



HAL
open science

Mesure de la pollution lumineuse nocturne in natura et étude du rythme circadien de la sécrétion de mélatonine chez des têtards d'amphibiens soumis à la pollution lumineuse

Adeline Dumet

► **To cite this version:**

Adeline Dumet. Mesure de la pollution lumineuse nocturne in natura et étude du rythme circadien de la sécrétion de mélatonine chez des têtards d'amphibiens soumis à la pollution lumineuse. Biodiversité et Ecologie. 2020. hal-03100643

HAL Id: hal-03100643

<https://ephe.hal.science/hal-03100643>

Submitted on 6 Jan 2021

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 SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

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

MÉMOIRE

Présenté par
Adeline DUMET

Pour l'obtention du Diplôme de l'École Pratiques des Hautes Études

Mesure de la pollution lumineuse nocturne in natura et étude du rythme circadien de la sécrétion de mélatonine chez des têtards d'amphibiens soumis à la pollution lumineuse

Soutenu le 27/11/2020, devant le jury suivant

Mme Goutte Aurélie - Présidente
Mme Mondy Nathalie – Tutrice scientifique
M. Carcaillet Christopher – Tuteur pédagogique
Mme Amat Isabelle – Rapportrice
M. Kaufmann Bernard- Examineur

Mémoire préparé sous la direction de :

Mondy Nathalie

Structure d'accueil : UMR 5023, Laboratoire d'Écologie des Hydrosytèmes naturels et anthropisés (LEHNA), Villeurbanne

Directeur : M. Douady Christophe

et de

Carcaillet Christopher

Structure d'accueil EPHE : UMR 5023, Laboratoire d'Écologie des Hydrosytèmes naturels et anthropisés (LEHNA), Villeurbanne

EPHE (Sciences de la Vie et de la Terre)

Groupe de Recherche et d'Enseignement Thématiques de l'EPHE : Dynamique des environnements naturels et anthropisés (DENA)

Remerciements

Je tenais à remercier, en tout premier Nathalie Mondy, ma tutrice scientifique qui m'a soutenu tout le long de ce projet, et ce dès les premières fois que j'ai évoqué l'envie de suivre cette formation. Merci de la confiance et du temps que tu m'as accordé pour mener à bien ce projet un peu particulier. Merci de me permettre d'avancer et de m'épanouir dans mon travail. Je remercie également Christopher Carcaillet, mon tuteur pédagogique, pour son suivi et ses conseils lors de la rédaction du CCR et de ce mémoire.

Un très grand merci à Morgane Touzot pour les innombrables heures consacrées au nettoyage des aquariums de têtards et pour les interminables nuits de prélèvement, et ce toujours dans la bonne humeur. Merci pour les longues discussions que nous avons eu pour arriver à exploiter et interpréter les résultats de qPCR. J'en profite pour remercier Hélène Henri et Emmanuel Desouhant du LBBE qui ont largement contribué à l'aboutissement de la 2^{ème} partie de ce mémoire. Merci Hélène de m'avoir formé à la technique de la qPCR dans toutes ses subtilités. Je remercie Emmanuel pour le temps qu'il a consacré à m'expliquer comment réaliser et interpréter les analyses statistiques des résultats de qPCR.

Merci à Thierry Lengagne pour tout ce qui concerne les mesures de la pollution lumineuse. Merci de m'avoir accompagné sur le terrain, pour le temps consacré à faire avancer ce projet malgré les nombreuses « difficultés » rencontrées et pour la relecture de ce manuscrit. Un grand merci à Philippe Deverchère du bureau d'étude de DarskyLab pour les nombreuses explications que tu m'as fournies sur les mesures de la lumière nocturne. Nous étions bien naïfs avec Thierry de penser que ce type de mesure était simple à réaliser et à analyser. Merci pour les cartes que tu m'as fournies, pour ta disponibilité et pour ta réactivité face à mes nombreuses questions.

Merci à Lara pour ton soutien indéfectible au quotidien dans le bureau. Ta bonne humeur et ton implication font que c'est un réel plaisir de travailler ensemble (même si ces moments me paraissent trop rares). Merci pour ta confiance en moi et pour tous les bons moments passés ensemble.

Je remercie tous les membres de mon équipe pour leur soutien moral, technique ou financier. Merci d'avoir « allégé » mon travail en tant que technicienne et ainsi de m'avoir laissé du temps à consacrer à ce projet. Merci à tous les membres du laboratoire qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

Et pour finir, merci à ma famille et à mes amis qui m'ont soutenu tout au long de ses années. Pouvoir relâcher la « pression » auprès de vous n'a pas de prix.

