les édéages des mâles quand besoin cela s'avère nécessaire. Nous avons dans notre étude accès à une grande proportion de Coléoptères aux stades larvaires, pour lesquels l'accès à l'espèce est souvent impossible de par l'absence de clef d'identification adéquate.

Ceci est aussi particulièrement perceptible pour l'Ordre des Odonates, pour lequel nous obtenons 30 morphotaxons, sachant que 63 espèces sont répertoriées en Île-de-France

à l'heure actuelle (<http://observatoire.cettia-idf.fr/taxon/odonates/atlas>), en regroupant les espèces de milieu lentique et lotique. Nous avons de même que pour les Coléoptères une limite matérielle et référentielle ne permettant pas la discrimination spécifique des taxons sur les juvéniles des relevés, certains critères, tels la présence et nombre de pointes, étant évolutifs au cours du développement. Il est parfois créé en toute bonne foi des morphotaxons pour des individus morphologiquement objectivement différents, mais appartenant parfois en réalité à la même espèce.

Nous avons de fait pour ces deux Ordres un effet de surestimation du nombre de taxons en cas d'affectation à des morphotaxons de spécimens à des stades différents.

Pour les Diptères, les occurrences sont toutes des larves et des nymphes. Les éventuels adultes obtenus dans les relevés, étant des organismes mobiles car aptes à voler, et donc potentiellement non liés à la mare, sont considérés comme terrestres et n'ont pas été pris en compte dans l'analyse. Pour les larves et nymphes de cet Ordre, il est extrêmement délicat d'avancer plus loin que la sous Famille avec les clefs d'identification existantes. Nous aboutissons ainsi dans ce cas d'une part à une sous appréciation du nombre de taxons au sein des larves, de même que pour les nymphes notamment chez les Chironomidae (Figure 12). D'autre part, il y a très probablement un effet de surestimation du nombre de taxons si on mélange ces deux grands états de développement, certaines nymphes étant du même taxon que certaines larves trouvées, mais considérées comme des morphotaxons séparés. L'approche morphologique ne permet actuellement pas de prédire lequel de ces deux effets est prépondérant pour l'Ordre des Diptères.



Figure 12 : Deux stades de Chironomidae, larve vivante (à gauche), nymphe conservée dans de l'éthanol (à droite).

Par ailleurs, quelques remarques peuvent être faites sur la base de la comparaison des effectifs des macro-Arthropodes récoltés (Figure 13) avec le nombre de morphotaxons rencontrés sur la période d'étude (Figure 14).

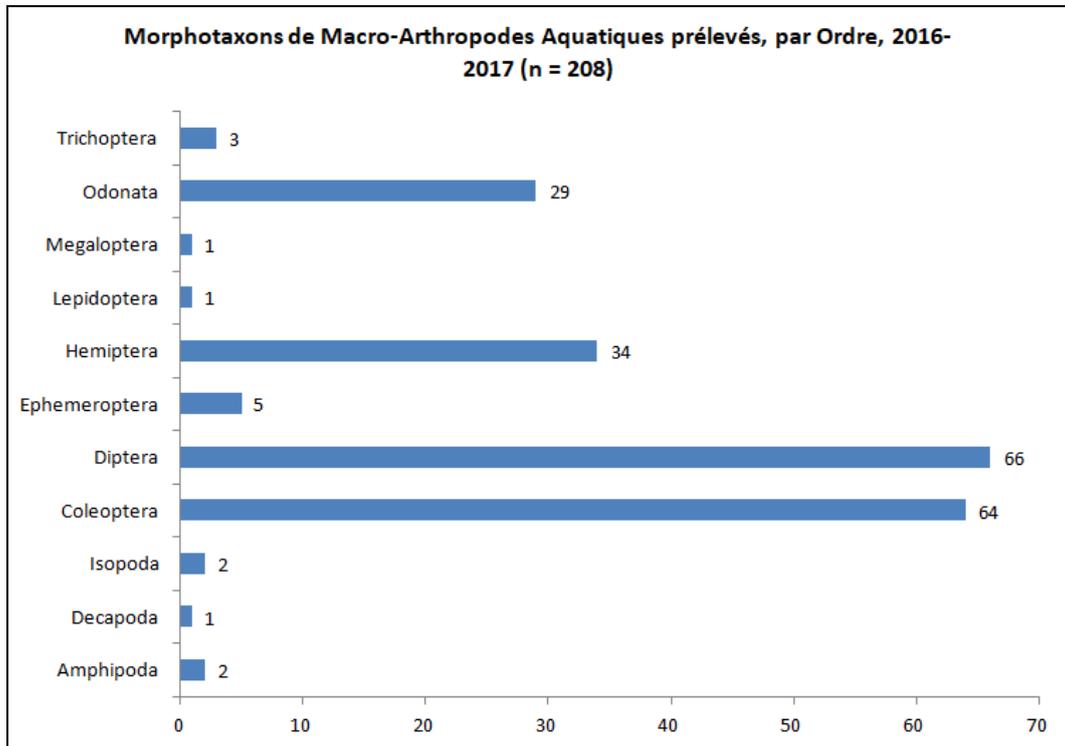


Figure 13 : Répartition des morphotaxons de Macro-Arthropodes aquatiques répartis par Ordre sur les deux ans d'étude.

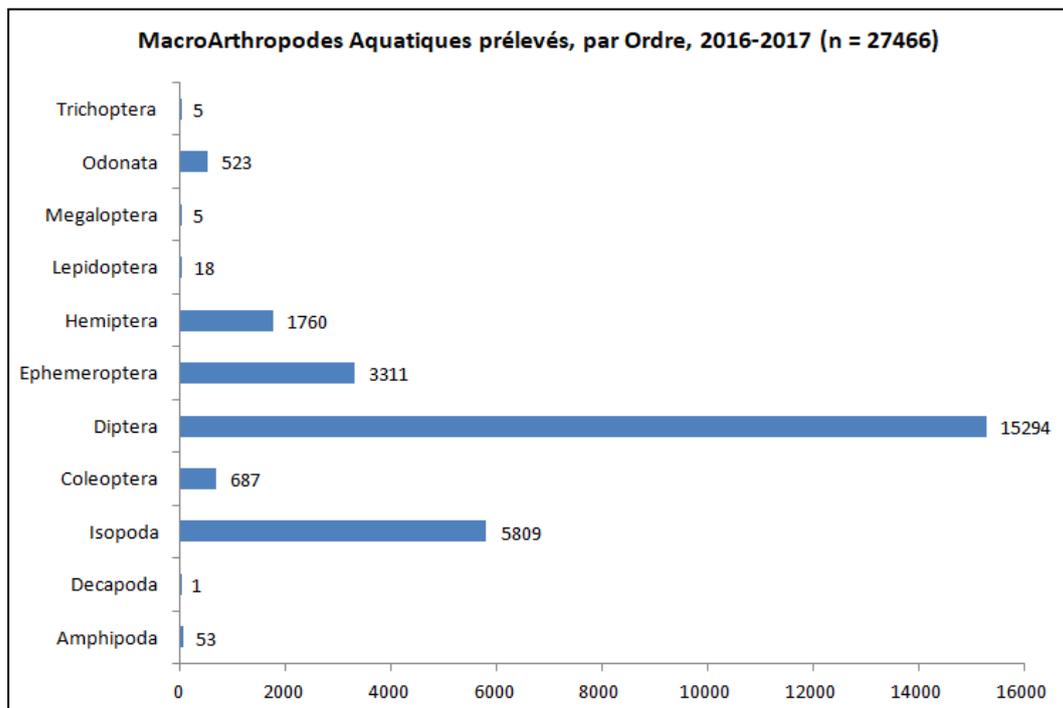


Figure 14 : Répartition des abondances de Macro-Arthropodes aquatiques répartis par Ordre sur les deux ans d'étude (morphotaxons et non référencés).

Ces deux graphes nous montrent que si numériquement les Coléoptères sont peu représentés, ils offrent un grand nombre de taxons détectés. Pour rappel, sur Terre, cet Ordre est actuellement considéré comme le plus divers spécifiquement. En France métropolitaine, Corse comprise, sur les 40291 espèces d'Insectes présentes, 11675 sont des Coléoptères soit près de 29%, les Diptères représentent près de 22 % des espèces avec 8715 espèces référencées à ce jour dans la base TaxRef v12 (novembre 2018) de l'INPN (Annexe 3). Ces chiffres prennent en compte uniquement les taxons reconnus présents en France, incluant les introduits établis et occasionnels, mais excluant les taxons considérés comme signalés par erreur ou éteints voire disparus sur le territoire. En comparaison, nous rencontrons quasiment le même nombre de morphotaxons pour les Diptères sur ces deux années, mais avec un effectif collecté plus de 22 fois supérieur.

Les méthodes génomiques abordées dans les chapitres suivants ont pour objectif entre autres de nous permettre d'affiner les connaissances sur le nombre de taxons réellement présents dans les échantillons.

Effet du nombre de campagnes de prélèvement et leur saisonnalité

Lors de la première campagne de prélèvement de 2015, pour déterminer la meilleure stratégie en termes de nombre et dates de prélèvements nous avons mis en place quatre campagnes sur l'année. Les méthodes les plus classiques proposent soit une session unique correspondant à la période de l'été, soit une session printanière et une automnale. Les relevés selon la méthode de tri à vue sur le terrain suivi d'une identification en laboratoire nous ont apporté suffisamment de matière pour faire une analyse factorielle (Figure 15). Cette analyse met en évidence un recouvrement des taxons retrouvés sur une séquence englobant la période estivale. Le recouvrement est très fort sur les deux visites de fin mai et début juillet, mais nettement moins fort avec celui d'octobre. Celui de septembre est quant à lui intermédiaire et présente peu de taxons qui lui sont propres. Considérant que chaque session de prélèvement provoque une perturbation dans le biotope, même sans compter la perte en individus qu'elle représente, le choix a été fait de ne passer que deux fois dans l'année pour limiter les perturbations sur les mares. Nous avons ainsi choisi de ne pratiquer dorénavant que deux relevés, un en fin juin / début juillet et un en fin septembre /

début octobre, ce qui devrait permettre d'avoir accès à une représentation taxonomique optimale des mares en minimisant l'impact sur celles-ci.

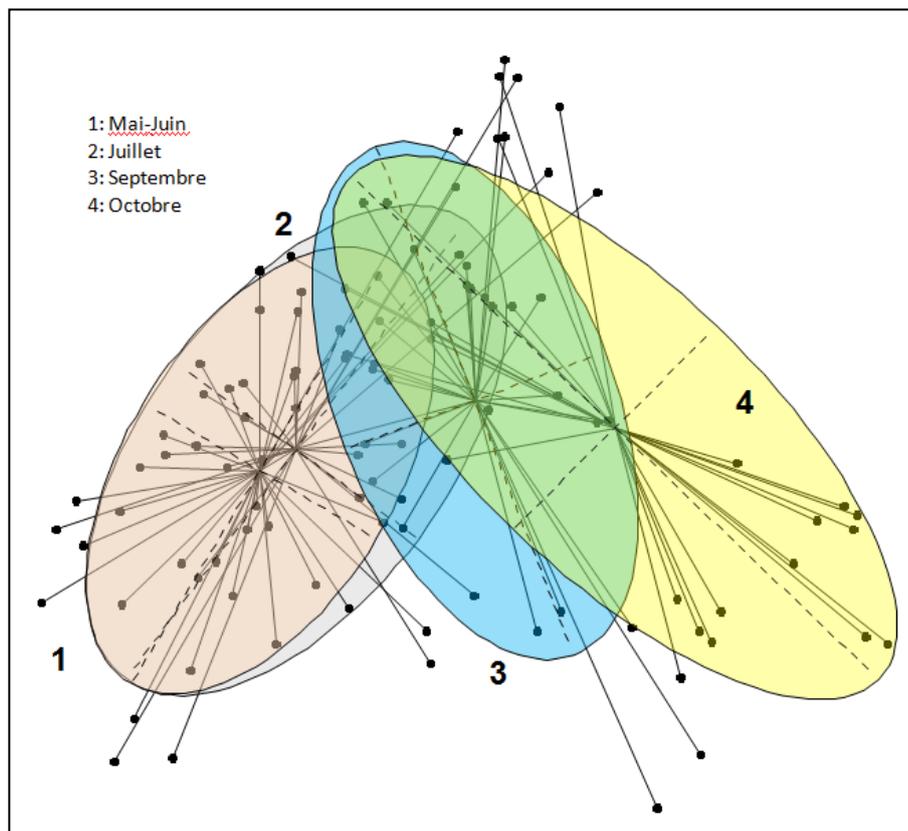


Figure 15 : Analyse factorielle de la composition taxonomique des mares lors de 4 périodes de passage de 2015. Ce graphe représente sous forme d'une ellipse par session la distribution des différences de composition taxonomique des relevés pour chaque mare (Chiron, com. pers.). Les points représentent les taxons et les traits de chacun d'eux les relient au barycentre de l'ellipse.

En se recentrant sur la période de l'étude, à savoir actuellement les quatre campagnes C1, C2, C3 et C4, correspondant aux prélèvements des printemps et automnes de 2016 et 2017, nous obtenons des effectifs de collectes globales et identifications aux morphotaxons et aux pseudo-morphotaxons de 62749 spécimens (Annexe 4). Ce biote récolté est composé pour moitié de méso-Arthropodes, du fait de la présence en nombre parfois extrêmement important de daphnies (Annexe 5) pour certaines mares.

IV - Séquençage individuel du CO1 en vérification des identifications morphotaxonomiques et validation de l'outil BOLD pour le projet

Afin de vérifier que les identifications faites morphologiquement sont cohérentes avec la réalité taxonomique et que la base de référence BOLD (Ratnasingham and Hebert, 2007), qui était envisagée comme l'outil à utiliser, est à ce jour utilisable dans l'optique d'identifier des organismes aquatiques français, une session de séquençage individuel des premiers morphotaxons a été menée.

L'utilisation d'une méthode d'identification moléculaire permet notamment de:

- contrôler d'éventuelles erreurs d'identification faites par l'approche morphologique,
- vérifier la pertinence du regroupement en morphotaxons,
- affiner l'identification des spécimens à l'état larvaire ou nymphal pour lesquels les clefs morphologiques sont inexistantes ou au mieux partielles et difficiles d'accès,
- créer une base de données locale de séquences (laboratoire EGCE) de référence des taxons présents dans nos sites d'étude,
- contrôler la présence des séquences des spécimens de notre étude dans la base BOLD (Curry et al., 2018), choisie comme référence par nos partenaires de l'UMR EGCE,
- permettre de tester les limites et la présence de potentielles erreurs dans la base BOLD.

Parmi tous les gènes identifiés chez les Arthropodes à ce jour, le choix de l'étude s'est porté sur le séquençage de deux courtes séquences d'un gène du génome mitochondrial reconnu présent chez tous ces organismes et qui possède une variabilité suffisante pour individualiser la grande majorité des espèces. Ce gène d'intérêt est la sous-unité principale CO1 (Cytochrome c Oxydase subunit I) du complexe de la Cytochrome c Oxydase, qui est celui généralement utilisé chez les animaux pour effectuer des analyses de code barre génétique (Paul D.N. Hebert et al., 2003).

Protocole de barcoding individuel

Le jeu de données se compose à ce jour de 353 entrées comprenant :

- les 154 entrées consignées regroupant (i) 44 entrées d'organismes à d'autres Phylums que les Arthropodes, (ii) 56 nouveaux morphotaxons qui n'ont pas subi de séquençage individuel du CO1 car collectés après l'arrêt de cette méthode dans notre étude et (iii) 54 entrées d'organismes n'ayant pas permis de conserver au moins un spécimen pour créer un morphotaxon dans un microtube (= pseudo-morphotaxons). Ces entrées ne sont pas soumises au travail de ce chapitre.
- les 199 morphotaxons d'Arthropodes restants, entrent dans l'étude de ce chapitre et ont été identifiés morphologiquement. Pour ceux-ci, un échantillon a été conservé dans un microtube d'éthanol 99%. Cet échantillon a de plus subi une seconde identification, via un séquençage d'une portion du gène CO1. Ils correspondent aux Arthropodes prélevés jusqu'à la campagne de printemps 2016, qu'ils soient aquatiques (74 références) ou terrestre (25 références) sans distinction de taille, les méso-Arthropodes seront ici pris en compte.

Ce travail de séquençage de deux portions du gène CO1 via deux couples d'amorces génériques Arthropodes a été réalisé par des collègues de l'UMR 9191 EGCE. Il a entre autres buts d'élaborer une banque de référence locale des taxons et ainsi à préparer l'analyse ultérieure en metabarcoding qui est présentée dans le chapitre suivant. Selon l'organisme à étudier par cette méthode, le mode opératoire a été adapté en fonction de la taille et du nombre de(s) spécimen(s) de référence, afin de pouvoir conserver leur utilité de comparaison ultérieure et de contrôle éventuel.

1. Pour chaque morphotaxon de taille supérieure à 5 mm, même unique, la partie à prélever (pattes, fourreaux alaires, etc.) a été explicitement définie par spécimen en amont, afin de limiter au maximum sa détérioration.
2. Pour les morphotaxons de taille inférieure à 5 mm, trois techniques ont été mises en place :

- Dans le cas où le morphotaxon contient un individu unique, une méthode par trempage a été utilisée pour récupérer de l'ADN, ce qui permet de sauvegarder l'intégrité physique du spécimen, mais augmente le risque d'échec de l'amplification par PCR.

- Si plusieurs spécimens étaient affectés au même morphotaxon (la série de spécimens est toujours issu d'un unique prélèvement d'une mare), un, voire plusieurs spécimens ont été utilisés *in toto*.

- Une troisième technique a été appliquée, avec comme objectif d'amplifier l'ADN présent dans l'éthanol dans lequel baigne le morphotaxon, protocole testé avec succès par Hajibabaei (Hajibabaei et al., 2012).

Comme présenté dans la section du projet axée sur les morphotaxons, les outils d'identifications permettent rarement de proposer un nom d'espèce face à un stade juvénile / larvaire de macro-Arthropode. La comparaison des noms proposés par les deux méthodes nous permettra ici de vérifier le bienfondé de l'utilisation du système de référence choisi.

Plusieurs cas de figures peuvent alors se présenter dans l'issue de ce séquençage complété par la comparaison des séquences à celles présentes dans le référentiel BOLD (Barcode Of Life Data System). La liste de noms issus des retours d'analyse de séquences est alors comparée aux noms proposés suite à l'identification morphologique. J'ai alors attribué une catégorie d'apport de la méthode de barcoding en évaluant l'éventuel gain sur le grain d'identification fait morphologiquement au préalable dans le cadre de notre étude. Les issues sont alors classées en plusieurs statuts.

Sont considérés comme une **amélioration** à la morphotaxonomie les cas suivants :

- la proposition de nom suite au séquençage donne un rang taxonomique plus bas que celui issu de l'analyse morphologique
- la proposition est un multiplet de taxons considérant que les proximités de noms proposés ne permettent pas de trancher, mais ces propositions sont intra-génériques, et de rang plus bas que celui issu de l'identification morphologique,

Est considéré comme une **correction** à la morphotaxonomie le cas suivant (qui aurait également pu être considérée comme amélioration) :

- la proposition de nom suite au séquençage donne un niveau taxonomique identique au rang taxonomique issu de l'analyse morphologique, mais la vérification de l'échantillon permet de confirmer une erreur dans l'identification morphologique

Sont considérés comme une **confirmation** à la morphotaxonomie les cas suivants :

- la proposition de nom suite au séquençage donne un niveau taxonomique identique au rang taxonomique issu de l'analyse morphologique
- la séquence est une proposition spécifique sous réserve, sans pouvoir ici encore trancher de manière ferme

Sont considérés comme une **dégradation** à la morphotaxonomie les cas suivants :

- la proposition de nom suite au séquençage donne un niveau taxonomique moins fin que le rang taxonomique issu de l'analyse morphologique
- la séquence est inexistante dans BOLD, quelle que soit l'identification morphologique faite
- la séquence est illisible
- la séquence est non amplifiée
- la séquence est contaminée

Résultat du barcoding individuel

La représentation en brut des quatre statuts sur les échantillons classés par Ordres (Figure 16) permet de constater que cette méthode de barcoding individuel du gène CO1 apporte une réelle amélioration dans le dénombrement des taxons présents. Conformément au nombre de spécimens par ordre rencontrés, la plus-value porte essentiellement sur les Ordres des Coleoptera, Diptera, Hemiptera et Odonata.