Table des matières

Liste des abréviations	4
Liste des figures	5
Liste des tableaux	7
Introduction	8
1. La pollution lumineuse nocturne	8
1.1. Qu'est-ce que la pollution lumineuse ?.....	8
1.2. Variations de la luminosité naturelle et artificielle pendant le nuit	10
2. Les effets de la pollution lumineuse sur la biodiversité	12
2.1. Impact sur les traits d'histoire de vie et le comportement.....	12
2.2. Mécanismes physiologiques impactés par la pollution lumineuse.....	14
3. La mélatonine : un lien entre la pollution lumineuse et les modifications physiologiques ?	15
3.1. La mélatonine : une molécule aux rôles multiples.....	15
3.2. Mélatonine et rythmes biologiques	17
3.3. Mélatonine : stress oxydant et fonction immunitaire	18
4. Problématique.....	20
Partie I : Analyse spatiale et temporelle de la pollution lumineuse sur une zone humide	21
1. Introduction.....	21
1.1. La pollution lumineuse dans les écosystèmes aquatiques.....	21
1.2. Mesurer la pollution lumineuse	22
1.2.1. Modélisation et données satellites	23
1.2.1.1. Données issues des différents satellites.....	23
1.2.1.2. Les limites des capteurs et de la modélisation.....	23
1.2.2. Mesures de la luminosité du ciel obtenues depuis le sol.....	24
1.2.2.1. Sky Quality Meter	24
1.2.2.2. Appareil photographique équipé d'un objectif « fisheye »	25
1.3. Hypothèse et objectif	25
2. Matériels et méthodes	26
2.1. Zone d'étude	26

2.2. Mesure de la lumière nocturne.....	27
2.2.1. Capteurs JASONDARK.....	27
2.2.2. Campagne de mesure de la lumière nocturne depuis le sol.....	28
2.2.3. Données météorologiques et lunaires.....	29
2.2.4. Analyse de la variation de la luminosité du ciel nocturne.....	29
2.2.5. Simulation des cartes de pollution lumineuse.....	30
3. Résultats.....	32
3.1. Résultats des mesures avec les capteurs Jasondark.....	32
3.1.1. Impact de la couverture nuageuse sur la luminosité du ciel.....	32
3.1.2. Etude des variations de luminosité du cycle lunaire.....	33
3.1.3. Comparaison de la luminosité du ciel selon 3 conditions environnementales.....	34
3.2. Cartes de pollution lumineuse.....	35
4. Discussion.....	38
Partie II : Analyse de l'effet de la pollution lumineuse sur la synthèse de la mélatonine chez des têtards d'amphibiens.....	42
1. Introduction.....	42
1.1. La mélatonine : synthèse et régulation.....	42
1.1.1. Détection de la lumière : les photorécepteurs.....	42
1.1.2. Synthèse de la mélatonine.....	43
1.1.3. Les récepteurs de la mélatonine.....	45
1.2. Méthode de dosage de la mélatonine et des récepteurs.....	46
1.3. Problématique.....	48
3. Matériels et méthodes.....	49
3.1. Modèle biologique.....	49
3.2. Elevage et dispositif expérimental.....	49
3.3. Dosage des ARNm de l'AANAT, l'ASMT et des 3 récepteurs.....	50
3.3.1. Transcriptomique.....	50
3.3.2. Sélection des gènes et design des amorces.....	51
3.3.3. Extraction d'ARN et synthèse d'ADNc.....	51
3.3.4. PCR quantitative.....	52
3.4. Analyses.....	53
3.4.1. Sélection des gènes de référence.....	53
3.4.2. Normalisation et analyses statistiques.....	53

4. Résultats	54
4.1. Validation des séquences nucléiques pour les gènes cibles et de référence	54
4.2. Sélection des gènes de référence.....	57
4.3. Résultats de l'expression génique de l'AANAT, l'ASMT et les récepteurs à la mélatonine	57
4.3.1. <i>Rana dalmatina</i>	57
4.3.2. <i>Bufo bufo</i>	58
5. Discussion	61
Conclusion générale et perspectives	65
1. Conclusion	65
1.1. Mesurer la pollution lumineuse	65
1.2. Etude de la synthèse de mélatonine	66
2. Perspectives.....	67
Bibliographie	71
Annexes	87

Liste des abréviations

AANAT : l'arylalkylamine-*N*-acétyltransférase

ASMT : *N*-acétylsérotinine-*O*-méthyltransférase

DMSP : Defense Meteorological Satellite Program

NSC : noyau suprachiasmatique

NSB : Night Sky Brightness

SQM : Sky Quality Meter

VIIRS DNB : Visible Infrared Imaging Radiometer Suite Day-Night Band

Liste des figures

Figure 1 : Photographie de l'Europe depuis la station spatiale internationale en 2017 montrant l'ampleur de la lumière artificielle nocturne.....	8
Figure 2 : Photographie réalisée depuis l'observatoire du Pic du Midi de Bigorre afin d'évaluer les halos de pollution lumineuse, décembre 2016.....	9
Figure 3 : Cartes de la luminosité artificielle du ciel en Europe en proportion de la luminosité naturelle du ciel (supposée être de 174 cd.m ⁻²).....	10
Figure 4 : Interaction des nuages avec la lumière naturelle et artificielle	11
Figure 5 : Evolution possible des différentes fonctions de la mélatonine	16
Figure 6 : La mélatonine, une molécule pléiotrope. Ce schéma indique les différentes voies d'actions de la mélatonine sur certaines fonctions physiologiques chez les vertébrés	16
Figure 7 : Cascade antioxydante de la mélatonine et ses métabolites	18
Figure 8 : Réponses spectrales du SQM et de la vision phototique humaine. Source : Hanel et al, 2018)	24
Figure 9 : Image de la luminosité du ciel dans le village espagnol d'Ager mesurée avec un appareil photo reflex numérique a) image non traitée et b) image en fausses couleurs montrant la luminance.....	25
Figure 10 : la Dombes, un territoire à intérêt écologique majeur	26
Figure 11 : A gauche, capteur Jasondark dans son support. A droite, carte électronique avec les capteurs TAOS TSL237	27
Figure 12 : Localisation des sites (marqueur orange) de mesure de lumière nocturne par les capteurs Jasondark. La ligne en noir indique la distance au centre-ville de Lyon	28
Figure 13 : Carte Arcgis de Villars-les-Dombes. Le gradient de couleur blanc/noir est représentatif de la distance par rapport à une potentielle source lumineuse	28
Figure 14 : Diagramme en sablier d'un site, dans la Drôme, très faiblement pollué en janvier 2018	29
Figure 15 : Courbes d'ajustement des paramètres de simulation OTUS.....	31
Figure 16 : Relevés de mesures du NSB au cours de la nuit du 9-10 avril 2018.....	32
Figure 17 : Histogrammes des valeurs de luminosité du ciel (NSB) à différentes distances de la métropole lyonnaise en absence de lune (n par site entre 12 569 et 12 585)	32
Figure 18 : Diagrammes en sablier du NSB sur les 6 sites à distance croissante de Lyon (km).....	33
Figure 19 : Mesure de la luminance zénithale moyenne en fonction de la distance à Lyon	34
Figure 20 : carte de mesures de radiance par le capteur satellite VIIRS DNB (jeu de données composite de l'année 2019) produite par Darskylab	35
Figure 21 : Simulation OTUS de la pollution lumineuse avec les paramètres ajustés par les capteurs JasonDark avec un ciel clair (à gauche) et par ciel couvert (à droite).....	36
Figure 22 : Simulation de carte de la pollution lumineuse par ciel clair en luminance ($\mu\text{cd.m}^{-2}$) sur la Dombes	37
Figure 23 : Simulation de carte de la pollution lumineuse par ciel couvert en luminance ($\mu\text{cd.m}^{-2}$) sur la Dombes	38

Figure 24 : les photorécepteurs chez les vertébrés	43
Figure 25 : Schéma de synthèse de la mélatonine chez les vertébrés	44
Figure 26 : Niveaux minimaux de lumière émise par des sources de lumière naturelle et artificielle connus pour supprimer la synthèse de mélatonine dans les groupes de vertébrés	48
Figure 27 : A gauche, photographie de <i>B. Bufo</i> . A droite, photographie de <i>R. dalmatina</i>	49
Figure 28 : Schéma du protocole expérimental	50
Figure 29 : Arbres phylogéniques de l'AANAT et de l'ASMT.....	55
Figure 30 : Arbre phylogénique des récepteurs à la mélatonine	56
Figure 31 : Niveaux d'expression normalisés et relatifs des gènes AANAT et ASMT, chez <i>R. dalmatina</i> selon l'heure de prélèvement et le traitement lumineux	58
Figure 32 : Niveaux d'expression normalisés et relatifs des gènes Mel1b et Mel1c, chez <i>R. dalmatina</i> selon l'heure de prélèvement et le traitement lumineux	59
Figure 33 : Niveaux d'expression normalisés et relatifs des gènes AANAT et ASMT, chez <i>B. bufo</i> , selon l'heure de prélèvement et le traitement lumineux	60
Figure 34 : Niveaux d'expression normalisés et relatifs des gènes des 3 récepteurs de la mélatonine, chez <i>B. bufo</i> , selon l'heure de prélèvement et le traitement lumineux	61
Figure 35 : Tableau comparatif des domaines d'émission de différents types de lampes	68
Figure 36 : Différentes possibilités de prendre en compte la pollution lumineuse dans une démarche de Trame verte et bleue	69
Figure 37 : Spectre de réponse du capteur TAOS TSL237	87
Figure 38 : Histogrammes des valeurs de luminosité du ciel (NSB) à distance croissante de la métropole lyonnaise en absence de lune (n par site entre 12 569 et 12 585)	87