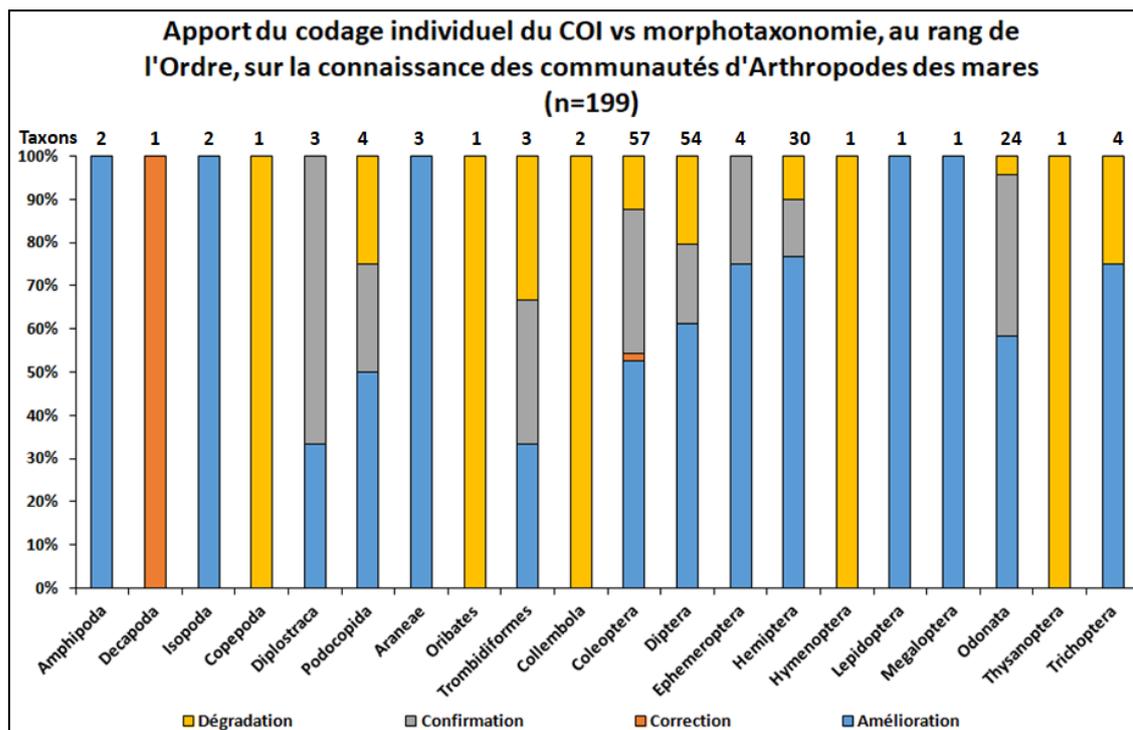


Figure 16 : Ratios des statuts d'apport sur les noms via le séquençage du CO1, par Ordre d'Arthropodes récoltés sur 2015 et première campagne 2016.

Ces Ordres sont trouvés à l'état de larves et nymphes (Diptera), larves et adultes (Coleoptera), juvéniles et adultes (Hemiptera) et juvéniles (Odonata). La question de l'apport du séquençage peut ainsi se poser aussi au niveau des stades des individus traités (Figure 17), les clefs d'identification étant pour rappel essentiellement adaptées pour les spécimens adultes.

Il s'avère que l'amélioration du grain d'identification est vraie pour tous les stades de développement des organismes rencontrés lors des campagnes de 2015 et celle du début 2016, sur lesquelles porte l'application de ce protocole. Ce protocole est de plus majoritairement efficace pour les stades pré-imaginaux, comme anticipé relativement aux outils utilisés et à mes connaissances personnelles, étant coléoptériste.

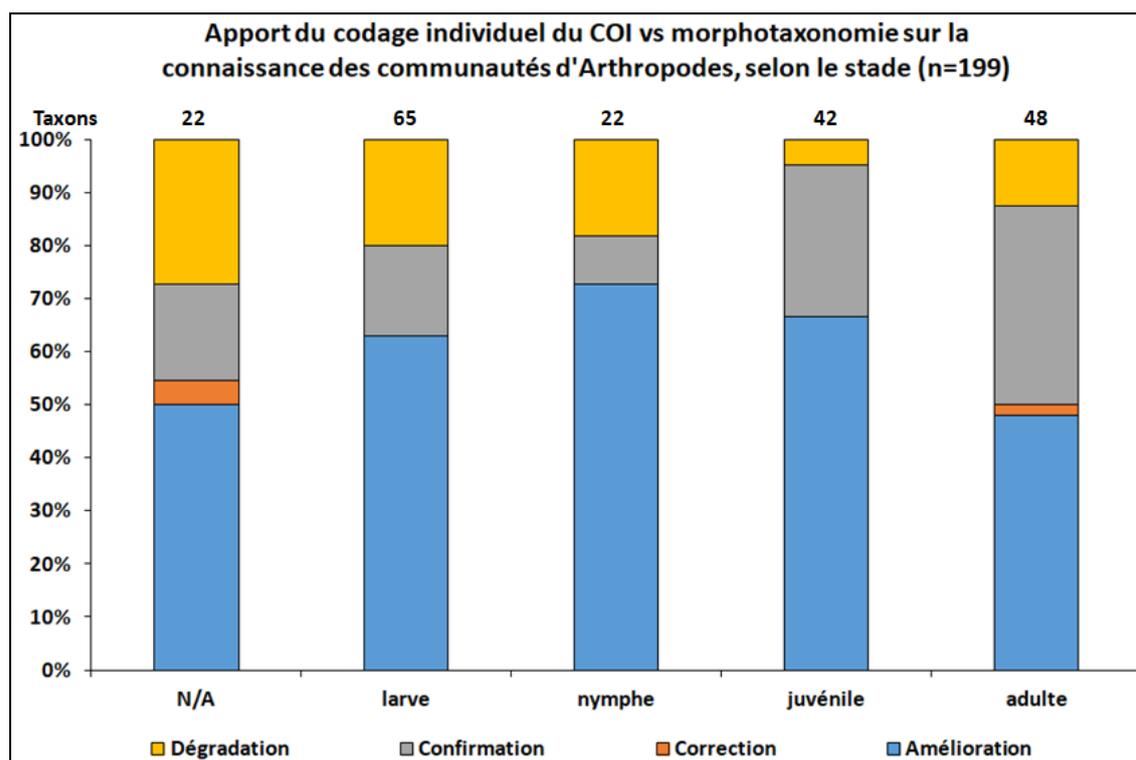


Figure 17 : Effectif des statuts d'apport sur les noms via le séquençage du COI, par stade de développement des Arthropodes récoltés sur 2015 et première campagne 2016. La catégorie N/A (Non Affecté) représente les individus pour lesquels le stade n'a pas été renseigné ou non affectable.

Une observation des propositions faites suite au séquençage et à la confrontation à la banque de données BOLD permet de plus d'identifier les écarts liés aux spécimens. En effet, j'ai précédemment compilé sous le statut de dégradation les retours de séquence illisibles, inconnues de BOLD, non amplifiées, et contaminées. Qu'en est-il numériquement de ces séquences et quelles sont en réalité les constituants de la liste proposée ?

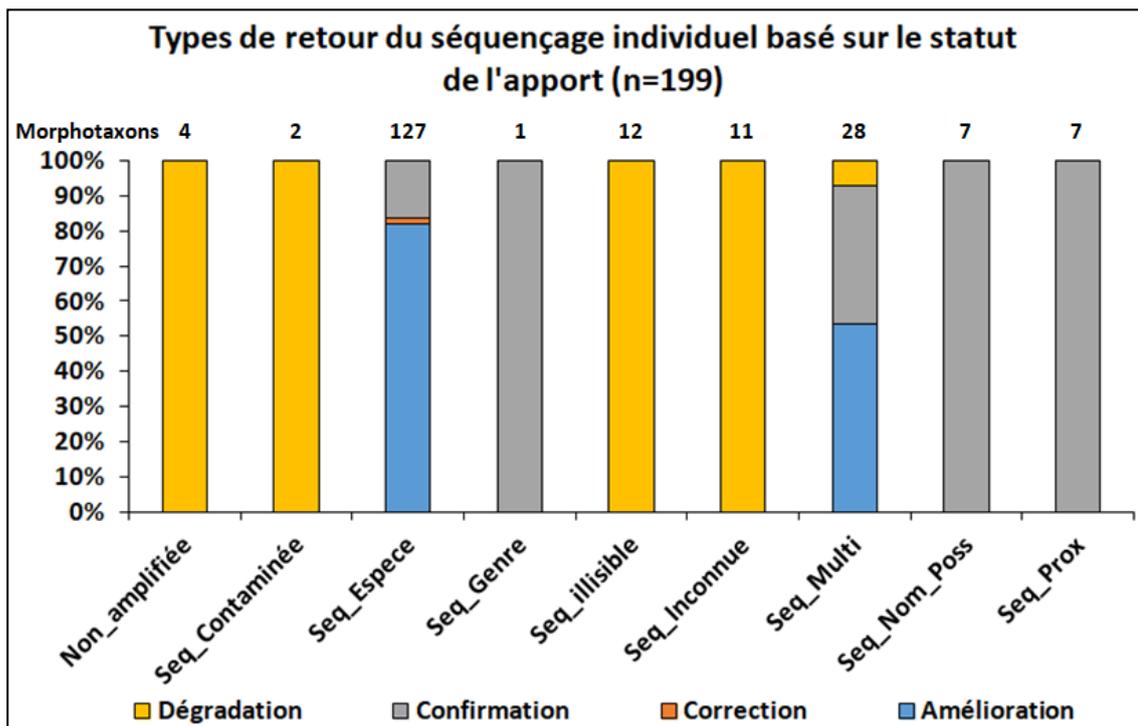


Figure 18 : Types de qualités de séquences suite à codage individuel du CO1 sur les Arthropodes prélevés dans les mares lors des campagnes de 2015 et de la première campagne de 2016.

Ceci permet de confirmer que les séquences proposées à partir de nos échantillons trouvent une occurrence au rang taxonomique spécifique dans la base de référence BOLD dans la majorité des cas. Ceci apporte une amélioration dans la connaissance des communautés présentes comparativement à la morphotaxonomie. Dans les cas où il existe une proposition de plusieurs espèces, elles sont le plus souvent intra-génériques, et cela apporte une fois encore une amélioration dans l'identification.

La présence de cas pour lesquels les propositions sont de type multiple (Seq_Multi), inconnue (Seq_inconnue), proche de la séquence proposée sans pouvoir y être rattaché formellement (Seq_Nom_Poss) ou assez proche pour que le nom d'espèce soit proposé par mes collègues avec une annotation de doute (Seq_Prox) donne une information non négligeable sur la base de référence. D'une part, elle est encore incomplète à ce jour, ce qui paraît normal considérant le nombre d'organismes vivant sur Terre. D'autre part, dans la mesure où une séquence remonte avec plusieurs noms, il est possible qu'on ait une forte variabilité intra-spécifique sur le CO1 pour certains taxons, mais nous ne pouvons exclure la possibilité qu'il y ait des erreurs dans les identifications des organismes ayant servi de référence dans BOLD.

A noter une information qui ne transparait pas dans les graphiques présentés, à savoir que pour neuf des morphotaxons qui comprenaient plusieurs spécimens dans le microtube, le séquençage du CO1 a été opéré sur plusieurs des spécimens en référence. Pour sept références d'entre elles, il s'agit de larves de Diptères, et parmi celles-ci, une seule référence comporte deux taxons distincts selon le référentiel BOLD. La méthode morphotaxonomique comporte bien des limites quant à la discrimination des espèces. De plus, deux références de larves, au même stade, de Chaoboridae, qui sont fortement différentes morphologiquement, remontent avec le même nom d'espèce. Nous sommes *a priori* ici face à un cas avéré de variabilité morphologique au sein d'une espèce.

Conclusion sur l'apport du barcoding individuel

Etant donné que la base BOLD est en constante évolution et sera toujours incomplète, l'apport de l'application de ce protocole réside en la confirmation que la morphotaxonomie est suffisante pour accéder à une représentation des communautés des mares sous réserve de ne pas vouloir descendre au rang spécifique dans les identifications. De plus, cette méthode permet de lever des doutes pour certains taxons.

Cette méthode génère encore une frange de résultats inexploitable, qu'il faut peut-être rattacher à un état parfois imparfait des échantillons, qui peuvent être dégradés, malgré l'attention portée au conditionnement et à leur conservation. Il en va de même pour les deux cas de contamination.

Bien que cela ne soit pas dans le cadre de ce projet, il est important, dans notre gestion des données à venir, et dans la mesure où certaines identifications optiques sont totalement fiables face à des individus adultes, de participer à l'enrichissement de la base de référence. Ceci peut se faire en rendant les données publiques.

Dans la pratique, il est inconcevable pour des raisons pratiques et budgétaires de proposer un séquençage individuel de tous les spécimens récoltés. Quel serait de plus l'intérêt de vouloir de mettre en œuvre un protocole nécessitant un tel effort ? Par contre, pourrions-nous envisager qu'une méthode de séquençage de masse du CO1 telle que le metabarcoding soit une solution acceptable pour obtenir une bonne représentation des communautés d'Arthropodes existants dans les mares ?

V - Protocole de Metabarcoding pour la représentation taxonomique des communautés d'Arthropodes issus des collectes en mares

Une approche plus globale et rapide pour l'obtention d'une liste taxonomique de présence des organismes dans les mares a été mise en place. Elle consiste en la collecte des Arthropodes des mares, telle que décrite dans les chapitres précédents, mais les échantillons suivent ensuite un traitement par metabarcoding (Taberlet et al., 2012), c'est-à-dire une méthode moléculaire analysant simultanément les séquences d'un grand nombre d'individus. Si ce protocole offre de bons résultats, il serait dans ce cas inutile de procéder, à l'avenir, à de l'identification morphologique pour accéder à une richesse taxonomique des mares suivies. L'objectif est ici à mon niveau d'implication dans le début du protocole d'anticiper les éventuels masquages et inégalités dans les quantités d'ADN extraits par des taxons fortement représentés par leur nombre ou leur taille.

Protocole du metabarcoding

Pour cette partie du projet, les organismes issus de la collecte sont séparés en lots, Arthropodes et non Arthropodes. Seuls les Arthropodes seront soumis au traitement de metabarcoding (MB). Afin d'éviter de surreprésenter les spécimens les plus gros (Elbrecht et al., 2017) ou les plus nombreux, ces Arthropodes, qu'ils soient aquatiques ou terrestres, sont ensuite répartis par gamme de taille et éventuellement par taxons comme suit :

- Organismes de taille inférieure à 5 mm (lot A)
- Organismes de taille comprise entre 5 et 15 mm (lot B)
- Pattes (2 à 3 selon la taille) des organismes de plus de 15 mm, mis dans le lot en fonction de la taille de celles-ci (lot A ou lot B)

Néanmoins, si l'effectif de certains organismes est initialement perçu dans le pool global comme supérieur à 50 individus, ceux-ci sont isolés en échantillons indépendants

des lots par taille. Ceci a été appliqué aux taxons suivants : Branchiopodes, Chironomidae, Chaoboridae, Asellidae. Le filtre lié au milieu de vie sera appliqué à la restitution de la liste des noms proposés.

La suite opérationnelle du protocole est faite par des collègues de l'UMR 9191 EGCE. Cette méthode consiste à analyser simultanément par séquençage haut-débit tous les spécimens d'un échantillon. La résultante de leur travail est une liste de taxons créée sur la base d'OTU (Unité Taxonomique Opérationnelle) proposés suite à une comparaison des séquences produites avec le référentiel BOLD. Cette liste est donc constituée de noms qui sont formellement identifiés, sachant que pour attribuer les séquences à une espèce, nous avons utilisé le seuil standard de 3% de divergence (Paul D. N. Hebert et al., 2003), et de noms qui sont proposés avec un confiance moindre, comme étant des organismes proches, voire sans affectation nominale en cas d'absence de séquence proche dans la base de séquences BOLD.

Cette liste est ensuite analysée en vérifiant la cohérence de présence sur la base des connaissances actuelle de la répartition géographique de chaque nom de taxon proposé. Ceci implique l'utilisation de bases de connaissances telles que l'INPN (<https://inpn.mnhn.fr/accueil/index>, avec l'extraction sous la forme d'une table), Fauna Europaea (https://fauna-eu.org/?no_redirect=1) et la vérification dans BOLD de l'origine des spécimens ayant été séquencés. Les ouvrages papiers à ma disposition sont la plupart du temps inadaptés pour cet aspect répartition géographique.

Dans un premier temps, la campagne de prélèvement C1 de fin de printemps 2016 a servi de test comparatif. Les individus collectés ont été identifiés morphologiquement, puis remis en lots à l'exception des spécimens mis en référence morphotaxonomique. Dans ce cas, si la taille le permettait, un appendice a néanmoins été placé dans le flacon adéquat afin d'obtenir une trace potentielle dans la liste issue du traitement MB. Les spécimens des campagnes suivantes ont aussi suivi le même protocole initial, mais ont été traités ensemble pour vérifier les correspondances avec les morphotaxons fournis dans les lots, tout au moins dans ce manuscrit.

Par ailleurs, les organismes ont été identifiés morphologiquement avant d'être mis en lots. Cette liste peut elle aussi être comparée à la liste issue du MB. Nous attendons par la méthode MB un affinage de la perception des communautés animales vivant dans les points d'eau.

Résultats de l'analyse de la liste issue du metabarcoding

La phase préliminaire en test a permis de vérifier la cohérence de la première liste proposée en MB, en la comparant à la liste des morphotaxons. L'objectif visait à (i) retrouver, *a minima*, les espèces identifiées en amont de la phase de MB, (ii) obtenir un grain plus fin pour les spécimens non adultes présents dans les relevés, souvent identifiés à un rang supérieur, sachant que nous avons établi que le séquençage du CO1 offrait un avantage pour ces cohortes.

La liste brute (Figure 19) des taxons, regroupée par Familles, montre une forte amélioration en termes de nombre d'espèces proposées, principalement imputable à la famille des Chironomidae. Les larves et nymphes de cette famille sont effectivement numériquement très nombreuses, et les critères de distinction sont actuellement très difficiles à apprécier pour un œil non expert. Les critères spécifiques sont essentiellement sur la capsule céphalique, ce qui couplé à l'absence d'outil de systématique synthétique sur larve, entraîne une mise en application jugée inadapté relativement à l'objectif de l'étude. Le nombre de morphotaxons issus de l'identification optique est au mieux au rang du Genre, le plus souvent au rang de la sous-Famille. Cela implique que le nombre de morphotaxons est une sous-évaluation du nombre de taxons réels. Cela entraîne que le recours à des outils de type génomique est actuellement le moyen le plus adapté pour apprécier une richesse taxonomique, qui même en ne proposant pas de nom d'espèce, permet de visualiser des différences de séquences, qui au-delà d'une valeur seuil, peuvent être interprétées comme une occurrence de taxons différents. A noter que les références de séquences de la base de référence BOLD semblent souvent faites sur des individus adultes, pour lesquels des clefs existent, même si leur identification reste délicate.