Liste des tableaux

Tableau 1 : Appareils de mesure de la lumière nocturne.....	22
Tableau 2 : Distribution tissulaire des récepteurs de la mélatonine chez les vertébrés et rôle de la mélatonine	46
Tableau 3 : Description des gènes de référence.....	51
Tableau 4 : Liste des amorces et taille des amplicons pour chacun des gènes utilisés en qPCR.....	52
Tableau 5 : Résultats des analyses de stabilité des gènes de référence par GeNorm et Normfinder	57
Tableau 6 : Résultats des modèles additifs généralisés (GAM) pour <i>R. dalmatina</i>	58
Tableau 7 : Résultats des modèles additifs généralisés (GAM) pour <i>B. bufo</i>	59
Tableau 8 : Résultats des modèles additifs généralisés (GAM) pour <i>B. bufo</i>	60
Tableau 9 : Valeurs moyennes de luminance zénithale pour les 3 conditions sur les différents sites et les différents rapports de luminance.....	88

Introduction générale

1. La pollution lumineuse nocturne

1.1. Qu'est-ce que la pollution lumineuse ?

À l'exception de la vie dans les grands fonds des océans et les écosystèmes souterrains, depuis des milliards d'année, toute vie sur Terre a évolué dans un environnement alternant des phases lumineuses avec des phases d'obscurité (Danilevskii 1965, Vince-Prue 1975, Gerrish et al. 2009). Le niveau de lumière ambiante est l'un des facteurs majeurs qui régule de nombreux phénomènes biologiques, de l'écosystème à la molécule. De nombreuses études, menées dans différents domaines de la biologie, de la physiologie ou de l'écologie, ont mis en évidence un rôle majeur de la photopériode, des cycles saisonniers et des cycles lunaires sur les processus biologiques. Par exemple, chez les producteurs primaires (végétaux et phytoplancton), la photosynthèse est un des mécanismes majeurs régulé par le cycle naturel lumière/obscurité. La photopériode et les cycles lunaires agissent également sur les comportements des organismes tels que la reproduction, les mouvements, les migrations, les rythmes d'activité, l'alimentation, le sommeil, etc. (Horning and Trillmich 1999, Gaudreau and Boisclair 2000, Dawson et al. 2001, Goldman 2001, Kronfeld-Schor et al. 2013). Ces cycles ont également un effet sur les relations interspécifiques telles que la compétition pour le fourragement ou la relation proie-prédateur (Longcore and Rich 2004, Navara et al. 2007). De plus, la plupart des organismes unicellulaires ou pluricellulaires possèdent des horloges moléculaires internes qui sont régulées par le cycle naturel de l'alternance jour/nuit (Dunlap 1999, Young and Kay 2001, Bell-Pedersen et al. 2005).

Depuis l'avènement de l'électricité, il y a environ 130 ans, l'éclairage public s'est développé de manière exponentielle. Avec le développement croissant des villes et des infrastructures de transports, le « besoin » de lumière nocturne augmente. L'éclairage public répond à plusieurs objectifs : sécuriser les espaces urbains, permettre l'accroissement de la circulation ou mettre en valeur le patrimoine bâti (avenues centrales, parcs, gares, bâtiments, tours, monuments etc.). Actuellement, la lumière artificielle nocturne ne cesse de croître à la surface du globe (Falchi et al. 2016). Cet éclairage génère une pollution lumineuse nocturne dite ALAN pour Artificial Light At Night, expression consacrée dans la littérature scientifique (Fig. 1), ce qui engendre des conséquences dans



Figure 1 : Photographie de l'Europe depuis la station spatiale internationale en 2017 montrant l'ampleur de la lumière artificielle nocturne

Source : Thomas Pesquet

de nombreux domaines (astronomie, santé humaine, biodiversité).

Longcore et Rich (2004) définissent **la pollution lumineuse écologique comme étant une altération des patrons naturels de la lumière dans les écosystèmes terrestres et aquatiques**. Cela inclut l'augmentation de la luminosité chronique ou périodique, le changement de spectres lumineux et le phénomène d'éblouissement.

La pollution lumineuse provient de toutes les sources d'éclairage artificiel. Elle inclut la lumière émise par les lampadaires, l'éclairage des édifices, les véhicules, les enseignes, les écrans publicitaires etc. Cette pollution lumineuse se manifeste sous la forme de lumière directe ou de lumière diffuse. La lumière directe est celle reçue directement par les organismes depuis la source. La lumière diffuse est due à la réflexion de la lumière sur les surfaces, les aérosols ou les molécules en suspension dans l'atmosphère. Cela produit un halo lumineux (« skyglow » en anglais) visible à plusieurs centaines de kilomètres (Fig. 2 ; Kyba et al. 2015).



Figure 2 : Photographie réalisée depuis l'observatoire du Pic du Midi de Bigorre afin d'évaluer les halos de pollution lumineuse, décembre 2016

Source : bureau d'étude Darksylab

Ce phénomène de pollution lumineuse est connu depuis de nombreuses années. Il a d'abord été mis en évidence par les astronomes, dans les années 1970, gênés pour l'observation des étoiles (Walker 1970, Riegel 1973, Treanor 1973). En 2001, Cinzano et coll. établissent le premier atlas mondial de la pollution lumineuse. Ils considèrent que la pollution lumineuse est l'une des formes d'altérations les plus envahissantes de l'environnement. Ils montrent que la pollution lumineuse n'est pas limitée aux pays développés, mais semble être un problème à l'échelle mondiale affectant presque tous les pays du monde. D'après cette étude, environ les deux tiers du monde et 99% de la population des États-Unis et de l'Union européenne vivent dans des zones où la luminosité du ciel nocturne est supérieure au seuil fixé par les astronomes pour le statut de ciel pollué (soit +10 % de lumière que le niveau naturel d'un ciel clair nocturne et sans lune).

En 2016, Falchi et coll. ont réactualisé cet atlas et estime que plus de 80 % de la population mondiale vit sous un ciel nocturne pollué par la lumière. Cette proportion monte à plus de 99% pour la population américaine et européenne (Fig. 3). De plus, cet atlas montre que 23% des surfaces émergées, entre les latitudes 75°N et 60°S à l'échelle mondiale, connaissent des nuits polluées par la lumière. Tous les écosystèmes, terrestres ou aquatiques (marins ou d'eaux douces), peuvent être touchés par la pollution lumineuse (Longcore and Rich 2004, Perkin et al. 2011, Bennie et al. 2015, Ceola et al. 2015, Secondi et al. 2017). En Europe, 88% des terres sont soumises à de la pollution lumineuse. Entre 2012 et 2016, les surfaces terrestres éclairées ont augmenté de 2,2% par an (Kyba et al. 2017b). Les zones déjà éclairées ont également subi une augmentation de la luminosité de 2,2% par an, c'est-à-dire que le ciel s'éclaircit.

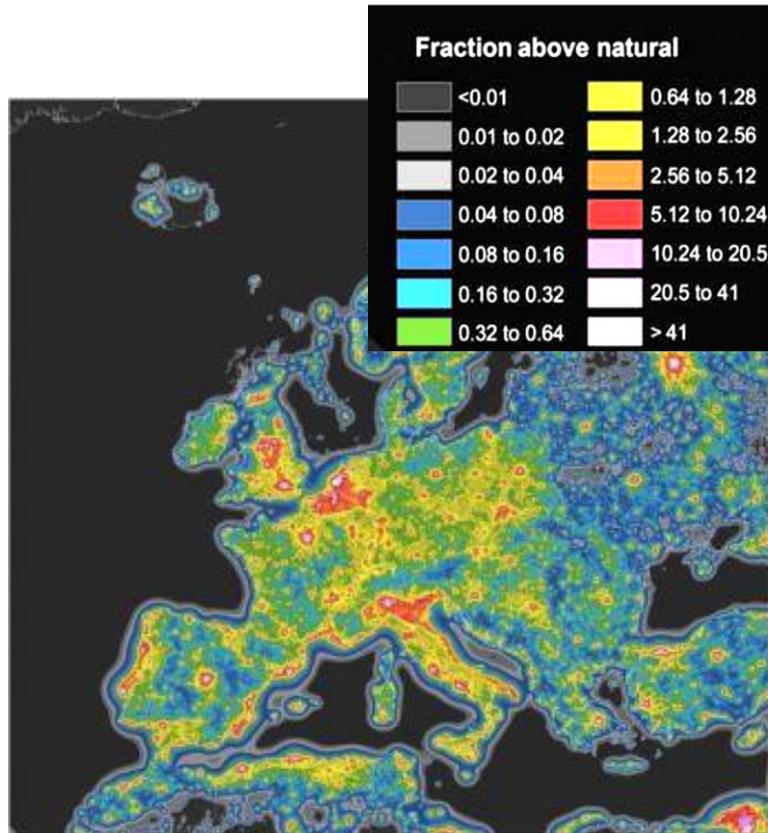


Figure 3 : Cartes de la luminosité artificielle du ciel en Europe en proportion de la luminosité naturelle du ciel (supposée être de 174 $\mu\text{cd}/\text{m}^2$).