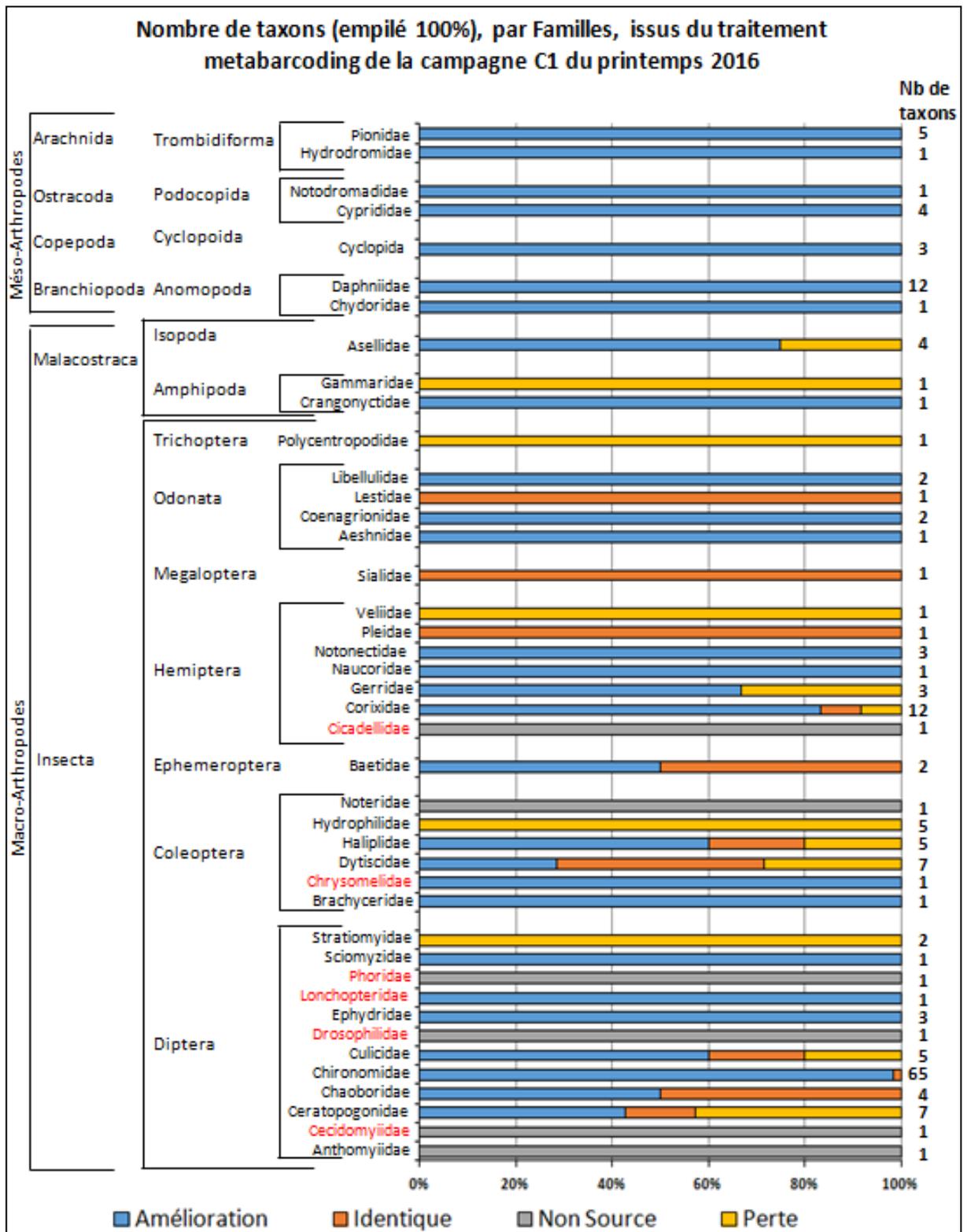


Figure 19 : Taxons, par Famille, issus du traitement par metabarcoding de la campagne C1 (2016) de prélèvements d'Arthropodes prélevés dans les mares. Données brutes sans filtre sur le milieu de vie des organismes.

Une comparaison du nombre de morphotaxons et du nombre de taxons / OTU (Figure 20) peut alors être discutée.

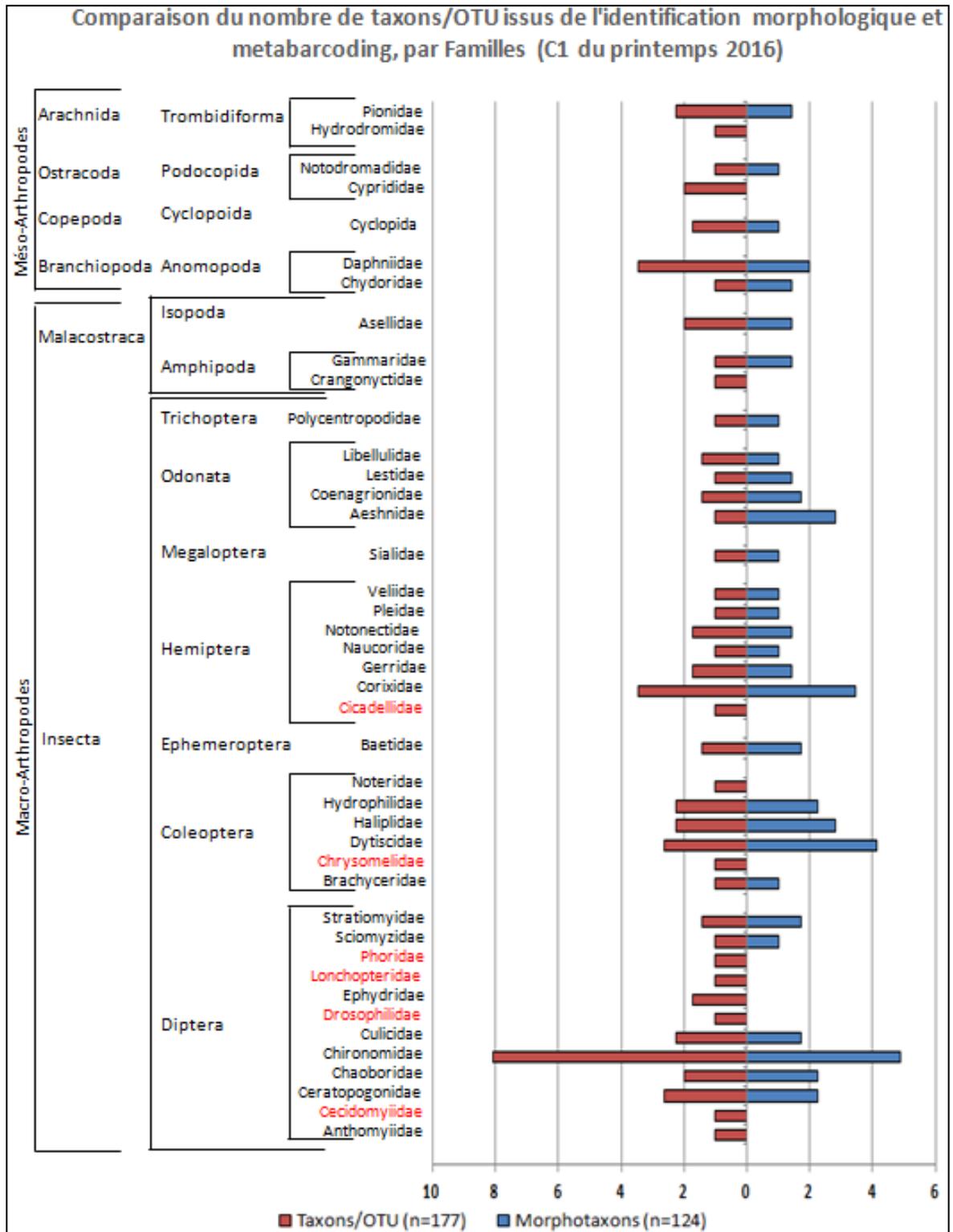


Figure 20 : Comparaison des richesses (morpho) taxonomiques des Arthropodes aquatiques collectés dans les mares lors de la campagne C1 avec le nombre de taxons / OTU proposé suite à un metabarcoding sur ces mêmes spécimens. Les Familles en rouges sont *a priori* terrestres et non aquatiques. Les valeurs ont subi une transformation de type racine carrée.

Cette représentation graphique permet de mettre en évidence une relativement forte surestimation des morphotaxons par rapport à ce qui est retourné comme taxons via le metabarcoding pour les Dytiscidae, Aeshnidae et Haliplidae. Ceci peut s'expliquer par la différenciation morphotaxonomique d'organismes de la même espèce, mais à des stades de développement différents, comme mentionné dans les chapitres précédents. D'autre part, la mise en évidence du phénomène opposé, c'est-à-dire une sous-estimation du nombre de taxons présent suite à une identification optique, pour la famille des Chironomidae, mais plus généralement l'Ordre des Diptera, ainsi que l'Ordre des Hemiptera et la plupart des méso-Arthropodes, déjà mentionné dans les chapitres précédents, est confirmée. Le metabarcoding visant à travailler sur un échantillon de masse, il apparaît de plus cinq familles signalées en rouge, qui sont des organismes terrestres. Pour certains, nous pouvons supposer que des représentants des taxons sont effectivement présents dans les lots en tant qu'individus, par exemple, la chrysomèle citée dans les OTU est une altise présente sur les Iris en bord de mare. Pour d'autres, il m'est plus délicat de trancher, mais il est aussi possible que certains taxons ne soient détectés que par un effet de chaîne trophique, si le bol alimentaire d'espèces prédatrices est suffisamment volumineux.

Par ailleurs, en confrontant ces deux graphes, il apparaît que le séquençage apporte peu d'amélioration à l'identification morphologique pour les Ordres des Coléoptères et des Odonates et pour certaines familles d'Hétéroptères, bien que le nombre d'OTU soit réduit ou identique au nombre de morphotaxons. Hormis les limites déjà mentionnées liées au stade, il apparaît que la méthode d'identification morphologique permettrait d'obtenir une bonne représentation des taxons de ces groupes dans les mares, sous réserve de se baser uniquement sur les adultes (Coléoptères et Hémiptères) pour lesquels de bons outils d'identification existent et avec une base renforcée de morphotaxons avec différentes tailles (= stades) pour les Odonates.

Un poster (Annexe 6) avec les premiers résultats de la campagne de prélèvement C1 a été présenté à l'occasion de la 9^{ème} Conférence Internationale Francophone d'Entomologie (CIFE9), à Montpellier, en juillet 2018.

VI - Caractérisation des communautés de macro-Arthropodes des mares

Une étude portant sur les cohortes de morphotaxons d'une part et de ces morphotaxons en prenant en compte certains facteurs du biotope est proposé. Il s'agit ici de caractériser les mares suivis d'abord en termes de la communauté de macro-arthropodes recensée et ensuite en intégrant cette information et le niveau de pression anthropique ainsi que les caractéristiques intrinsèques des mares. J'ai choisi pour cela d'utiliser l'analyse factorielle multiple (AFM). L'analyse des composants principales (ACP) est utilisé pour caractériser les mares en lien avec des critères descriptifs des mares, interne ou du paysage proche

Protocole de caractérisation des mares

Actuellement, nous disposons d'un tableau de contingence compilant les effectifs de chaque morphotaxon par passage. Ces données ont été produites grâce à un protocole qui n'a pas pour objectif de produire un inventaire exhaustif mais qui est standardisé, ce qui permet de comparer les taxons présents entre les différentes mares.

Ainsi, nos analyses peuvent prendre en compte trois types d'inventaires de la communauté des Arthropodes des mares suivies :

- l'ensemble des morphotaxons d'Arthropodes sur les deux années
- l'ensemble des morphotaxons de Macro-Arthropodes sur les deux années
- le sous-ensemble des morphotaxons d'Arthropodes qui ont ensuite été traités en génomique individuelle

Dans un premier temps, j'ai choisi de caractériser la biodiversité des mares en prenant en compte l'ensemble des morphotaxons recensées par identification morphologique sur l'ensemble des deux années 2016 et 2017. Pour examiner la diversité alpha des mares j'ai estimé leur richesse spécifique des mares. J'ai également fait appel aux indices de biodiversité pour intégrer la variabilité en abondance des morphotaxons. Le

panel des indices de diversité à disposition étant large, le choix de comparer les mares sur les deux indices de Shannon et l'index de diversité de Simpson a été fait. Ce dernier est plus intuitif à lire et interpréter que l'indice de Simpson car il est proche il oscille aussi entre 0 et 1, mais prend la valeur de 0 pour la diversité minimale et la valeur de 1 pour la diversité maximale. Ces indices ont été calculés à l'aide du package *vegan* (Oksanen et al., 2019) pour R. L'analyse de la composition du cortège de morphotaxons de chaque mare a par la suite été approfondie par la réalisation d'une AFM, qui a permis d'identifier ceux contribuant les plus à les singulariser. Cette méthode factorielle est adaptée à l'étude des tableaux dans lesquels un ensemble des individus (ici les mares) est décrit par un ensemble de variables (ici les morphotaxons) structuré en groupes (ici les campagnes de prélèvements). Nous avons pour cela utilisé avec les packages *FactoMineR* (pour l'analyse) et *factoextra* (pour la visualisation des données) pour R.

La composition des communautés d'Arthropodes des 12 mares a par la suite été comparée grâce à l'indice de Bray-Curtis, qui a été calculé à l'aide du package *vegan* pour R.

Pour examiner la relation entre la composition des communautés de macro-Arthropodes et leur contexte paysager, nous avons d'abord procédé à l'évaluation de ce contexte. La végétation des mares a été relevée, considérant la bordure, arborée (*lato sensu*) ou non, et la présence avérée d'hydrophytes, héliophytes ou plantes aquatiques. Ceci permet de confirmer l'existence de sources de nourritures différentes et de méso-habitats. De plus, nous avons procédé à l'évaluation du contexte paysager dans une zone tampon de 50 m autour de la localisation de la mare. Ceci a été effectué à l'aide du programme QGIS (QGIS Development Team, n.d.).

Nous avons utilisé un atlas cartographique numérique de l'occupation du sol de l'Île-de-France, plus précisément la version 2012 du Mode d'Occupation du Sol (MOS) (Foulard, n.d.), lors de la mise en place du projet en 2015. La version actualisée du MOS de 2016 n'est pas encore mise à disposition pour utilisation. Nous avons utilisé la version de 2016 de la base Theia ("CES Occupation des sols | Theia - Pôle de données et de services surfaces continentales," 2018) pour avoir une représentation actualisée des attributions d'occupation des sols selon une séparation en huit postes que nous avons regroupés en quatre, eau / urbain / forêt / rural (Annexe 7 et Annexe 8). Nous ne pouvons pas directement comparer les deux bases d'occupation des sols sans induire un biais dans la

mesure où les outils sont différents. Une comparaison avec une même base de référence cartographique, sur un pas de quatre ans, par exemple, permettrait de visualiser les évolutions de l'environnement des mares, suite à la mise en place déjà effective de bâtiments du cluster scientifique. Malgré cette limite, et à titre d'exemple, il apparaît que la mare M09 a très clairement changé d'environnement : entourée principalement de champs de gérés par l'INRA lors des premiers passages en 2015, elle est dorénavant incluse dans une série de nouveaux immeubles et de routes (Figure 21 et Figure 22).



Figure 21 : Mare M09 en 2016 (à gauche) et en 2018 (à droite). Les deux clichés montrent la mare selon le même axe, orientation nord.

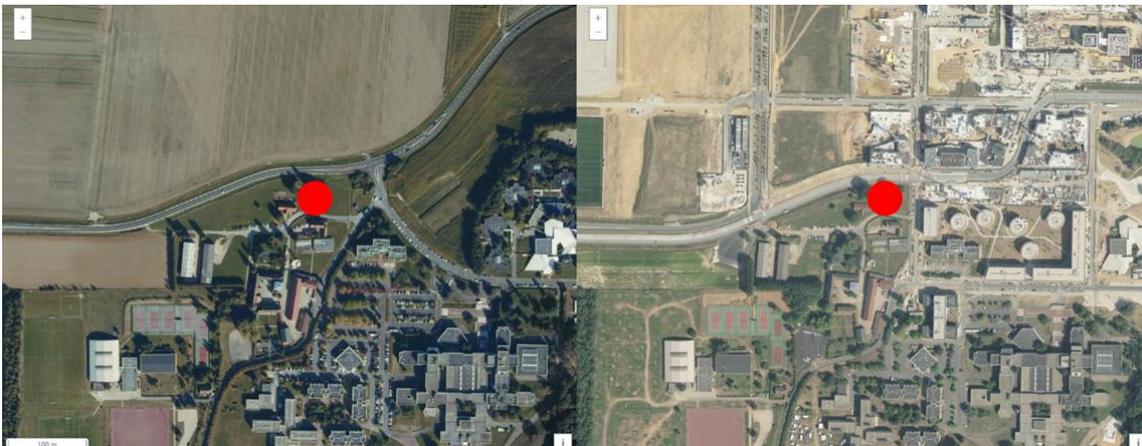


Figure 22 : Visualisation de l'évolution de l'environnement de la M09 grâce à des vues aériennes centrées sur la mare (point rouge). Prise de vue sur la période 2006-2010 à gauche, avec la même vue en 2018 à droite (source Géoportail).

La base Theia ayant une résolution plus fine, elle sera notre référence pour la suite des analyses. Une caractérisation des sols sur deux zones tampon (50m et 100m) a été produite en s'intéressant aux éléments suivants : culture d'hiver, culture d'été, boisement de feuillus, boisement de conifères, pelouse, landes, prairie, zone artificielle dense, zone

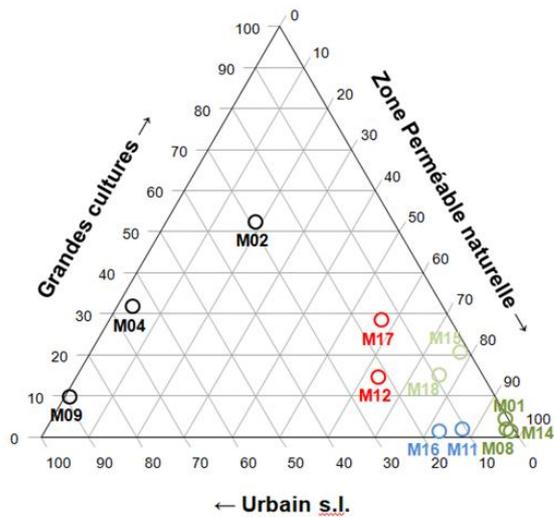
urbaine diffuse. D'autres types de couvertures de sol ont été vérifiés, mais sont absents, tels que les vergers, vignes, plage, dune ... Les surfaces d'occupations ont été cumulées selon trois axes :

- Les terres « Perméables naturelles » : culture d'hiver, culture d'été
- Les zones de « Grandes Cultures » : boisement de feuillus, boisement de conifères, pelouse, landes, prairie
- Les surfaces imperméables regroupées sous l'appellation « Urbain s.l. » : zone artificielle dense, zone urbaine diffuse

Caractérisation des mares

Les mares ont été projetées sur un graphe ternaire, grâce à l'utilisation du package *Ternary* (Smith, 2017) pour R selon le ratio de couverture de ces trois groupes d'occupation de sol afin de les mettre en relation les unes par rapport aux autres en considérant les deux zones tampon (Figure 23). Il Apparaît que certaines mares ont des caractéristiques similaires avec les deux zones tampons. Les mares M02, M04 et M09 sont à dominante urbaine et peuvent former un premier groupe, avec une variation dans la composante agricole de leur environnement. Les mares M01, M08 et M14 forment un groupe très homogène et stable caractérisé par une très forte dominance d'un environnement perméable « naturel » et agricole. Dans une moindre mesure, les mares M15 et M18 peuvent être mises dans ce groupe. Les mares M12 et M17 sont quant à elles plus délicates à traiter. Elles ont des caractéristiques relativement similaires en prenant en compte chacun des deux buffers, mais ne sont pas stables sur ceux-ci. Elles forment donc néanmoins un groupe consistant. Il en va de même des mares M11 et M16, qui peuvent être regroupées en une paire ayant des caractéristiques similaires selon les deux buffers.

Positionnement des mares selon le ratio
environnemental naturel perméable, urbanisé et agricole
dans une zone tampon de 50 m



Positionnement des mares selon le ratio
environnemental naturel perméable, urbanisé et agricole
dans une zone tampon de 100 m

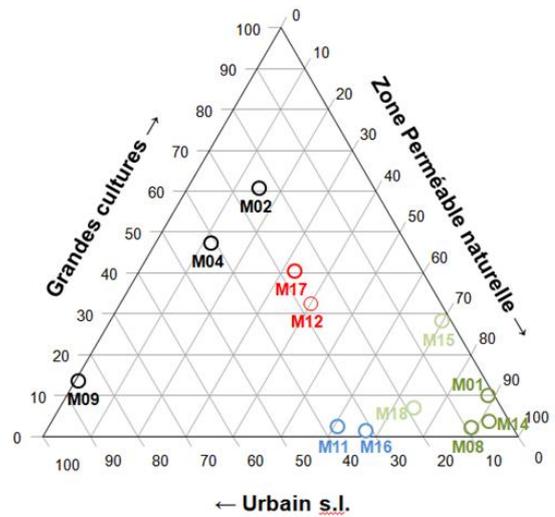


Figure 23 : Graphes ternaires positionnant les mares selon les axes traduisant le pourcentage de couverture du sol sur trois types d'occupation des sols : Zone perméable naturelle, Grande culture et urbain au sens large. Les mares sont regroupées en lots consistant de type d'environnements dans les zones tampons de 50m et 100m.