Source : Falchi et al. 2016

1.2. Variations de la luminosité naturelle et artificielle pendant la nuit

Même en absence de lumière artificielle la nuit, l'obscurité n'est pas totale. Les niveaux naturels de lumière sont régis par des sources célestes : la lune, les émissions atmosphériques naturelles (ex : les aurores boréales ou australes), les étoiles et la lumière zodiacale (réflexion de la lumière solaire sur la poussière cosmique). La nuit, la lune est la principale source de lumière naturelle. Le cycle lunaire est 29,5 jours. L'intensité de lumière émise est dépendante de plusieurs facteurs. La phase lunaire est le principal facteur de luminance. Cependant, la qualité de l'air ainsi que l'élévation de la lune dans le ciel peuvent également influencer l'intensité de la lumière reçue au sol. En fonction de la latitude du site d'étude, l'élévation maximale de la lune dans le ciel varie. En Europe, l'élévation maximale est d'environ 65°. De plus, l'élévation maximale de la lune varie tous les jours. La plupart des pleines lunes aux latitudes moyennes produisent entre 0,05 à 0,2 lux au zénith (Kyba et al. 2017a, Puschnig et al. 2020). Dans certaines conditions très particulières (lune au zénith et conditions atmosphériques optimales), l'éclat maximal de la pleine lune peut atteindre 0,32 lux (Kyba et al. 2017a). L'éclat de la lune est affaibli par l'absorption atmosphérique, surtout lorsque la lune est basse sur l'horizon.

Certains facteurs atmosphériques modifient les niveaux de lumière reçue au sol. Un de ces principaux facteurs est la présence de nuage. En présence d'une couche nuageuse épaisse, la lumière émise par les sources naturelles (soleil, lune, étoiles) est réfléchiée en grande partie vers le ciel. L'éclat de la lune et des étoiles reçu au sol est ainsi fortement réduit. Pour les sources artificielles (éclairage public ou privé), la lumière est réfléchiée, cette fois, vers le sol (Fig. 4). Nous observons ainsi, en présence de nuages, une diminution des niveaux de lumière nocturne provenant de sources naturelles (Jechow and Holker 2019) et une augmentation de la lumière d'origine anthropique, au niveau du sol. Par exemple, en Autriche, un assombrissement du ciel nocturne dû aux nuages est observé, soit un masquage de la lumière naturelle, sur les sites éloignés des villes tandis qu'un éclaircissement du ciel nocturne, jusqu'à un facteur 15, se produit sur les sites plus proches des agglomérations (Posch et al. 2018). Ces facteurs sont calculés, pour un même site, entre une nuit claire et une nuit nuageuse. Si les facteurs étaient calculés par rapport à la valeur de référence d'un ciel étoilé sans pollution lumineuse, ceux-ci seraient beaucoup plus importants. En effet, dans une étude de Kyba et coll. (2015), les niveaux de lumière du ciel, en milieu urbain par ciel couvert, étaient des centaines de fois plus élevés que la valeur de référence d'un ciel étoilé.

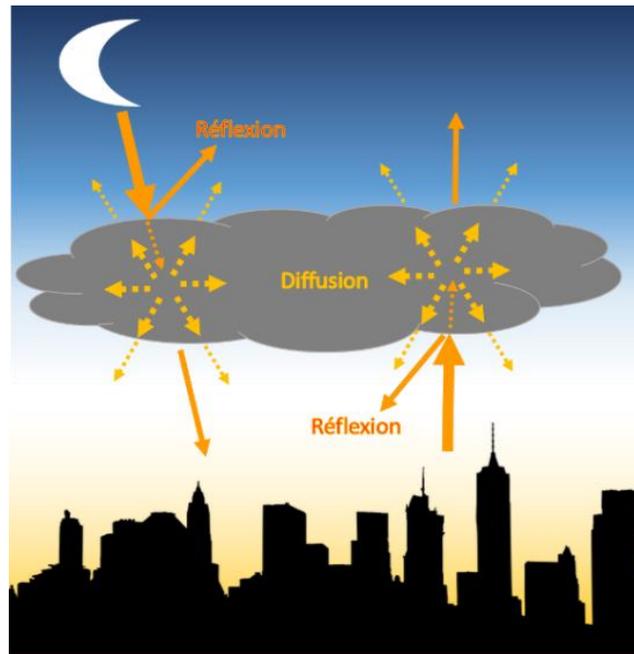


Figure 4 : Interaction des nuages avec la lumière naturelle et artificielle

La présence d'aérosols peut également modifier les niveaux de lumière nocturne. Les aérosols sont de petites particules ou de gouttelettes en suspension dans l'air qui peuvent provenir de sources naturelles (par ex. : poussière, sel marin) ou artificielles (particules fines issues du chauffage, des industries, des véhicules ...). Ces aérosols ont un impact sur la pollution lumineuse (Kyba et al. 2011). Une concentration élevée d'aérosols peut réduire la propagation de la lumière (par ex. : le brouillard ou le « smog »). Cependant, les aérosols peuvent également amplifier la lueur du ciel car ils augmentent les chances que la lumière artificielle soit renvoyée vers la Terre. Posch et coll. (2018) montrent une corrélation positive entre la teneur en particules fines inférieures à 10 μm (pollution atmosphérique) et la luminosité du ciel.

Ainsi, mesurer la luminosité du ciel nocturne est devenu un enjeu de plus en plus important ces dernières années, alors que les lumières artificielles continuent à se répandre dans le monde entier. Pour évaluer l'impact de la pollution lumineuse sur les écosystèmes, il est essentiel de prendre en compte les conditions météorologiques ainsi que les facteurs environnementaux. Les cartes de pollution lumineuse ne devraient pas être produites uniquement par ciel clair mais également par ciel couvert. Sans cela, les niveaux de pollution sont sous-estimés pour un très grand nombre de nuit.

2. Les effets de la pollution lumineuse sur la biodiversité

La pollution lumineuse est aujourd'hui pointée par les scientifiques comme une perturbation écosystémique majeure. Elle a de très nombreuses conséquences sur les organismes de divers groupes taxonomiques (micro-organismes, métazoaires, végétaux), de la molécule à l'écosystème (Longcore and Rich 2004, Navara et al. 2007, Gaston et al. 2013). En effet, la lumière artificielle perturbe la photopériode, les cycles saisonniers et les cycles lunaires qui régulent différentes fonctions biologiques telles que la reproduction, l'acquisition de nutriment, l'activité chez la plupart des organismes (Horning and Trillmich 1999, Gaudreau and Boisclair 2000, Dawson et al. 2001, Goldman 2001, Kronfeld-Schor et al. 2013). La quantité, la durée et le spectre de lumière sont autant d'informations utilisées par les organismes afin de moduler de nombreuses fonctions physiologiques (par exemple, la synthèse d'enzymes et d'hormone (Ouyang et al. 2018)). Ainsi, toutes altérations des cycles naturels de lumière pourraient avoir des conséquences à la fois d'un point de vue écologique, mais également physiologique.

2.1. Impact sur les traits d'histoire de vie et le comportement

Les premières études sur l'impact de la pollution lumineuse chez les organismes animaux ont montré de nombreux effets à l'échelle de l'organisme. L'impact le plus connu de la lumière artificielle est probablement la désorientation des espèces qui utilisent des signaux lumineux naturels pour naviguer. La pollution lumineuse nocturne est responsable d'effets très souvent négatifs sur les mouvements des groupes aussi divers que le zooplancton, les poissons, les tortues et les oiseaux (Gaston et al. 2014), ce qui peut affecter la recherche de nourriture et les relations interspécifiques (Longcore and Rich 2004). Parmi les études les plus connues, Van Doren et coll. (2017) révèlent une importante densité d'oiseaux migrateurs autour des grandes structures éclairées telles que le mémorial du 11 septembre à New York. De la même manière, les tortues de mer à l'éclosion sont attirées par la lumière artificielle issue des constructions côtières au détriment de la réverbération de la lune sur l'eau (Witherington and Martin 2000, Thums et al. 2016). Chez les saumons, le mouvement de migration des alevins est devenu aléatoire sous l'effet de la pollution lumineuse, alors que dans des conditions naturelles, il est lié au coucher de soleil (Riley et al. 2012, Riley et al. 2015). Moore et coll. (2000) ont travaillé sur l'effet de la lumière artificielle sur la migration journalière du zooplancton qui est considéré comme constituant le plus grand mouvement synchronisé de biomasse dans la nature. L'éclairage artificiel a diminué l'ampleur des migrations diurnes, à la fois dans l'amplitude des mouvements verticaux et dans le nombre d'individus migrants. Les chercheurs émettent l'hypothèse que cette perturbation de la migration verticale diurne pourrait avoir des effets néfastes importants sur la santé des écosystèmes.