Ce regroupement de mares par lots est-il consistant par rapport au regroupement possible obtenu à partir des similarités de compositions animales dans les relevés.

Caractérisation de la diversité des macro-invertébrés

Une approche de la caractérisation des mares sera ci-après traitée par le calcul de la diversité alpha en prenant en compte les effectifs. L'approche qui vise à uniquement prendre en compte la richesse taxonomique n'offre ici que peu d'intérêt, il faudrait alors y adjoindre une étude de traits de vie et traits fonctionnels pour renforcer la caractérisation des mares. Or peu de traits sont actuellement connus pour la majorité des organismes rencontrés, considérant, encore une fois, que les identifications sont à un rang taxonomique élevé. Cette diversité sera de plus calculée sur la base du regroupement des quatre campagnes de prélèvement C1 à C4, intégrant ainsi les potentielles différences saisonnières, de phénologie des organismes, mais englobant par ailleurs l'impact potentiel du manque d'eau rendant certains points d'eaux inaptes aux prélèvements.

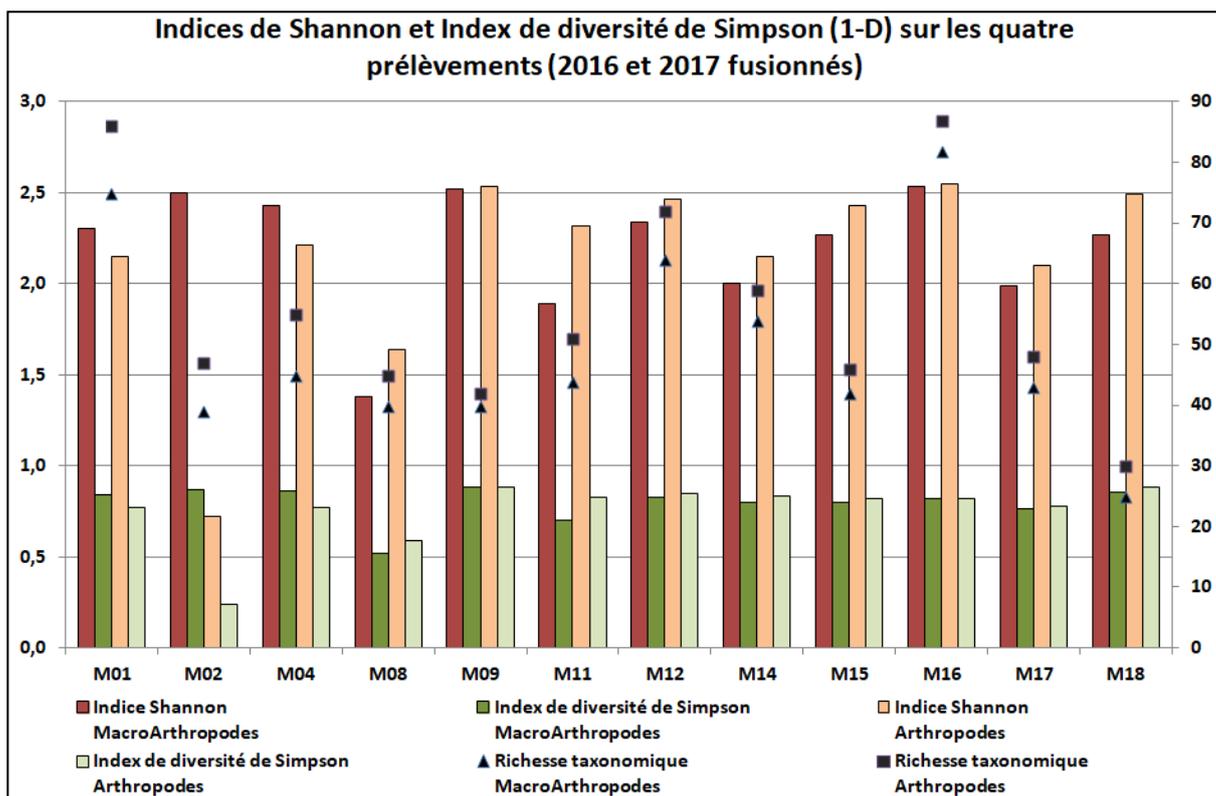


Figure 24 : Richesse taxonomique, indices de diversité de Shannon et index de diversité de Simpson pour (i) les Macro-Arthropodes aquatiques et (ii) pour l'ensemble des Arthropodes aquatiques, des mares suivies en 2016 et 2017

En comparant les mares suivant l'indice de Shannon, sensible aux espèces rares, calculé sur les Macro-Arthropodes, la mare M16, située dans une parcelle forestière de Guyancourt, semble être celle ayant le plus de diversité en macro-Arthropodes (Figure 24). Cette mare voit son niveau d'eau varier par le drainage fait par les héliophytes présents, mais est toujours en eau, même à l'étiage.

En comparant les mares suivant l'index de diversité de Simpson calculé sur les Macro-Arthropodes, sensible aux espèces à forte abondance, la mare ayant la plus grande diversité est la M09, située en bordure d'un corps de ferme et d'une route bitumée la séparant de parcelles agricoles à l'est et au nord. Cette mare voit son niveau d'eau régulièrement changer, mais est toujours en eau. Elle comporte une frange d'héliophytes et on peut y noter la présence d'hydrophyte. La présence de poisson y est avérée. Nous pouvons noter que son environnement immédiat a changé depuis 2017, de par la construction de logements universitaires à l'est, de l'autre côté de la route. Les constructions se poursuivent à son abord depuis lors. Il est à remarquer que ces assèchements temporaires peuvent être liés à un atterrissement de la mare, qui va peu à peu se combler par dépôt de matière végétale, pour évoluer vers une association végétale terrestre pérenne. Ce phénomène semble être déjà avancé pour la mare M18 comme cela

apparaît sur la séquence des trois clichés pris lors des prélèvements de juin 2016, 2017 et 2018 (Figure 25).



Figure 25 : Mare M18 en juin des années 2016 (en haut p.68), 2017 (en bas p.68) et 2018 (ci-dessus). Même axe de prise de vue (vers le nord-est). En 2019, cette mare ne présentait qu'une petite zone d'eau libre relictuelle.

Les deux indices / index classent la mare M08 comme la mare la moins diverse taxonomiquement parmi les 12 mares suivies. Cette mare est celle située dans le verger de l'université Paris Saclay. Elle jouxte l'Yvette, et jouit d'une influence forestière (ceinturage et petit boisement à l'ouest et au nord). La présence de vertébrés y est avérée (Tortue de Floride, tritons, perche) et aucune végétation de type aquatique, hydrophyte ou héliophyte n'est présente, de plus sa structure est très homogène.

A partir de la liste taxonomique, une AFM a été faite sur les mares. Cette méthode consiste à analyser un ensemble de facteurs qui seront projetés dans plusieurs dimensions. Seules les deux principales seront visualisées ici, dans un cercle de corrélations (Figure 26), de même que les plus grands contributeurs des deux dimensions. Les méso-Arthropodes ont été introduits dans la représentation graphique à titre informatif. Ils sont mis en groupes illustratifs de l'AFM, ils n'ont donc pas été pris en compte dans la construction des axes.

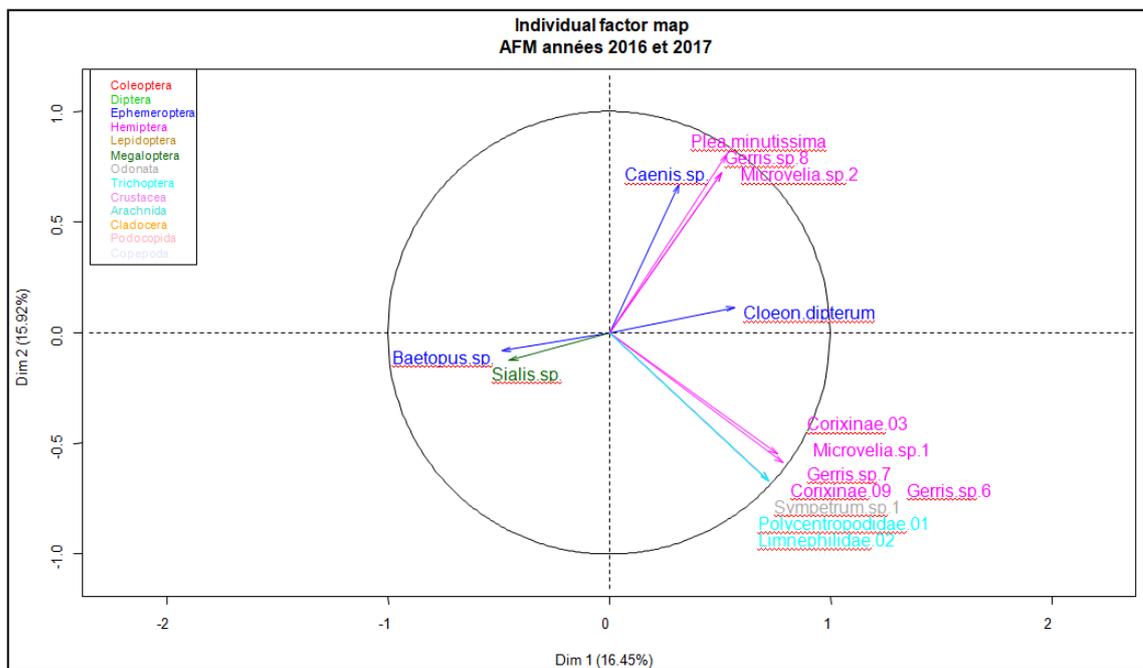


Figure 26 : Cercle des corrélations produit par l'AFM intégrant les morphotaxons d'Arthropodes aquatiques récoltés dans les mares en 2016 et 2017. Les méso-Arthropodes ont été mis en groupes illustratifs.

Les deux premières dimensions expliquent 32,37% de la variabilité entre les mares. Le top 15 des contributeurs à l'établissement de ces axes sont des Hémiptères (8), un Odonate, deux Trichoptères, et dans une moindre mesure, des Ephéméroptères (3), et un

Mégaloptère. Parmi ces taxons, nous retrouvons des prédateurs et des herbivores, il n'y a ainsi à ce niveau n'analyse pas de lien avéré entre des régimes alimentaires des organismes présents et la caractérisation des mares.

Les facteurs (taxons) ont été regroupés par Ordre, et la visualisation de ceux-ci dans les deux dimensions principales de l'AFM (Figure 27) permet de mettre en évidence une structuration qui semble linéaire sur l'axe de symétrie. Il semble que les groupes expliquant le plus les axes sont les Coleoptera qui contribue de manière égale aux deux axes, avec les Diptera, Hemiptera et Odonata qui ont eux aussi une part contributive forte. Dans ces groupes, nous trouvons des individus de grande taille, qui sont avec des régimes alimentaires variés selon l'Ordre (voire intra Ordre). Néanmoins, je ne peux à partir de cette représentation tirer aucune conclusion. Il faudrait trouver de nouveaux facteurs que les taxons pour tenter d'expliquer les rapprochements matérialisés sur le graphique, comme par exemple ajouter une variable régime alimentaire, ou micro-habitat, par exemple.

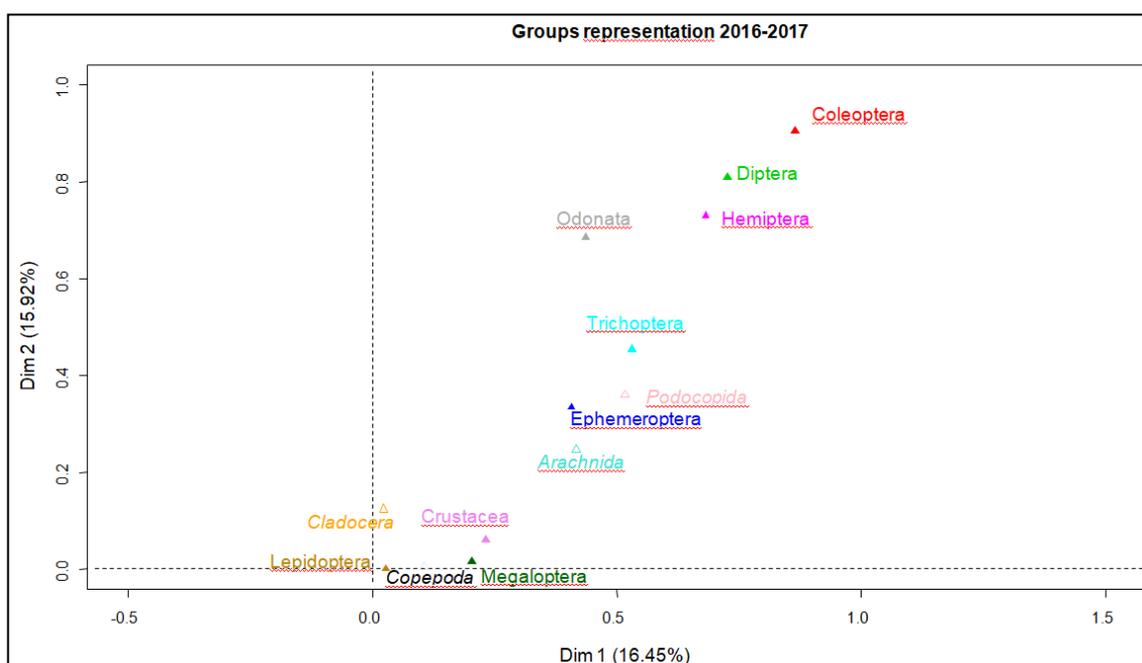


Figure 27 : Graphe des groupes de morphotaxons (Ordres) sur les taxons collectés en 2016 et 2017. Les méso-Arthropodes (triangles évidés) sont ajoutés en qualité de groupes illustratifs sur ce graphe.

Il apparait que les quatre Ordres qui contribuent de manière importante à la création des deux premières dimensions sont les Coléoptères, les Diptères, les Hémiptères et dans une moindre mesure les Odonates. Ceci mis, en parallèle de la pertinence de l'identification

morphologique quant aux taxons en présence pour ces Ordres, avancée dans le chapitre précédent, renforce la possibilité de restreindre les études de caractérisation des mares à ceux-ci. Bien qu'il soit actuellement délicat d'avancer sur l'ensemble des taxons pour interpréter les données recueillies, une représentation des mares est proposée (Figure 28).

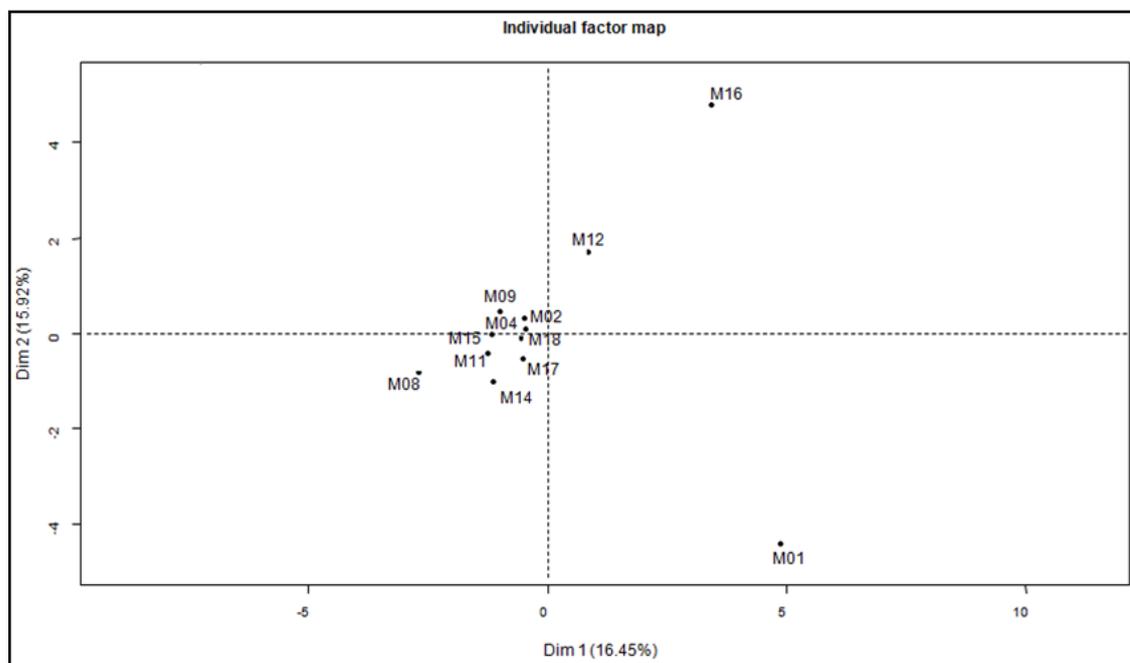


Figure 28 : Carte des mares produite par l'AFM sur les collectes 2016 et 2017.

Cette représentation issue de l'AFM permet de mettre en évidence que dans le cas d'un regroupement des données sur deux années 2016 et 2017, les mares M01 et M16 sont très différentes entre elles selon la dimension 2 mais sont relativement proches selon l'axe 1. Elles sont par ailleurs différentes du lot des dix autres mares. Un bémol peut être donné pour la mare M12 qui semble être légèrement plus proche de la M16 que les autres du lot de 10. La mare M16 est forestière, protégée de l'activité humaine, de même que la M01. Toutes deux sont sur le plateau de Saclay, ont une composante végétale bien présente (Hélophytes, aquatiques).

Sur la base de cette AFM, il semble apparaitre un isolement de deux mares. Les dix autres semblent très proches et non discriminées via cet outil. Peut-on aller encore plus loin dans les regroupements ?

Il est aussi possible, à partir du tableau de contingence sur les deux années 2016 et 2017, de calculer l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis grâce au package *ecodist()* (Goslee and Urban, 2007) pour R, afin de pouvoir proposer un dendrogramme de proximité entre les mares. Il est présenté sur la base des macro-Arthropodes seuls (Figure 29).

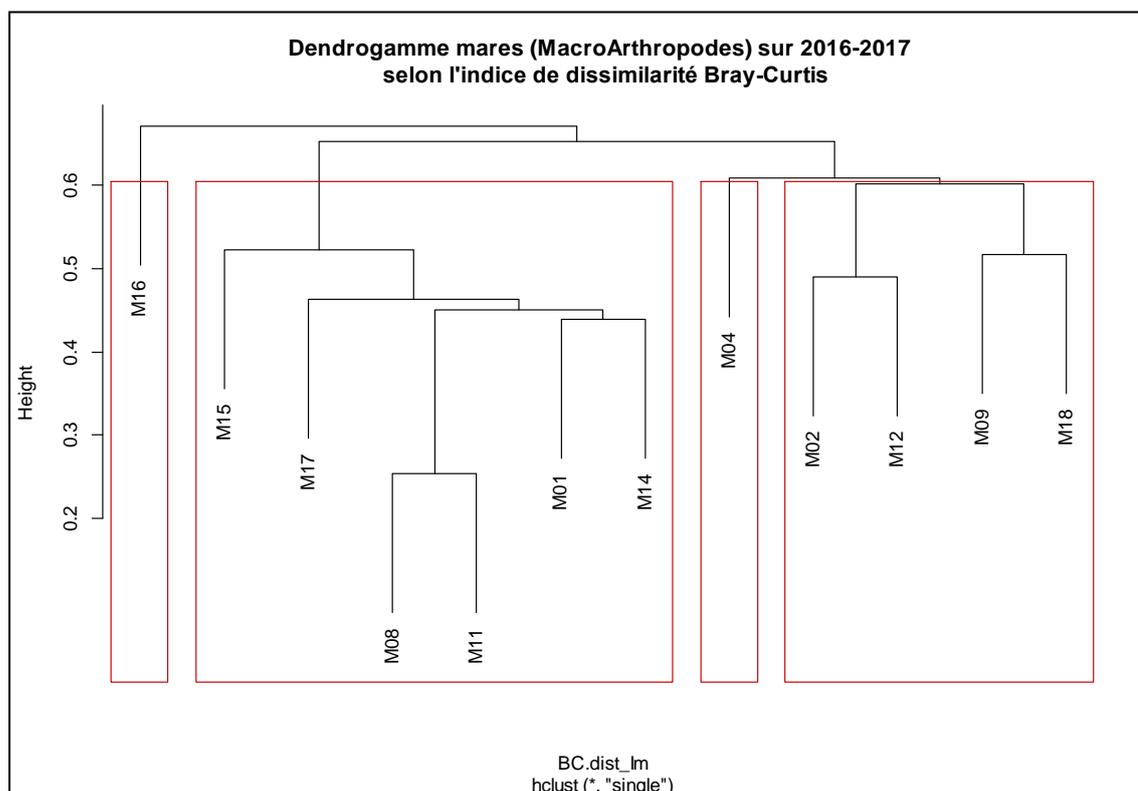


Figure 29 : Dendrogramme de proximité des mares établi sur le tableau de contingence des macro-Arthropodes aquatiques récoltés en 2016 et 2017.

Ce dendrogramme propose une vision synthétique des regroupements possibles entre nos 12 mares. Après avoir testé une visualisation de 3 à 6 groupes, j'ai fait le choix de conserver le regroupement en quatre groupes, matérialisés en rouge (de 1 à 4 dans le sens de lecture gauche vers droite). Le groupe 1 est isolé, et conformément au chapitre précédent, se trouve être la mare la plus particulière sur la base de ses taxons, la M16 du Val-d'Or.

Néanmoins, contrairement à la conclusion tirée de l'AFM précédemment, la mare M01 ne ressort pas comme isolée des autres. Elle est relativement semblable aux mares du groupe 2. Celles-ci peuvent se caractériser par la présence de boisement à proximité, qui les entoure de manière plus ou moins importante. Les mares M08 et M11 forment alors un sous-groupe dans ce groupe 2, qui peut être potentiellement relié à leur proximité

géographique, en effet, elles sont toutes les deux dans la partie vallée de l'Yvette de la zone d'étude.

Les quatre mares du groupe 4 sont très peu distantes de la mare M04 qui forme à elle seule le groupe 3 sur la base de cette dissimilarité de Bray-Curtis. Deux d'entre elles sont soumises à des pressions anthropiques de type agricole (M04 et M02). La M12 est lié à un établissement de santé et très peu distante de la M04, avec une douve entre les deux sites. Bien que cette douve ne soit ouvertement reliée à aucun des deux points d'eau, il n'est pas à exclure la possibilité d'existence d'un lien non identifié à ce jour.

Le même traitement peut être appliqué aux données pour produire un dendrogramme de similarité entre les mares qui prenne en compte les méso-Arthropodes. Peut-on alors trouver une robustesse dans les deux représentations en comparant les deux propositions de la Figure 29 et de la Figure 30.

Ce dendrogramme basé sur tous les Arthropodes des mares propose la mare M16 comme unique constituant du groupe 1, ce qui est en accord avec les deux conclusions précédentes.

Bien que les méso-Arthropodes ne soient pas ciblés par le protocole, les différences entre les deux dendrogrammes de similarité impliquent que la prise en compte des quelques taxons obtenus joue un rôle important dans la représentation que nous observons. Un groupe de sept mares (groupe 4) est constitué des mares qui peuvent se caractériser par la présence de boisement à proximité. Les mares M08, M11 et M14 forment alors un sous-groupe dans ce groupe. Ce sous-groupe est lui-même constitué des trois mares suivies qui sont dans la partie vallée de l'Yvette de la zone d'étude. Un autre sous-groupe intéressant à évoquer, a priori, est celui composé des mares M15 et M17. Ces deux mares sont éloignées l'une de l'autre, dans des bois, et toutes deux ont une couverture de lentille d'eau couvrant 100% de leur surface dès le printemps. Il est possible que ce facteur soit un facteur fort ayant un impact sur la caractérisation des mares, mais il est impossible sur la base de cette étude de l'affirmer.

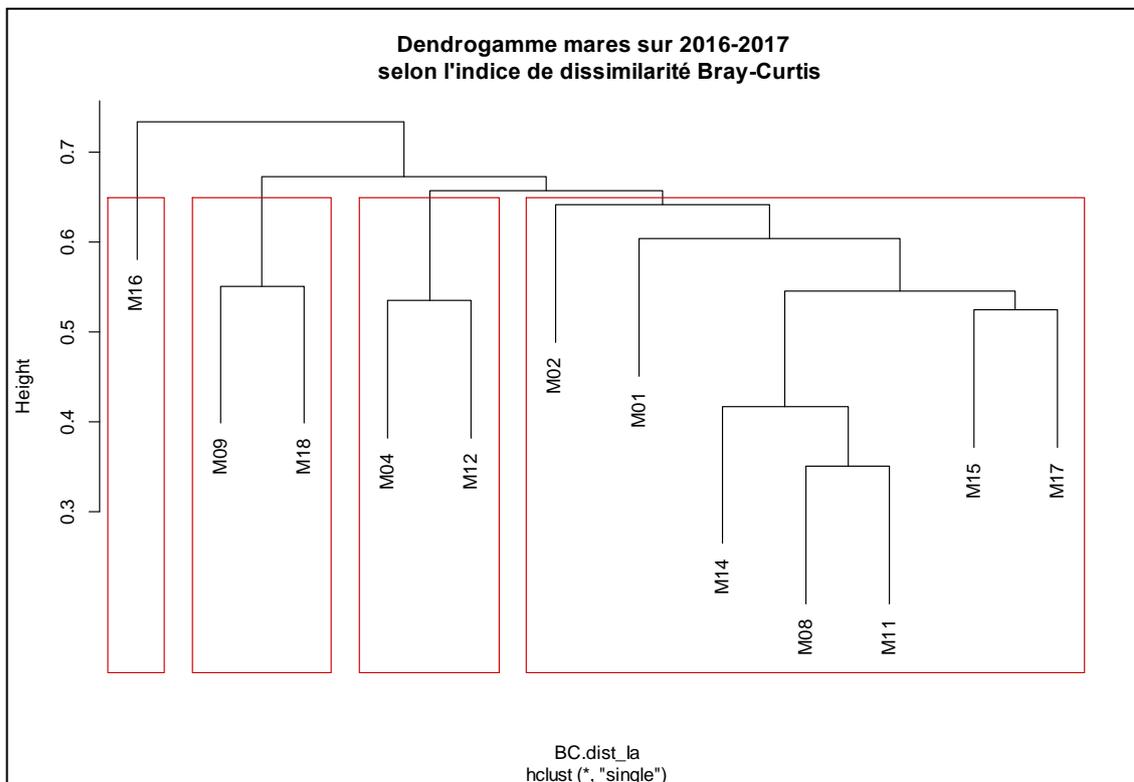


Figure 30 : Dendrogramme de proximité des mares établi sur le tableau de contingence de l'ensemble des Arthropodes aquatiques récoltés en 2016 et 2017.

Par ailleurs le groupe 3 est lui-même constitué des mares M04 et M12, proches géographiquement, ce qui est déjà discuté précédemment. Les mares M09 et M18 sont spatialement loin l'une de l'autre, mais possèdent toutes deux une composante végétale forte (tout comme la M01).

Il apparaît que la mare M16 est toujours singulièrement différente des autres mares suivies dans cette étude, considérant les macro-Arthropodes uniquement ou en intégrant les méso-Arthropodes aux données. Les regroupements des mares sur leurs cohortes d'Arthropodes semblent de plus associer celles qui sont de type forestières, ou qui ont un minimum de boisement à proximité. Il est à remarquer que les groupes issus de l'analyse des communautés n'est pas le reflet de ceux issus du traitement de leur contexte spatial d'occupation du sol. Est-ce que les groupes communautés et les traits environnementaux peuvent confirmer certaines associations en lot ?

Analyse en tenant compte de l'environnement des mares et de leur composition végétale

Selon les caractères observés, les mares peuvent présenter des degrés de similarité différents, nous permettant de mesurer différents facteurs (environnement, ombrage, plantes aux abords, *etc.*) pour déterminer lesquels peuvent avoir une corrélation avec le biote présent. Dans l'optique de vérifier qu'elles sont par exemple représentatives d'un gradient d'urbanisation, l'occupation des sols aux abords des mares a été observée.

Une représentation graphique sous forme de diagramme en bâtons est produite pour avoir une vue synthétique de l'environnement des mares dans les 50 m qui les entoure (Figure 31).

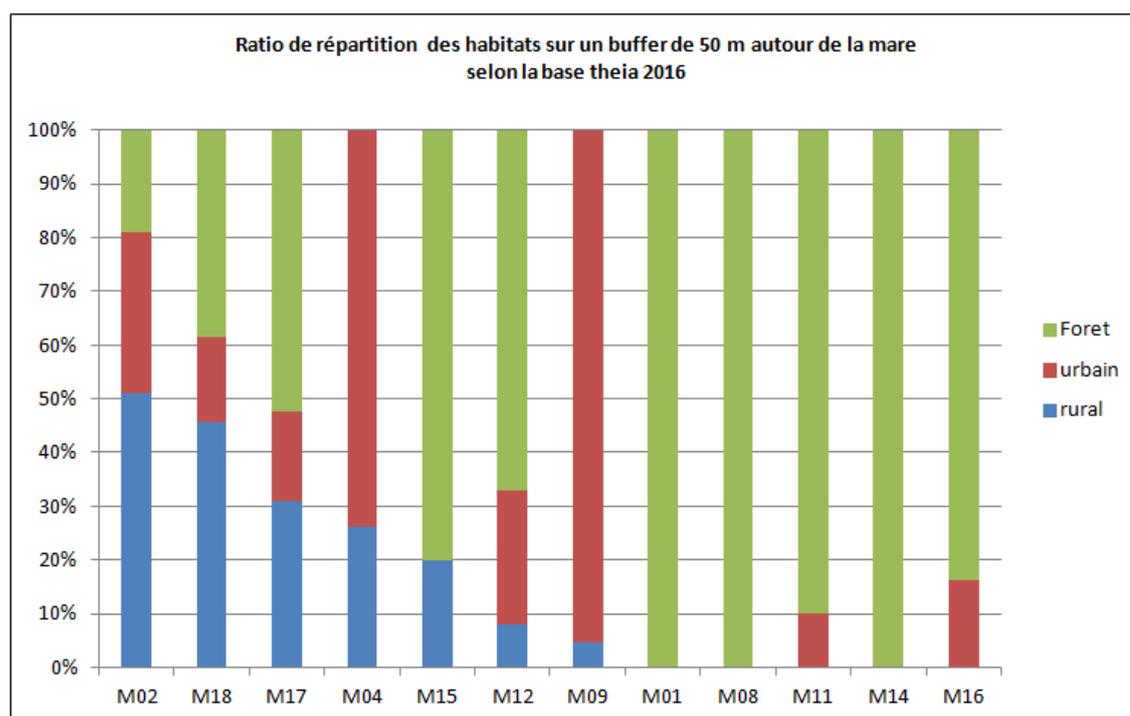


Figure 31 : Comparaison du pourcentage l'occupation du sol pour les 12 mares étudiées depuis 2016, dans les 50 m, avec regroupement des sorties de Theia 2016 en quatre grandes catégories (Rural, urbain, forêt et eau).

Trois mares sont considérées via l'occupation du sol comme des mares strictement forestières dans leurs 50 m d'environnement (M01, M08 et M14). Aucune n'a de

composante de type eau dans les 50 m, ce constat paraît surprenant quand on prend en compte le fait que les mares M11 et (surtout) M08, sont proches de l'Yvette. Les mares M11, M15 et M16 ont une forte dominance environnementale de type forestier elles aussi.

La composante forestière est quant à elle peu présente pour la M02 et totalement absente pour les M04 et M09. Cette dernière est considérée comme urbaine, avec cette caractérisation de l'occupation du sol de 2017, sachant qu'elle est dans la zone ayant subi le plus de pression d'urbanisation sur les dernières années. Elle était ancrée dans un paysage agricole jusqu'à 2016 avec, dans ses 50m, comme unique bâtiment alentour l'ancien corps de ferme et l'habitation individuelle la jouxtant (Figure 21 p.62).

La prise en compte de cette occupation des sols dans les 50m des points d'eau a porté sur différents traits :

- la richesse morphotaxonomique (Rich_morphotax)
- l'assèchement total (A_sec_tot) ou partiel (A_sec_part) des mares au cours du cycle annuel
- la présence de plantes dans ou en bordure de chaque mare (Aquatiques, Hydrophytes, Hélophytes)
- les classes d'occupation du sol

Considérant ces éléments, une analyse en composantes principales a été faite. La Figure 32 donne la représentation sous forme de cercle de corrélation des variables, avec les principaux contributeurs à la constriction des axes (Figure 33).

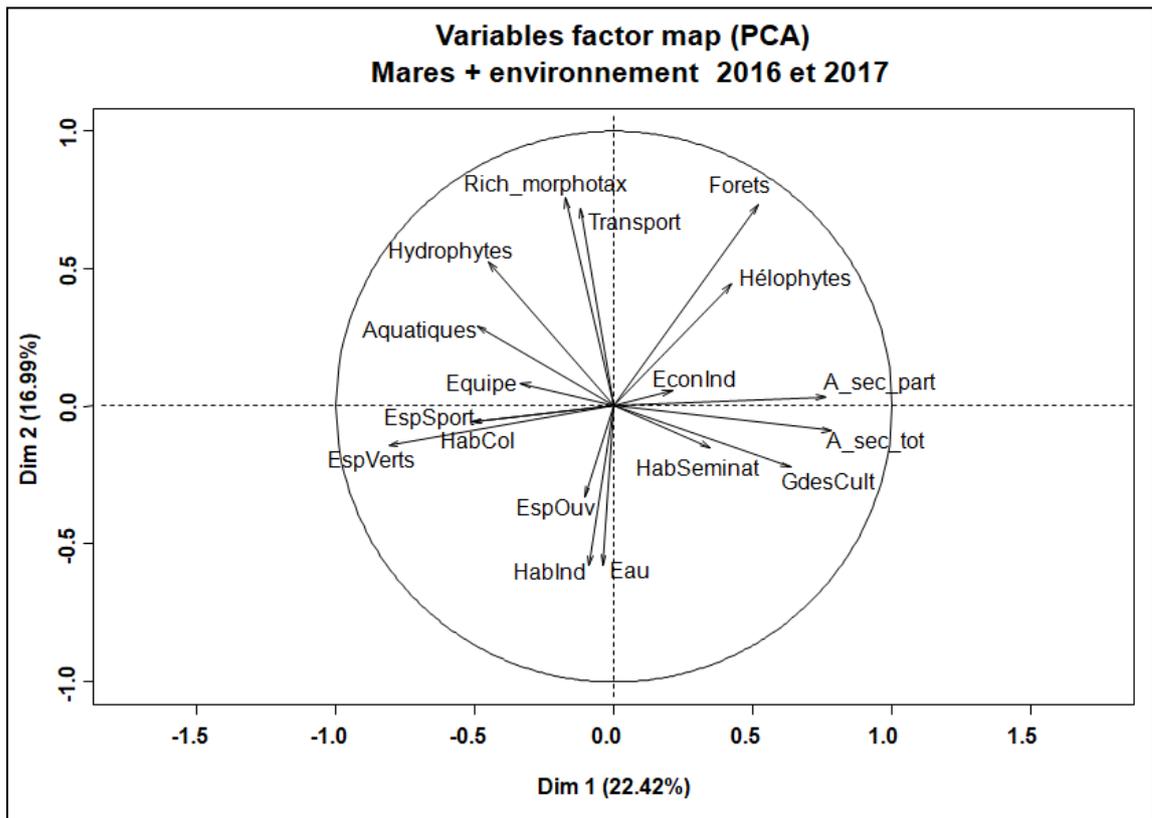


Figure 32 : Cercle de corrélation de l'ACP des variables.

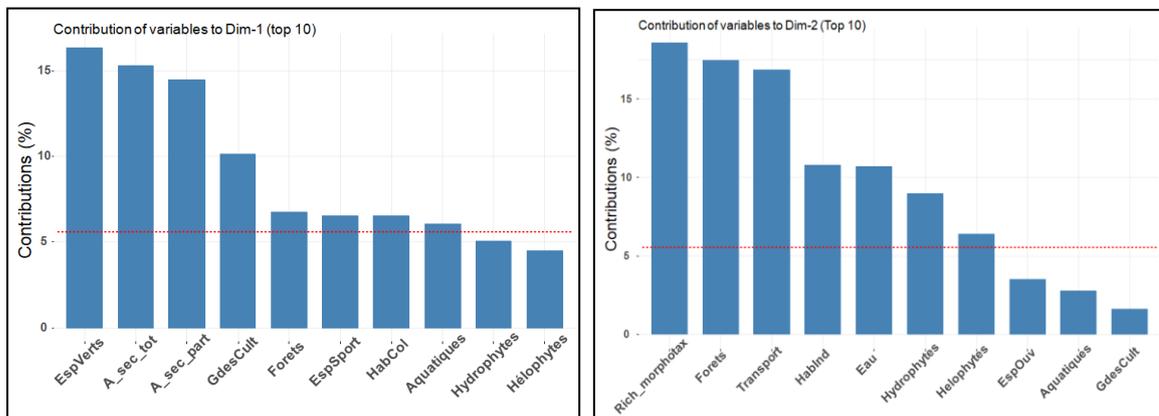


Figure 33 : Top 10 des contributeurs aux deux axes principaux du cercle de corrélation de l'ACP des variables. la ligne rouge correspond à la contribution moyenne.

Cette approche permet de percevoir, si on s'intéresse à la projection sur le premier axe principal, une opposition relativement bien marquée entre le caractère assèchement temporaire (total ou partiel), avec la présence d'espaces verts dans le voisinage immédiat des mares.

Si l'observation se porte sur le second axe de projection, une forte corrélation existe entre la richesse morphotaxonomique et la présence de moyens de transports, qui contribuent de manière analogue à la construction de l'axe que la présence de forêt à proximité des mares. Ceci est par ailleurs en opposition avec la présence d'habitations individuelles et, presque contre intuitivement, de réseaux hydrique (ru, rivière, ornières).

VII - Discussion

Sur le plateau de Saclay (Essonne), qui a une vocation principalement agricole, et qui est actuellement en période de forte urbanisation sur sa partie sud, plusieurs approches ont été mises en œuvre pour caractériser les biotopes particuliers que sont les mares. Un suivi de la faune de 12 mares du plateau et des vallées qui le bordent a été mis en place. Une réflexion a été menée en première instance afin de choisir les organismes cibles pertinents à collecter et à suivre pour caractériser ces points d'eau. Cette réflexion a de plus pris en compte l'environnement des mares et l'évolution de cette zone géographique dans le processus de création du cluster scientifique déjà amorcé.

De par leur nombre de spécimens et le nombre de taxons obtenus, les macro-Arthropodes ont retenu notre attention. La discrimination taxonomique est aisée si on travaille à une échelle supra-spécifique, avec la possibilité de séparer les organismes par morphotaxons à défaut de pouvoir les nommer spécifiquement de par l'absence d'outils adéquats. Ceci est principalement vrai pour les spécimens trouvés à des stades larvaires, nymphaux ou juvéniles, pour lesquels deux effets antagonistes sont mis en évidence dans cette étude, d'une part la confusion de certaines espèces très voisines, et d'autre part la séparation de certaines espèces rencontrées à des stades différents.

Sur certains spécimens ayant été identifiés par la méthode morphologique, un séquençage du CO1 a été opéré avec une comparaison de séquence avec les références de la base de connaissance génomique BOLD. Ceci nous a permis de vérifier que les identifications optiques étaient correctes. Ceci a aussi confirmé que la base BOLD est actuellement incomplète bien que riche, et comporte quelques erreurs, ce qui est normal. Néanmoins, son utilisation, en tenant compte de ces limites, est pertinente dans l'optique de notre étude (Meiklejohn et al., 2019). Quelques cas de confusion dans l'identification morphologiques ont été ainsi confirmés ainsi que des cas avérés des séparations d'espèces sur la base des stades. Cette méthodologie confirme bien les conclusions tirées dans la première partie de ce travail, basées sur uniquement les identifications morphologiques.

Afin de mettre à profit l'utilisation de cet outil qu'est le séquençage, avec une volonté d'accéder à une caractérisation plus rapide de la richesse taxonomique des mares, une phase de metabarcoding a été mise en place. Cette stratégie de Séquençage offre la

possibilité de séparer les taxons cryptiques sur la base du pourcentage de divergence des séquences entre elles. La comparaison avec les références de la base BOLD permet parfois l'accès au nom d'espèce, voire simplement de confirmer ou donner un nom de Genre. La question de la séparation de taxons sur la base du pourcentage de similitude peut paraître en partie arbitraire, le seuil dans notre étude a été fixé à 3% de divergence des séquences pour créer les OTU (Virgilio et al., 2010).

Cette méthode montre aussi des limites pratiques, dans le fait qu'elle crée une certaine proportion de séquences chimériques (Brandon-Mong et al., 2015). Certaines semblent aisément détectables, mais d'autres sont plus délicates à percevoir et peuvent être mal interprétées, comme appartenant à des espèces non référencées dans BOLD.

Le travail en aval de la récupération des listes de noms est assez conséquent pour éliminer les chimères et opérer un certain nombre de contrôles. Cette phase du protocole a été faite par les collègues de l'UMR EGCE, les scripts sous R sont maintenant testés et rodés, ce qui permettra dans le futur, si cette méthode est choisie, d'optimiser le temps de travail.

Néanmoins, une phase de vérification des noms proposés doit à ce jour toujours être faite pour contrôler les éventuels taxons hors zone géographique, aberrants (groupes taxonomiques hors champs des possibles), etc. Ceci est délicat, de par la méconnaissance que nous pouvons avoir de ces répartitions pour bon nombre de taxons. Nous avons par exemple des propositions de noms de taxons vivants sur d'autres continents, dans des eaux marines, d'Ordres improbables, etc.

De plus, cette méthode repose sur l'analyse d'une partie du génome d'un broyat d'individus. Nous avons de fait une possibilité d'obtenir des taxons d'organismes ne vivant pas directement dans les mares suivies, mais qui proviennent de contenus gastriques d'individus mobiles. Il faut donc rester prudent avec la liste fournie en brut. Une autre limite du metabarcoding est l'impossibilité actuelle de relier les taxons proposés à un effectif de ces derniers. Si la caractérisation sur la base de la richesse taxonomique est possible, il n'est pas possible de mettre en évidence des perturbations sur le biotope qui entraîneraient des variations dans les ratios d'espèces des communautés présentes.

Nous n'avons pas encore suffisamment de recul pour faire une analyse temporelle, mais nous avons un suivi hétérogène et partiel sur 16 mares, dont uniquement huit

présentent des données sur les trois ans, 12 d'entre elles sur deux ans, et quatre ne présentent des données que sur un an. Ce faible nombre de mares ne permet pas d'appliquer une comparaison entre elles comme il serait faisable grâce à l'indice ICOCAM (Picard and Leroy, 2015) mais il a été démontré que sans se restreindre aux seuls Coléoptères adultes, mais en se focalisant sur les Ordres de Coléoptères, Hémiptères et Odonates, il était possible de caractériser les mares (Hassall et al., 2011). Les Diptères sont d'un grand intérêt eux aussi, mais le fait que les stades larvaires et nymphaux soient les seuls accessibles demande alors de recourir à l'outil génomique pour caractériser les peuplements (Sweeney et al., 2011). Néanmoins, l'accès à une liste de taxons dont la présence est avérée dans les mares n'apporte que très peu d'informations quant à l'effet de l'urbanisation que nous désirons à terme caractériser, avec si possible l'identification de taxons indicateurs de perturbation. De même, l'ajout de traits d'occupation du sol sur des distances tampon de 50 m et 100 m n'a pas permis de discriminer les mares en groupes dont les constituants pourraient être dans une zone potentiellement impactée avec des points d'eau servant de témoins. Nous avons aussi dans cette optique la limite du nombre de mares échantillonnées.

Un volet important de l'utilisation des listes taxonomiques actuellement disponibles est principalement lié à la connaissance de la biologie des organismes présents, tout particulièrement le positionnement relatif des taxons entre eux dans leurs régimes alimentaires (Warren, 1989). Une table de relations trophiques sera construite, ce qui aboutira à la formation d'une représentation graphique du réseau trophique global de chaque mare. Ceci sera effectué en collaboration avec Florence Hulot grâce au logiciel `n_w` développé par Gérard Lacroix et Stéphane Legendre.

Une étude de la littérature devrait permettre de constituer une base de données des relations de type proie prédateur qui existent entre les espèces présentes dans les mares étudiées. Ce travail s'effectue uniquement sur la base des écrits scientifiques, ce qui implique que tous les liens trophiques entre les taxons rencontrés ne seront pas renseignés. Dans le cas d'indécision où d'absence de renseignements publiés dans ce type de documents, la base sera complétée par les informations obtenues dans d'autres types d'ouvrages, voire en prenant en compte les connaissances sur des rangs taxonomiques voisins, ainsi qu'aux dires d'experts. Pour compléter le réseau trophique, les producteurs primaires ainsi que les restes de végétaux et d'animaux présents dans la zone benthique seront à prendre en compte, et seront ajoutés.

Nous pourrions donc envisager de comparer les réseaux trophiques des différentes mares entre elles. Les réseaux ayant comme caractéristiques le nombre de liens, de nœuds, le nombre de taxons, etc., une corrélation pourrait être faite entre mares, avec la caractérisation de l'occupation du sol sur une zone tampon de 50m ou 100m. Ce type de travail pourra se faire avec un aspect temporel, sous réserve d'opérer sur plusieurs années avec une réactualisation des informations d'occupation du sol sur le plateau de Saclay. Actuellement, les cartes du MOS sont mises à jour tous les quatre ans, mais nous observons un retard dans leur livraison aux utilisateurs. L'utilisation de Theia semble être de fait plus pertinente, de par sa mise à disposition avec un pas de temps plus court et un grain pouvant descendre à 10 m (Baghdadi et al., 2015).

Par ailleurs, les campagnes de collectes du biote ont été couplées à des prélèvements de sédiments des mares ainsi que de l'eau de la colonne d'eau. Ces échantillons ont été analysés par des équipes partenaires que sont le pôle pharmacie de l'équipe EPC (ESE, UMR 8079), l'équipe Ecotox d'EcoSys (UMR 1402), et une équipe du CEA. L'objectif est d'avoir une connaissance sur la présence de différents contaminants dans les mares, qu'ils soient directement disponibles dans la colonne d'eau, ou bien stockés dans les sédiments, mais (re)mobilisables par action mécanique. Ces polluants peuvent être de natures variées comme des métaux lourds, des drogues illicites, des dérivés médicamenteux, des molécules issues de l'agriculture, etc. (Fick et al., 2009). Ces données pourront dans le futur être analysées et mise en relation avec les taxons rencontrés, mais aussi avec les informations tirées des réseaux trophiques.

Bibliographie

- Bagella, S., Gascón, S., Filigheddu, R., Cogoni, A., Boix, D., 2016. Mediterranean Temporary Ponds: new challenges from a neglected habitat. *Hydrobiologia* 782, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2962-9>
- Baghdadi, N., Leroy, M., Maurel, P., Cherchali, S., Stoll, M., Faure, J.-F., Desconnets, J.-C., Hagolle, O., Gasperi, J., Pacholczyk, P., 2015. The Theia Land Data Centre. In Remote Sensing Data Infrastructures (RSDI) International Workshop. La grande motte, France.
- Bameul, F., 1985. Les Gyrinus de la Faune de France (Col. Gyrinidae) (Seconde partie). *L'Entomologiste* 41, 209–226.
- Biggs, J., Fumetti, S. von, Kelly-Quinn, M., 2017. The importance of small waterbodies for biodiversity and ecosystem services: implications for policy makers. *Hydrobiologia* 793, 3–39. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-3007-0>
- Biggs, J., Williams, P., Whitfield, M., Nicolet, P., Weatherby, A., 2005. 15 years of pond assessment in Britain: results and lessons learned from the work of Pond Conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 15, 693–714. <https://doi.org/10.1002/aqc.745>
- BIOTOPE, 2018. Projet éolien sur la commune de Saint-Hilaire-du-Maine (53) - Volets « Milieux naturels, faune, flore » et « Milieux aquatiques, zones humides » de l'étude d'impact.
- BIOTOPE, 2017. Projet éolien sur la commune de Hiesse (16). Volet milieux naturels, faune et flore de l'étude d'impact. WPD.
- BIOTOPE, 2015. Volet naturel de l'étude d'impact du projet d'aménagement du Barrage de Crottes.
- Blois-Heulin, C., Crowley, P.H., Arrington, M., Johnson, D.M., 1990. Direct and indirect effects of predators on the dominant invertebrates of two freshwater littoral communities. *Oecologia* 84, 295–306. <https://doi.org/10.1007/BF00329753>
- Boix, D., Biggs, J., Céréghino, R., Hull, A.P., Kalettka, T., Oertli, B., 2012. Pond research and management in Europe: “Small is Beautiful.” *Hydrobiologia* 689, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1015-2>
- Boix, D., Sala, J., Moreno-Amich, R., 2001. The faunal composition of espolla pond (ne iberian peninsula): the neglected biodiversity of temporary waters. *Wetlands* 21, 577–592. [https://doi.org/10.1672/0277-5212\(2001\)021\[0577:TFCOEP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1672/0277-5212(2001)021[0577:TFCOEP]2.0.CO;2)
- Brandon-Mong, G.-J., Gan, H.-M., Sing, K.-W., Lee, P.-S., Lim, P.-E., Wilson, J.-J., 2015. DNA metabarcoding of insects and allies: an evaluation of primers and pipelines. *Bull. Entomol. Res.* 105, 717–727. <https://doi.org/10.1017/S0007485315000681>
- Céréghino, R., Biggs, J., Oertli, B., Declerck, S., 2008. The ecology of European ponds: defining the characteristics of a neglected freshwater habitat. *Hydrobiologia* 597, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9225-8>
- Céréghino, R., Boix, D., Cauchie, H.-M., Martens, K., Oertli, B., 2014. The ecological role of ponds in a changing world. *Hydrobiologia* 723, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1719-y>

- CES Occupation des sols | Theia - Pôle de données et de services surfaces continentales [WWW Document], 2018. URL <http://www.theia-land.fr/fr/ces-occupation-sols> (accessed 5.30.18).
- Cobbaert, D., Bayley, S.E., Greter, J.-L., 2010. Effects of a top invertebrate predator (*Dytiscus alaskanus*; Coleoptera: Dytiscidae) on fishless pond ecosystems. *Hydrobiologia* 644, 103–114. <https://doi.org/10.1007/s10750-010-0100-7>
- Curry, C.J., Gibson, J.F., Shokralla, S., Hajibabaei, M., Baird, D.J., 2018. Identifying North American freshwater invertebrates using DNA barcodes: are existing COI sequence libraries fit for purpose? *Freshwater Science* 37, 178–189. <https://doi.org/10.1086/696613>
- Ecosphère, 2018. Projet d'ouverture de carrière à Brueil-en-Vexin (78) - Etude d'impact écologique.
- Ecosphère, 2016. Projet de centre de tri mécanisé de déchets de chantier et déchèterie professionnelle. Commune de Bonneuil-sur-Marne (94). Etude réalisée pour le compte de Veolia.
- Elbrecht, V., Peinert, B., Leese, F., 2017. Sorting things out: Assessing effects of unequal specimen biomass on DNA metabarcoding. *Ecol Evol* 7, 6918–6926. <https://doi.org/10.1002/ece3.3192>
- Fick, J., Söderström, H., Lindberg, R.H., Phan, C., Tysklind, M., Larsson, D.G.J., 2009. Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 2522–2527. <https://doi.org/10.1897/09-073.1>
- Foulard, S., n.d. Mode d'occupation du sol (Mos) [WWW Document]. Institut d'aménagement et d'urbanisme de la région île de France. URL <http://www.iau-idf.fr/liou-et-vous/cartes-donnees/mode-doccupation-du-sol-mos.html> (accessed 5.30.18).
- Géoportail [WWW Document], 2018. URL <https://www.geoportail.gouv.fr> (accessed 5.24.18).
- Goslee, S.C., Urban, D.L., 2007. The ecodist package for dissimilarity-based analysis of ecological data. *Journal of Statistical Software* 22, 1–19.
- Guignot, F., 1947. Coléoptères Hydrocanthares, Faune de France. ed, Faune de France. Faune de France.
- Hajibabaei, M., Spall, J.L., Shokralla, S., van Konynenburg, S., 2012. Assessing biodiversity of a freshwater benthic macroinvertebrate community through non-destructive environmental barcoding of DNA from preservative ethanol. *BMC Ecology* 12, 28. <https://doi.org/10.1186/1472-6785-12-28>
- Hansen, M., 1987. The Hydrophiloidea (Coleoptera) of Fennoscandia and Denmark, Fauna Entomologica Scandinavica. Brill.
- Hassall, C., Hollinshead, J., Hull, A., 2012. Temporal dynamics of aquatic communities and implications for pond conservation. *Biodivers Conserv* 21, 829–852. <https://doi.org/10.1007/s10531-011-0223-9>
- Hassall, C., Hollinshead, J., Hull, A., 2011. Environmental correlates of plant and invertebrate species richness in ponds. *Biodivers Conserv* 20, 3189–3222. <https://doi.org/10.1007/s10531-011-0142-9>

- Hebert, Paul D. N., Cywinska, A., Ball, S.L., deWaard, J.R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270, 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hebert, Paul D.N., Ratnasingham, S., de Waard, J.R., 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270, S96–S99. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>
- Heidemann, H., Seidenbusch, R., 2002. Larves et exuvies des libellules de France et d'Allemagne (sauf Corse), Société française d'odonatologie. ed.
- Holmen, M., 1997. The Aquatic Adephega (Coleoptera) of Fennoscandia and Denmark, Volume I. Gyrinidae, Haliplidae, Hygrobiidae and Noteridae : Gyrinidae, Haliplidae, Hygrobiidae and Noteridae. Brill.
- Kassambara, A., Mundt, F., 2017. factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses.R package version 1.0.5.
- Le, S., Josse, J., Husson, F., 2008. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* 25, 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Meiklejohn, K.A., Damaso, N., Robertson, J.M., 2019. Assessment of BOLD and GenBank – Their accuracy and reliability for the identification of biological materials. *PLOS ONE* 14, e0217084. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217084>
- Miler, O., Porst, G., McGoff, E., Pilotto, F., Donohue, L., Jurca, T., Solimini, A., Sandin, L., Irvine, K., Aroviita, J., Clarke, R., Pusch, M.T., 2013. Morphological alterations of lake shores in Europe: A multimetric ecological assessment approach using benthic macroinvertebrates. *Ecological indicators*.
- Mondy, C.P., Villeneuve, B., Archambault, V., Usseglio-Polatera, P., 2012. A new macroinvertebrate-based multimetric index (I2M2) to evaluate ecological quality of French wadeable streams fulfilling the WFD demands: A taxonomical and trait approach. *Ecological Indicators* 18, 452–467. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.12.013>
- Oertli, B., Biggs, J., Céréghino, R., Grillas, P., Joly, P., Lachavanne, J.-B., 2018. Conservation and monitoring of pond biodiversity: introduction. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 15, 535–540. <https://doi.org/10.1002/aqc.752>
- Oksanen, J., Blanchet, G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., Minchin, P., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E., Wagner, H., 2019. vegan: Community Ecology. Package.R package version 2.5-6.
- Olmi, M., 1976. Fauna d'Italia, Coleoptera, Dryopidae - Elminthidae, Edizioni Calderini Bologna. ed.
- OPIE - AEV, 2005a. Domaine Régional de Flicourt (Guernes – 78), OPIE. ed.
- OPIE - AEV, 2005b. Domaine Régional du Marais de Stors (Mériel - 95), OPIE. ed.
- Pakulnicka, J., Górski, A., Bielecki, A., 2015. Environmental factors associated with biodiversity and the occurrence of rare, threatened, thermophilous species of aquatic beetles in the anthropogenic ponds of the Masurian Lake District. *Biodivers Conserv* 24, 429–445. <https://doi.org/10.1007/s10531-014-0774-7>

- Paris-Saclay Open Data — Accueil [WWW Document], 2018. URL <https://opendata.paris-saclay.com/pages/accueil/> (accessed 6.4.18).
- Pauw, N.D., Roels, D., Fontoura, A.P., 1986. Use of artificial substrates for standardized sampling of macroinvertebrates in the assessment of water quality by the Belgian Biotic Index. *Hydrobiologia* 133, 237–258. <https://doi.org/10.1007/BF00005595>
- PERLA [WWW Document], n.d. . Macroinvertébrés - PERLA - Ministère du Développement durable. URL <http://www.perla.developpement-durable.gouv.fr/index.php/arbre/>
- Picard, L., Leroy, B., 2015. Inventaire des coléoptères aquatiques des mares de Basse-Normandie en vue de l’application d’un indice biologique - Rapport de synthèse 2011-2014 -. GRETIA.
- QGIS Development Team, n.d. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation.
- Queney, P., 2016. Catalogue des coléoptères aquatiques de la région parisienne. Association Magellanes.
- R Development Core Team, 2005. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ratnasingham, S., Hebert, P.D.N., 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes* 7, 355–364. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x>
- Sánchez-Fernández, D., Abellán, P., Mellado, A., Velasco, J., Millán, A., 2006. Are Water Beetles Good Indicators of Biodiversity in Mediterranean Aquatic Ecosystems? The Case of the Segura River Basin (SE Spain). *Biodivers Conserv* 15, 4507–4520. <https://doi.org/10.1007/s10531-005-5101-x>
- Si les mares m’étaient comptées ... inventaire des mares d’Ile-de-France [WWW Document], 2018. URL <http://www.snpn.mares-idf.fr/> (accessed 6.4.18).
- Smith, M.R., 2017. Ternary: An R Package for Creating Ternary Plots. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1068996>
- Sweeney, B.W., Battle, J.M., Jackson, J.K., Dapkey, T., 2011. Can DNA barcodes of stream macroinvertebrates improve descriptions of community structure and water quality? *jnbs* 30, 195–216. <https://doi.org/10.1899/10-016.1>
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C., Willerslev, E., 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecology* 21, 2045–2050. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05470.x>
- Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M., Usseglio-Polatera, P., 2010. Invertébrés d’eau douce, systématique, biologie, écologie. CNRS Editions.
- Virgilio, M., Backeljau, T., Nevado, B., De Meyer, M., 2010. Comparative performances of DNA barcoding across insect orders. *BMC Bioinformatics* 11, 206. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-206>
- Warren, P.H., 1989. Spatial and Temporal Variation in the Structure of a Freshwater Food Web. *Oikos* 55, 299–311. <https://doi.org/10.2307/3565588>
- White, J.C., Hill, M.J., Bickerton, M.A., Wood, P.J., 2017. Macroinvertebrate Taxonomic and Functional Trait Compositions within Lotic Habitats Affected By River Restoration

Practices. *Environmental Management* 60, 513–525. <https://doi.org/10.1007/s00267-017-0889-1>

Wolski, W., 2018. quantable: Streamline Descriptive Analysis of Quantitative Data Matrices.R package version 0.3.6.

Zone de protection naturelle, agricole et forestière [WWW Document], 2018. URL <http://www.epaps.fr/contenu/zone-de-protection-naturelle-agricole-et-forestiere/> (accessed 6.4.18).

Annexes

Annexe 1 : Positionnement des mares, sur un fond de carte Géoportail. Les triangles noirs bordés bleu représentent les mares suivies en 2015 uniquement en test, puis remplacées par de nouvelles, les cercles noirs bordés rouges représentent les mares suivies pour l'étude. (p.89)

Annexe 2 : Exemple des premières catégories attribuées dans le MOS 2012, avec leur déclinaison selon le nombre de postes considérés. (p.90)

Annexe 3 : Ratio des Ordres d'insectes dans la faune en France métropolitaine, Corse comprise dans la base TaxRef v12 (novembre 2018) de l'INPN. (p.91)

Annexe 4 : Biote prélevé lors des quatre campagnes C1, C2, C3 et C4, de prélèvements des printemps et automnes de 2016 et 2017. (p.92)

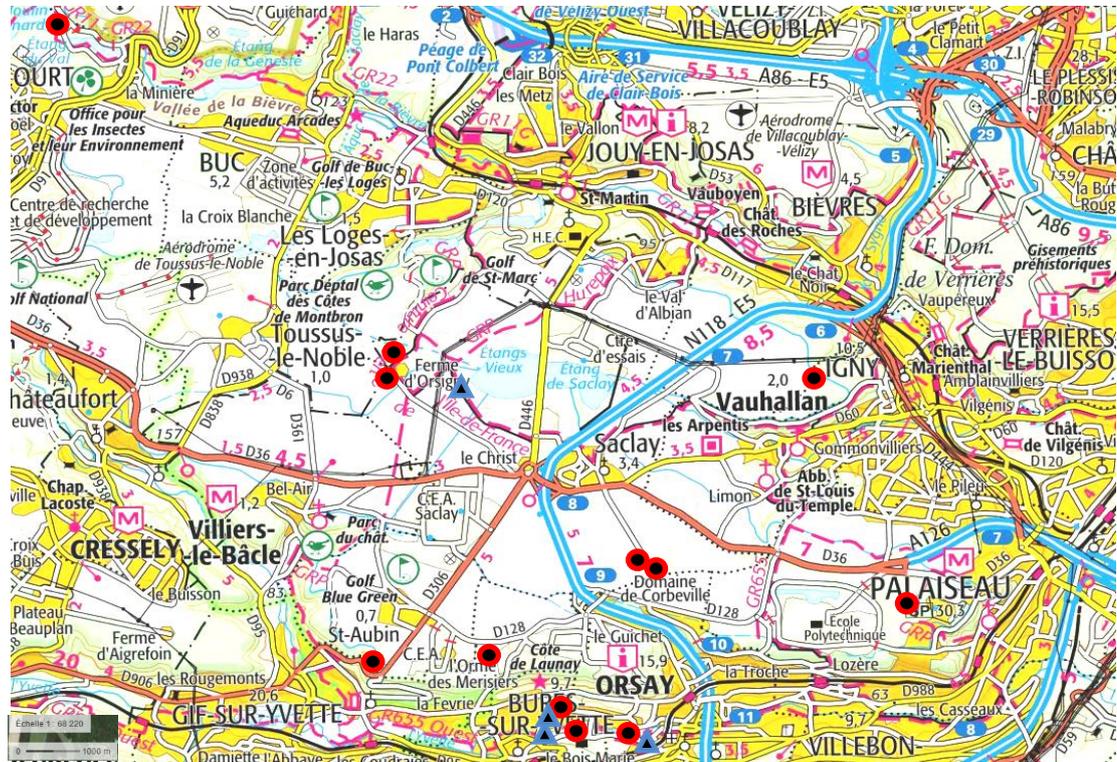
Annexe 5 : Arthropodes regroupés par Classes, prélevés lors des quatre campagnes C1, C2, C3 et C4, de prélèvements des printemps et automnes de 2016 et 2017. (p.93)

Annexe 6 : Poster présenté lors de la 9^{ème} Conférence Internationale Francophone d'Entomologie (CIFE9), Montpellier 2018. (p.94)

Annexe 7: Comparaison de l'occupation du sol pour les 16 mares étudiées à deux zones tampon, 50m et 100m avec regroupement des sorties de Theia 2016 en quatre grandes catégories (Rural, urbain, forêt et eau). (p.95)

Annexe 8 : Comparaison de l'occupation du sol pour les 12 mares étudiées depuis 2016, selon deux zones tampon, 50m et 100m, avec regroupement des sorties de Theia 2016 en quatre grandes catégories (Rural, urbain, forêt et eau). (p.96)

Annexe 1 : Positionnement des mares, sur un fond de carte Géoportail. Les triangles noirs bordés bleu représentent les mares suivies en 2015 uniquement en test, puis remplacées par de nouvelles, les cercles noirs bordés rouges représentent les mares suivies pour l'étude.

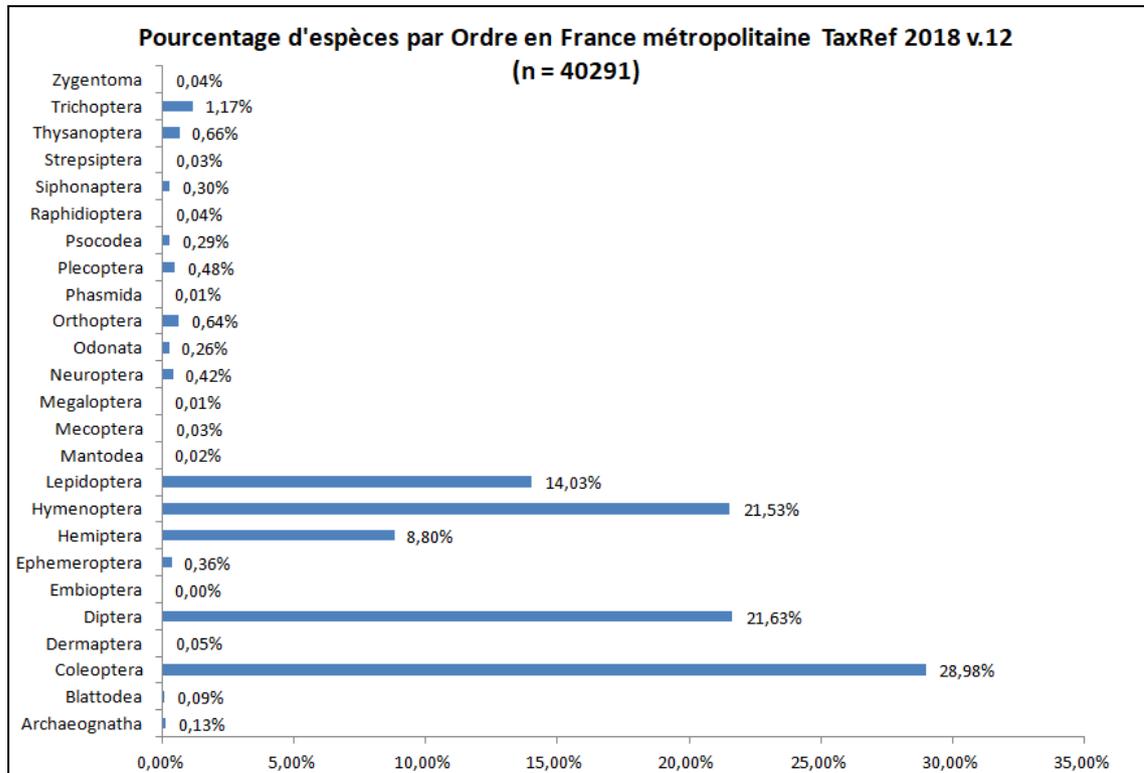


Annexe 2 : Exemple des premières catégories attribuées dans le MOS 2012, avec leurs déclinaisons selon le nombre de postes considérés.

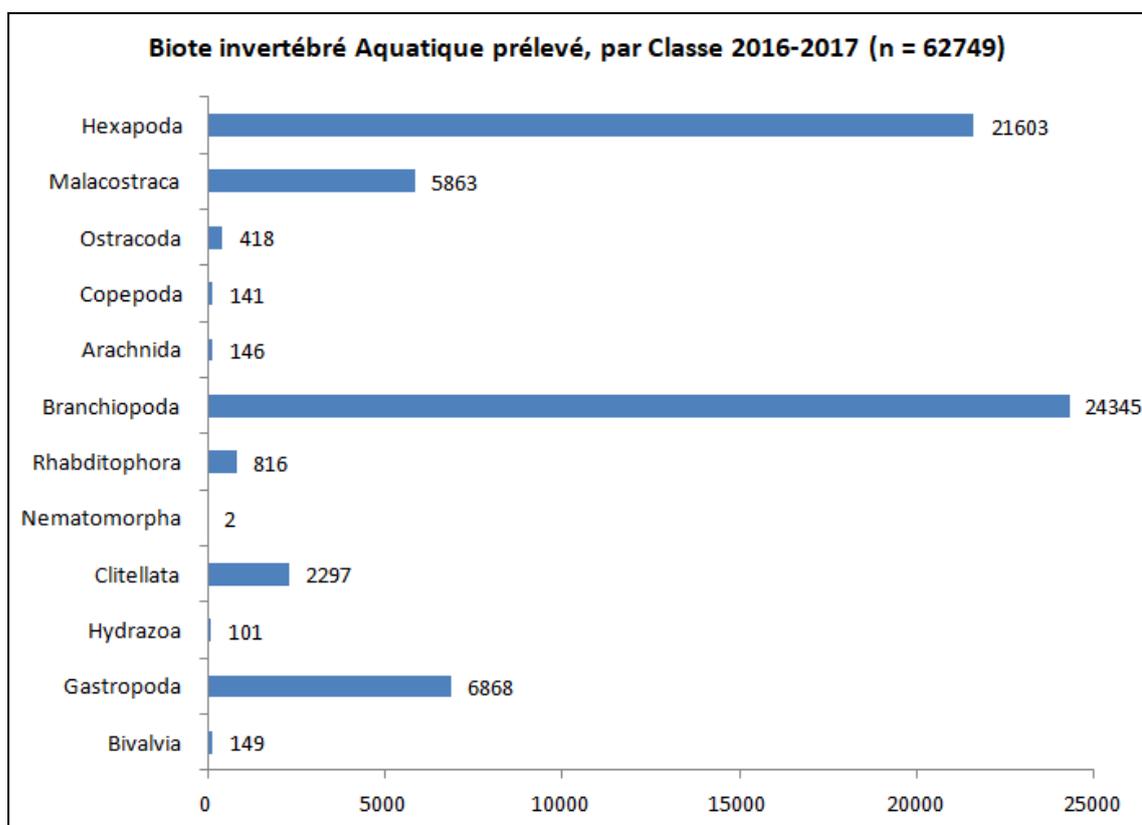
 INSTITUT D'AMÉNAGEMENT ET D'URBANISME ÎLE-DE-FRANCE Nomenclature du mode d'occupation des sols - Mos			
11 postes	24 postes	47 postes	81 postes
1  Forêts	1  Forêts	1  Bois ou forêts 2  Coupes ou clairières en forêts 3  Peupleraies	1  Bois ou forêts 2  Coupes ou clairières en forêts 3  Peupleraies
2  Milieux semi-naturels	2  Milieux semi-naturels	4  Milieux semi-naturels	4  Espaces ouverts à végétation arbustive ou herbacée 5  Berges
3  Espaces agricoles	3  Grandes cultures 4  Autres cultures	5  Terres labourées 6  Prairies 7  Vergers, pépinières 8  Maraîchage, horticulture 9  Cultures intensives sous serres	6  Terres labourées 7  Prairies 8  Vergers, pépinières 9  Maraîchage, horticulture 10  Cultures intensives sous serres
4  Eau	5  Eau	10  Eau	11  Eau fermée (étangs, lacs...) 12  Cours d'eau
5  Espaces ouverts artificialisés	6  Espaces verts urbains	11  Parcs ou jardins 12  Jardins familiaux 13  Jardins de l'habitat	13  Parcs ou jardins 14  Jardins familiaux 15  Jardins de l'habitat individuel 16  Jardins de l'habitat rural 17  Jardins de l'habitat continu bas
	7  Espaces ouverts à vocation de sport	14  Terrains de sport en plein air 15  Equipements sportifs de grande surface	18  Terrains de sport en plein air 19  Tennis découverts 20  Baignades 21  Parcs d'évolution d'équipements sportifs 22  Golfs 23  Hippodromes 24  Camping, caravaning
	8  Espaces ouverts à vocation de tourisme et loisirs	16  Camping, caravaning 17  Parcs liés aux activités de loisirs sauf parcs de châteaux 18  Cimetières 19  Surfaces engazonnées avec ou sans arbustes 20  Terrains vacants	25  Parcs liés aux activités de loisirs sauf parcs de châteaux 26  Cimetières 27  Surfaces engazonnées avec ou sans arbustes 28  Terrains vacants
	9  Cimetières 10  Autres espaces ouverts		

© IAU îdF 2012

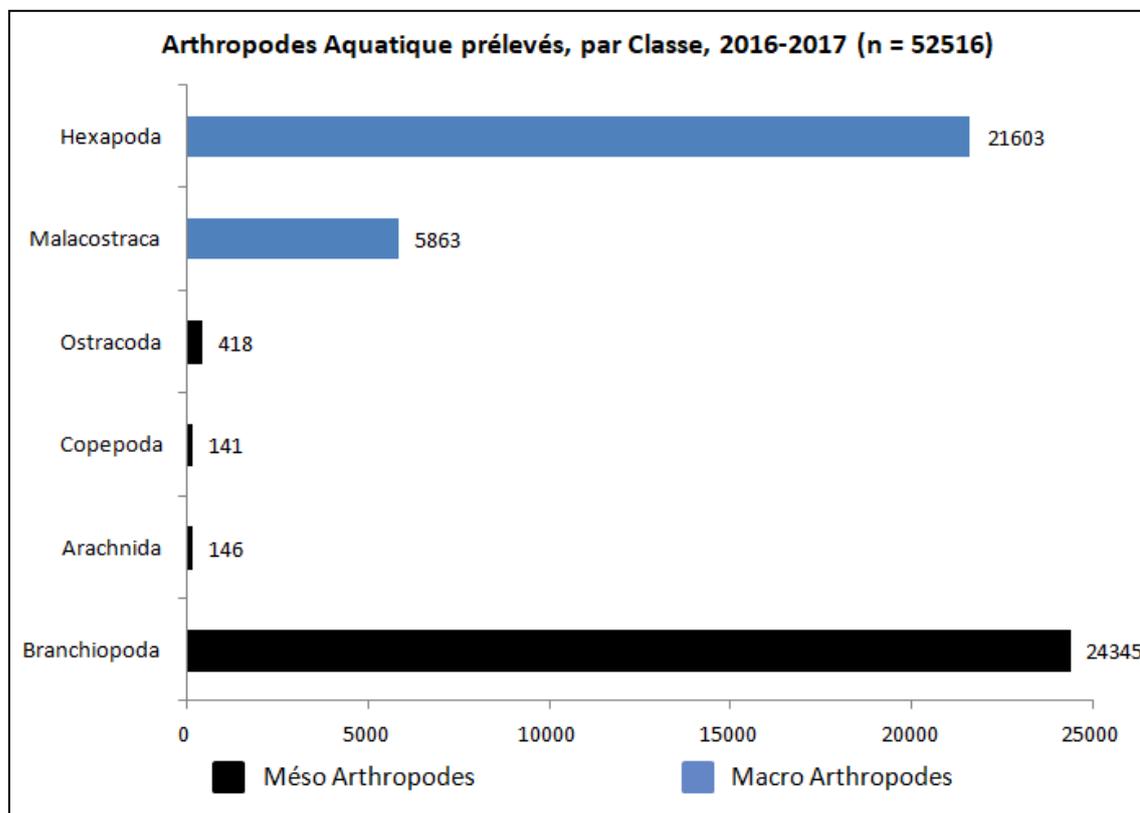
Annexe 3 : Ratio des Ordres d'insectes dans la faune en France métropolitaine, Corse comprise dans la base TaxRef v12 (novembre 2018) de l'INPN.



Annexe 4 : Biote prélevé lors des quatre campagnes C1, C2, C3 et C4, de prélèvements des printemps et automnes de 2016 et 2017.



Annexe 5 : Arthropodes regroupés par Classes, prélevés lors des quatre campagnes C1, C2, C3 et C4, de prélèvements des printemps et automnes de 2016 et 2017.



Annexe 6 : Poster présenté lors de la 9^{ème} Conférence Internationale Francophone d'Entomologie (CIFE9), Montpellier 2018.

Identification par morphologie et metabarcoding des macro-invertébrés de mares en milieu périurbain

C. Hanot¹, C. Capdevielle Dulac², M. Harry², E. Baudry¹

¹UMR 8079 Ecologie, Systématique et Evolution, Université Paris-Sud, Bat. 362, 91405 Orsay Cedex
²UMR 9191 Evolution Génome Comportement Ecologie, CNRS, 91190 Gif-sur-Yvette

Contexte

- Le plateau de Saclay (F-91) est en cours d'urbanisation dans l'optique de l'élaboration d'un cluster scientifique lié au Grand Paris.
- Les mares sont de petites retenues d'eau présentant une dynamique temporaire rapide. En tant qu'accumulateur de contaminants, elles peuvent permettre de tracer les changements liés à l'urbanisation.
- Elles hébergent de nombreux organismes qui peuvent être perturbés par l'urbanisation.

Objectif

➔ La recherche de la diversité spécifique par le metabarcoding est-elle la solution rapide et efficace pour accéder à la connaissance de la vie des mares ?

L'objectif général du projet est de lier les perturbations induites par l'urbanisation à leur impact sur les réseaux trophiques de macro-invertébrés aquatiques. Nous présenterons ici les résultats d'une comparaison d'identifications morphologiques avec le metabarcoding faite sur les mêmes lots de juin 2016. Pour cela, les Arthropodes ont été collectés dans douze mares sur le plateau de Saclay et la vallée de l'Yvette.

Prélèvements

- Choix de 12 mares sur le territoire d'étude avec caractérisation de leur environnement sur un buffer de 50m
- Prélèvements effectués sur deux emplacements de chaque mare, fin juin 2016. Utilisation d'un troubleau, vide de maille 1,25 mm
- Tri des animaux en laboratoire
- Isolement des Arthropodes

Matériel et méthodes

Analyses

- **Identification :**
 - L'identification morphologique s'est déroulée sous binoculaire. Tous les spécimens ont été conservés en éthanol absolu, en chambre froide.
 - Des morphotypes ont été créés et séquencés individuellement.
- **Metabarcoding :**
 - 2 fragments du gène COI ont été amplifiés et séquencés (MiSeq).
 - Blast de la base de données BOLD (Barcode Of Life Datasystem), traitement du jeu de données obtenu puis proposition de liste taxonomique.

Taxons prélevés

Ratio des Classes dans les prélèvements (199 taxons)

- Les Hexapodes représentent l'écrasante majorité des taxons prélevés.
- La présence en faible effectif de certaines Classes pourrait être due à la maille du troubleau.

Apport du metabarcoding au rang de la Famille

Impact du metabarcoding sur les déterminations au rang de la Famille

- Cinq Familles sont dominantes en nombre de taxons : Chironomidae (Diptera), Corixidae (Hemiptera), Dytiscidae, Halipidae (Coleoptera), Aeshnidae (Odonata).
- Les améliorations sont les plus représentées dans les Ordres Holométaboles (Diptera & Coleoptera).
- Les nouveaux taxons proposés par le metabarcoding sont pour les lots ayant des larves et nymphes (Diptera & Coleoptera).
- Le metabarcoding permet de confirmer les identifications faites principalement sur adultes (Coleoptera, Hemiptera) et sur juvéniles avancés (Odonata).

Remarques fichier source

- Des OTU (Unité Taxonomique Opérationnelle) considérées comme douteuses (principalement exotiques) sont remontés malgré
 - la purge des chimères
 - les contrôles des séquences suite au blast de BOLD.
- Elles présentent une similitude de séquences avec le référentiel BOLD comprise entre 80% et 88%. Ces taxons ne sont pas identifiables.

Apport du metabarcoding au sein de la Classe

Impact du metabarcoding sur les déterminations au sein de la Classe

- Les identifications morphologiques sur les larves et nymphes ont rarement été à l'espèce.
- Le metabarcoding apporte une amélioration dans la classe des Hexapodes.
- Certains identifications morphologiques et par metabarcoding sont conflictuels.

Conclusions

- L'intérêt du metabarcoding réside dans sa capacité à discriminer des taxons présents à l'état larvaire, difficilement identifiables morphologiquement.
- L'inaccessibilité aux effectifs des taxons obtenus est un frein à l'étude de l'évolution des communautés d'Arthropodes des mares, donc de l'impact de l'urbanisation sur ces biotopes.
- Le temps de traitement pour aboutir aux listes de taxons n'a été quantifié par aucune des deux équipes participant à cette étude.
- Les bases de référence ADN doivent encore s'enrichir via du séquençage spécifique d'individus adultes identifiés et confirmés par des experts.
- Des répétitions dans le temps d'identifications par metabarcoding peuvent permettre de déceler des changements de biodiversité.

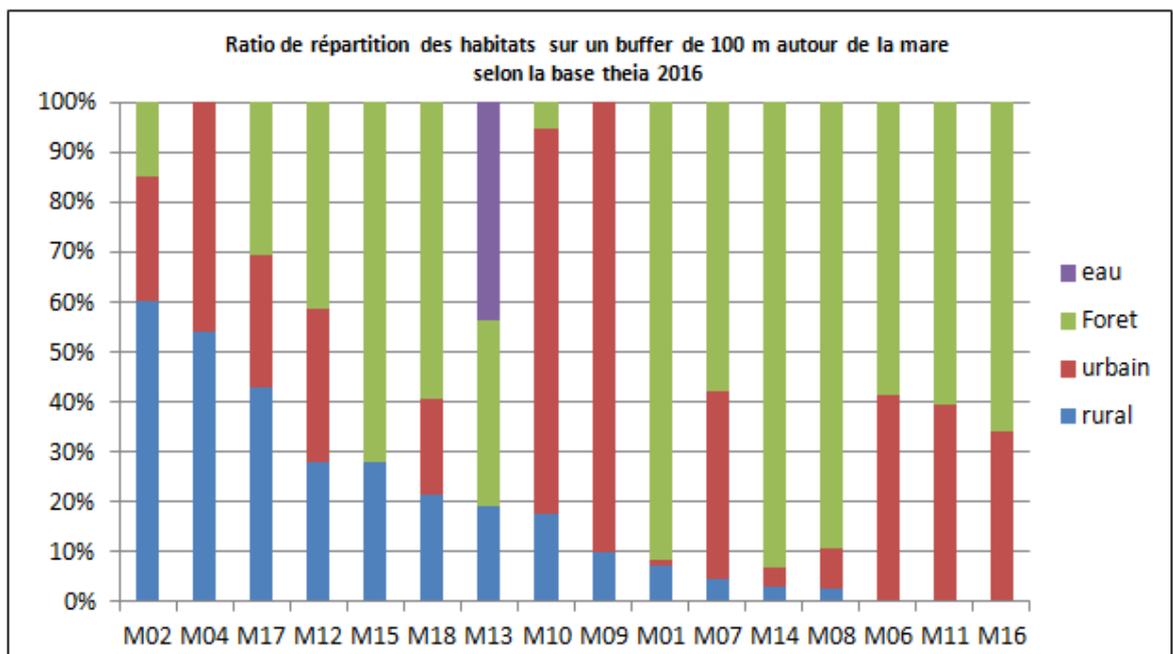
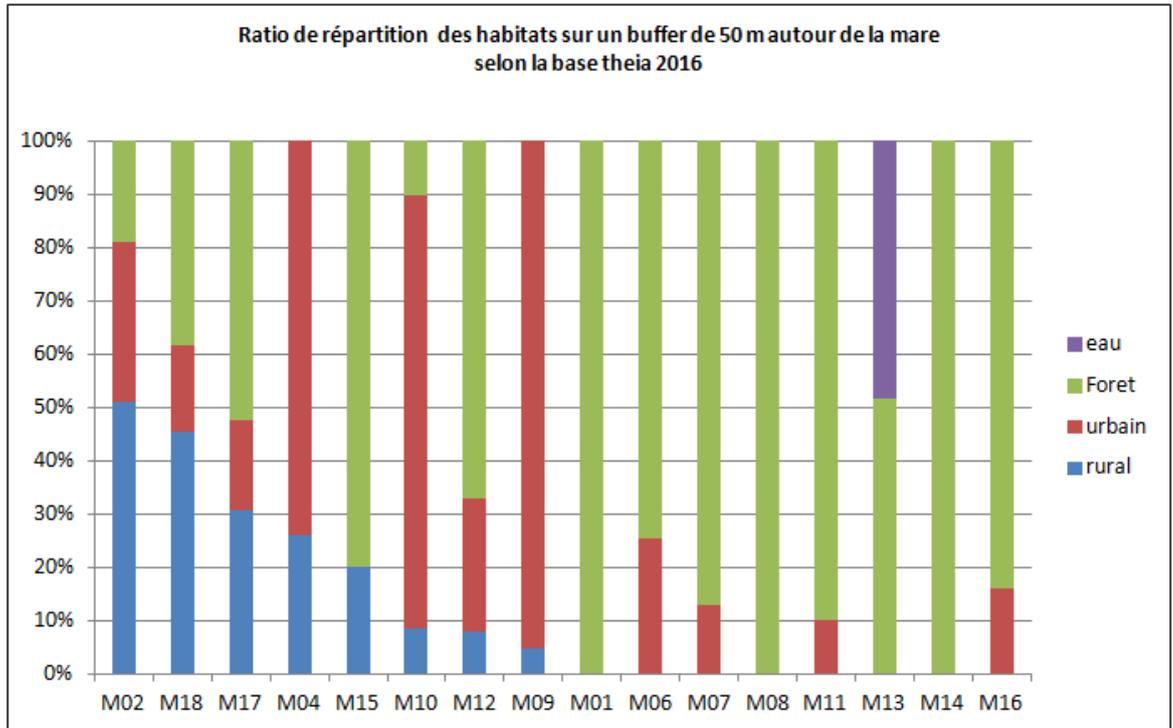
Références

BOLD - <http://www.boldsystems.org/>
 Photos: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Charadrius_obscuripes_larva_adult.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Larve_de_Chironomus_Tribu_Chironomini.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chironomus_larva_20150428_1123.jpg
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Stalk_Larva_3464.jpg

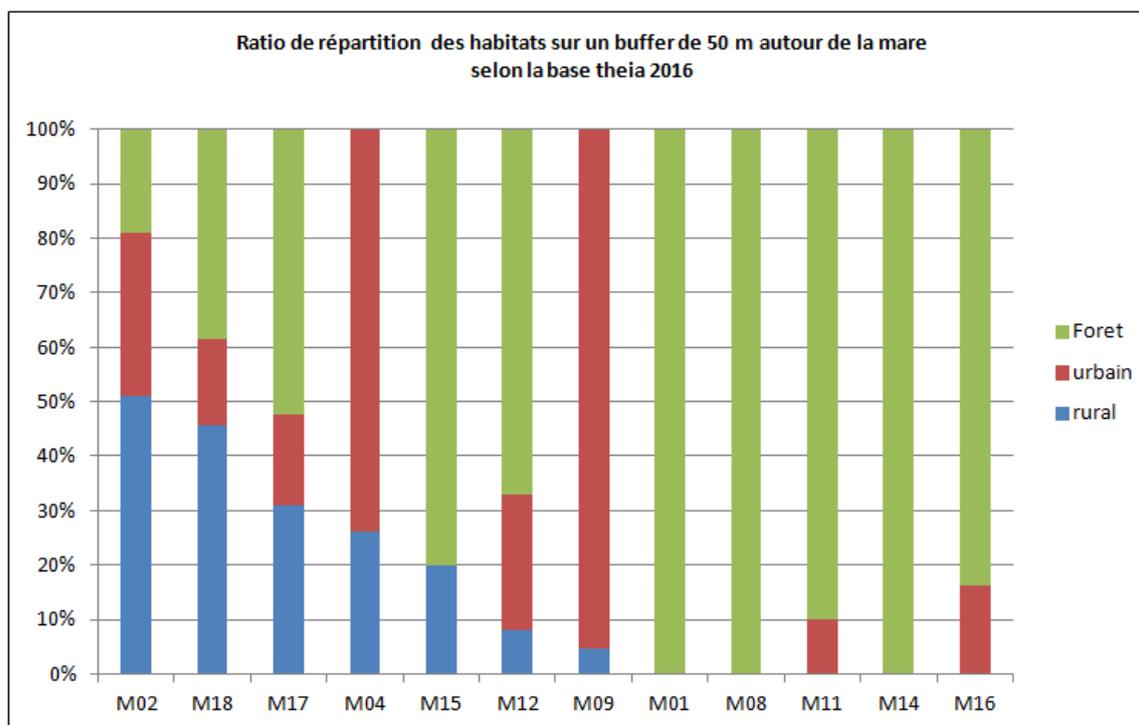
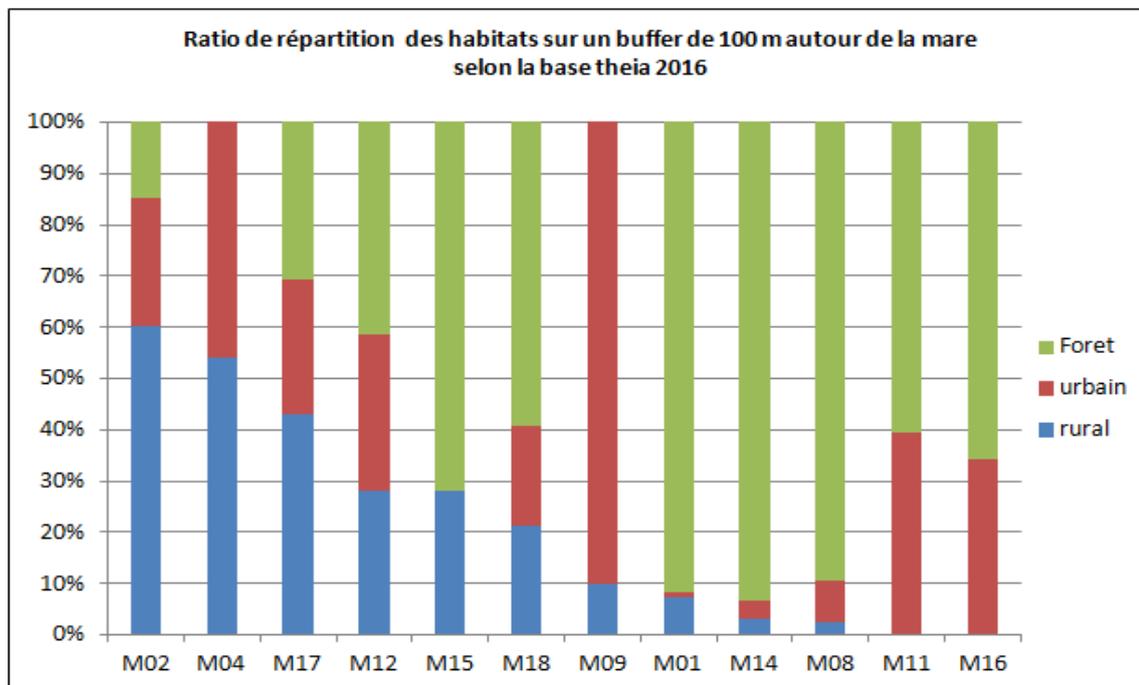
Remerciements

Cette étude a été financée par la Région Ile de France (PSDR 4, projet Dynamiques).

Annexe 7: Comparaison de l'occupation du sol pour les 16 mares étudiées à deux zones tampon, 50m et 100m avec regroupement des sorties de Theia 2016 en quatre grandes catégories (Rural, urbain, forêt et eau).



Annexe 8 : Comparaison de l'occupation du sol pour les 12 mares étudiées depuis 2016, selon deux zones tampon, 50m et 100m, avec regroupement des sorties de Theia 2016 en quatre grandes catégories (Rural, urbain, forêt et eau).



Projet de recherche proposé à la première inscription EPHE-SVT

<p style="text-align: center;">Etude des macro-invertébrés des milieux aquatiques dans un territoire à vocation agricole en cours d'urbanisation.</p>
--

Projet Ch. Hanot, au sein du laboratoire d'Ecologie Systématique et Evolution, équipe Ecologie des Population et des Communautés, sous la direction de Carmen Bessa-Gomes.

L'urbanisation est un des plus importants changements causés par l'homme sur son environnement. Les impacts de l'urbanisation se font sentir dans les villes elles-mêmes mais également dans les zones alentours, c'est à dire dans le milieu périurbain. En effet, les zones urbaines qui s'étendent sur le milieu "naturel" modifient profondément les écosystèmes en périphérie de ces zones en raison notamment du changement d'utilisation des terres et de l'accumulation de polluants. Ceci a des conséquences importantes sur la composition et le fonctionnement de la biodiversité.

Le plateau de Saclay est un territoire situé à l'interface de l'agglomération parisienne et les grandes plaines qui l'entourent. Le plateau de Saclay est actuellement dans une phase de modification majeure, en raison de la mise en place d'un projet d'envergure Nationale, passant de l'exploitation agricole à une urbanisation forte par la création d'un cluster scientifique et technologique. Ceci aura pour conséquence l'émergence de bâtiments à vocation d'enseignement, d'habitations, de services tertiaire, etc. En parallèle, une zone de protection naturelle, agricole et forestière (ZNPAF) a été mise en place sur le plateau. Elle comprend une superficie totale de 4 115 ha, dont près de 2 500 ha de terres agricoles.

Le plateau de Saclay a été choisi comme territoire expérimental pour un large projet d'étude des dynamiques de la biodiversité et des services écosystémiques pendant le développement périurbain car il reflète à une échelle plus réduite une partie importante des problématiques de l'Ile de France. Dans un contexte de changement majeur de l'occupation des sols du territoire, le projet vise à (i) établir l'état initial de la biodiversité du plateau de

Saclay élargi qui servira d'état de référence, (ii) étudier l'évolution des communautés d'espèces au cours du temps, et (iii) identifier des bio-indicateurs de l'état de conservation et de l'évolution des milieux. La relation entre le fonctionnement des écosystèmes et l'urbanisation sera étudiée en utilisant également le gradient spatial d'urbanisation qui existe sur le territoire d'étude selon un axe de distance (N-S / E-O). L'étude permettra de mieux comprendre l'évolution de la biodiversité et le fonctionnement de l'écosystème, pendant l'urbanisation du plateau.

Dans le cadre du projet général, les études porteront sur le milieu terrestre et le milieu aquatique. Mon projet porte sur l'étude des macro-invertébrés des milieux aquatiques (eau stagnante et eau courante). En 2015, une première étude pilote m'a permis d'étudier la diversité des macro-invertébrés d'une dizaine de mares situées dans le plateau de Saclay (identification morphologique la plus fine possible des espèces présentes). En parallèle, l'ADN des individus échantillonnés a été extrait, et des analyses de code barre génétique utilisant des méthodes de séquençage à haut débit seront mis en place par des collègues. Cette étude pilote va servir à la définition du protocole définitif de mon projet. Ainsi, à partir de 2016, j'analyserai la faune des macro-invertébrés d'un nombre un peu plus importants de points d'eau. Mes objectifs sont en étroite lien avec les objectifs du projet global :

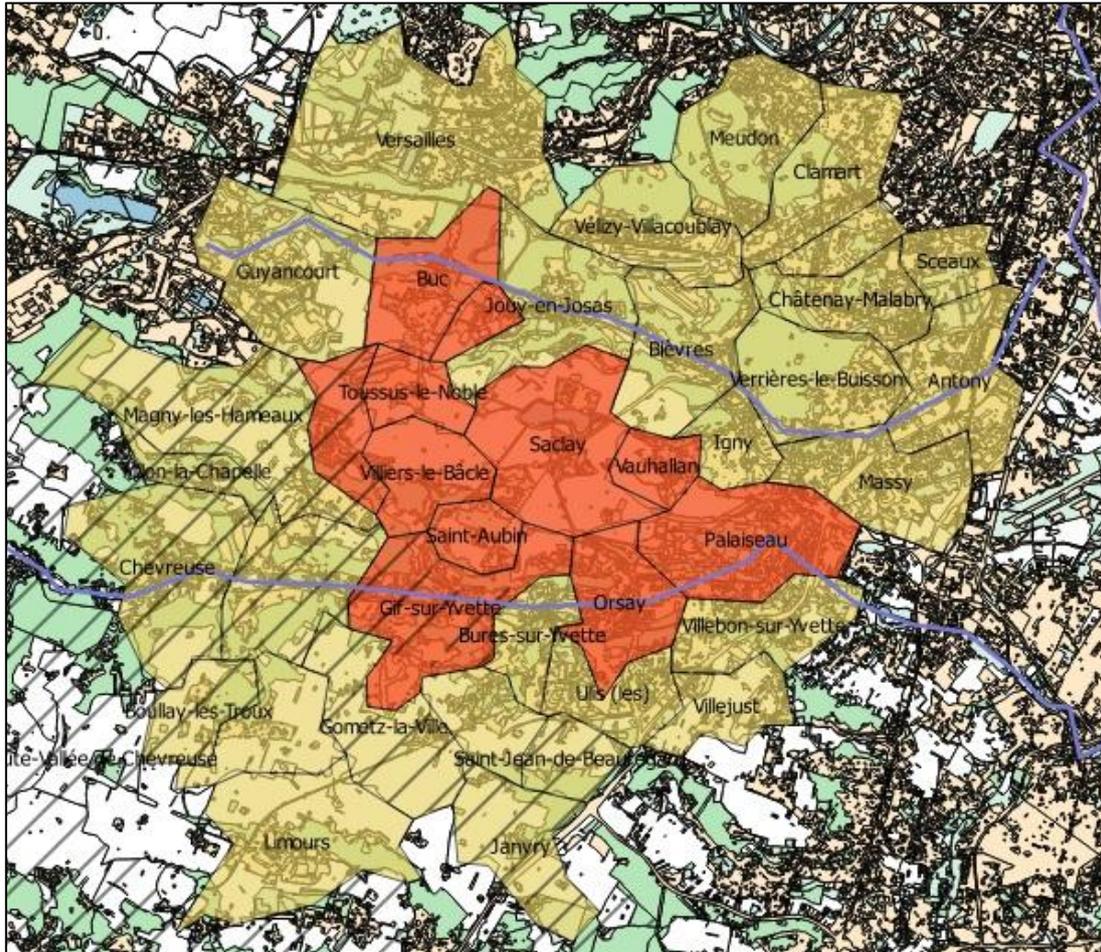
- (i) établir l'état initial de la biodiversité du plateau de Saclay élargi qui servira d'état de référence

Inventaire des macro-invertébrés de mares de la zone d'étude. Ceci comprendra également un volet méthodologique, avec la comparaison de l'efficacité des méthodes d'identification morphologiques et moléculaires de la faune étudiée

- (ii) étudier l'évolution des communautés d'espèces au cours du temps
L'analyse va porter sur la dynamique temporelle des communautés présentes dans les mares, ainsi que par la reconstitution des réseaux trophiques.
- (iii) identifier des bio-indicateurs de l'état de conservation et de l'évolution des milieux. L'objectif sera de mettre en relation les données de diversité des espèces et de complexité du réseau trophique avec les données de contamination chimique des mares (produites par des collègues) et les

données d'occupation des sols à différentes échelles autour des mares (également produites par des collègues). Ceci permettra de mieux comprendre les pressions de sélection qui agissent sur la biodiversité pendant le développement périurbain.

Plan de la zone d'étude du projet (données issues de l'Institut Géographique National)



(IGN)

ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES
SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

Étude des macro-invertébrés des milieux aquatiques dans un territoire à vocation agricole en cours d'urbanisation

HANOT Christophe

10 janvier 2020

RÉSUMÉ

Le plateau de Saclay est actuellement en remaniement fort quant au mode d'occupation du sol depuis la mise en place du projet de cluster scientifique de rayonnement international. Dans ce contexte, ce projet a visé à mettre en place un protocole d'échantillonnage qui permettra de pouvoir caractériser les mares sur la base de l'étude de leur faune résidente, tout particulièrement les Arthropodes voyant tout ou partie de leur cycle de vie s'y dérouler. L'approche d'identification morphologique a été comparée à celle basée sur le séquençage d'une portion du gène mitochondrial CO1. La caractérisation des mares à partir des individus séparés via la méthode morphologique classique a été ensuite comparée à celle obtenue via du séquençage de masse par la méthode de metabarcoding. Les mares ont ensuite été comparées en intégrant le contexte paysager selon la nature de l'occupation du sol sur une zone tampon de 50 m. Il est alors apparu que l'identification des individus appartenant aux Ordres des Coléoptères, des Diptères, des Hémiptères et des Odonates permet de caractériser les mares en minimisant la pression d'étude et de collecte. Le cycle de vie de la mare, représenté par son assèchement total ou partiel durant une période de l'année, est un des traits majeurs à prendre en compte. De plus, le contexte paysager joue un rôle majeur dans leur caractérisation, tout particulièrement la présence de massif boisé et d'espaces verts.

Les données biotiques obtenues pourront dans le futur être analysées pour caractériser les réseaux trophiques. Les taxons rencontrés pourront de plus être mis en relation avec les contaminants de l'eau et des sédiments, qui ont été mesurés en parallèle des relevés des Invertébrés aquatiques lors des campagnes de 2016 et 2017.

MOTS-CLÉS : Ecologie, Arthropodes, Insectes, mares, Urbanisation, Saclay