De nombreux groupes d'insectes terrestres ou aquatiques sont attirés par les lumières alors que d'autres les évitent (Rich and Longcore 2013, Perkin et al. 2014b, Manfrin et al. 2017). La lumière artificielle altère la mortalité des animaux via les phénomènes d'attraction. Par exemple, de nombreuses espèces d'insectes se rassemblent autour des sources lumineuses durant la nuit, ce qui très souvent augmente leur taux de mortalité (Desouhant et al. 2019). Certains insectes sont tués immédiatement au contact de la lampe, tandis que beaucoup meurent d'épuisement ou de prédation (Davies et al. 2012, Meyer and Sullivan 2013, Manfrin et al. 2017, Grubisic et al. 2018b). En outre, la composition des communautés d'invertébrés est altérée sous les lampadaires, avec des

changements spécifiques aux taxons dans l'abondance et la diversité des espèces (Davies et al. 2012, Meyer and Sullivan 2013, Manfrin et al. 2017). Dans les systèmes aquatiques, la présence de sources lumineuses augmente l'émergence et l'abondance d'insectes aquatiques tout en diminuant leur diversité et leur taille corporelle (Meyer and Sullivan 2013, Manfrin et al. 2017). D'après Sullivan et coll. (2019), des niveaux modérés à élevés de pollution lumineuse (0,6 à 4 lux) altéraient la composition des communautés d'invertébrés, favorisant principalement les prédateurs et les détritivores.

De plus, il a été démontré que l'éclairage artificiel de nuit prolonge le temps de recherche de nourriture de certaines espèces animales diurnes dans la nuit et réduit ce temps chez certaines espèces nocturnes (Longcore and Rich 2004, Fonken and Nelson 2014). De nombreux oiseaux généralement diurnes (Hill 1992) et des reptiles (Schwartz and Henderson 1991), par exemple, se nourrissent sous des lumières artificielles. A l'inverse, la chauve-souris *Rhinolophus hipposideros*, en présence de sources lumineuses, a réduit son activité et retarde le début de la recherche de nourriture (Stone et al. 2009). L'abondance de plusieurs prédateurs terrestres actifs la nuit, en l'occurrence des araignées (*Pachygnatha clercki*, *Trochosa* sp., Opiliones), ont augmenté au niveau des sources lumineuses et leur activité s'est prolongée dans la journée. Inversement, l'abondance des scarabées nocturnes a diminué sous la pollution lumineuse (Manfrin et al. 2017). En outre, il est bien établi que la dynamique des interactions prédateur-proie change en fonction des niveaux de lumière ambiante (Clarke 1983, Daly et al. 1992, Mougeot and Bretagnolle 2000, Navara et al. 2007). La lumière pousse un certain nombre d'animaux à moduler leur activité. La lumière peut augmenter le risque de prédation mais également la détection des proies et des prédateurs. Ainsi, les changements dans les niveaux d'éclairage affectent non seulement les comportements des prédateurs, mais aussi les comportements de leurs proies (Navara et al. 2007).

En présence de pollution lumineuse, une diminution de l'activité a été observée chez le crapaud commun, *Bufo bufo* (Touzot et al. 2019). La lumière artificielle a un impact négatif sur les décisions de recherche de nourriture des rats kangourous en voie de disparition (Shier et al. 2020). Lacoëuilhe et coll. (2014) ont étudié l'activité chez 15 espèces de chauve-souris pendant la nuit. Ils observent un effet positif de la lumière, c'est-à-dire un accroissement de l'activité, chez 5 espèces (*Pipistrellus pipistrellus*, *Pipistrellus pygmaeus*, *Pipistrellus kuhlii*, *Eptesicus serotinus* et *Nyctalus noctula*), une diminution de l'activité pour 3 autres espèces (*Nyctalus leisleri*, *Myotis* spp. et *Plecotus* spp.) et aucun effet détectable sur *Barbastella barbastellus* ou *Pipistrellus nathusii*. Ils ont donc identifié 2 groupes de réponse : un groupe qui était tolérant à la lumière et un groupe qui était intolérant à la lumière. Parmi les espèces qui semblent défavorisées par les conditions d'éclairage, beaucoup sont rares et menacées en Europe, tandis que les espèces tolérantes sont mieux à même de prospérer dans les zones éclairées et peuvent même tirer avantage d'un éclairage artificiel. Ils remarquent également que la réponse à la lumière semble être associée à une stratégie spécifique de recherche de nourriture.

La reproduction, principalement *via* les comportements liés à la sélection sexuelle, peut aussi être altérée par l'éclairage artificiel nocturne. Par exemple, les femelles grenouilles túngara (*Physalaemus pustulosus*) sont moins sélectives dans leur choix de partenaire lorsque les niveaux de lumière augmentent, probablement pour limiter les risques de prédation (Rand et al. 1997). Chez le crapaud commun (*B. bufo*), les mâles exposés à la pollution lumineuse mettent plus de temps pour former un

amplexus¹ et le taux de fertilisation des œufs par les mâles exposés à 5 lux a été réduit de 25% (Touzot et al. 2020). Chez les oiseaux, un certain nombre d'espèces commencent à chanter à l'aube. Dans les zones éclairées la nuit, les mâles de mésanges (*Parus sp.*) et de merles (*Turdus migratorius*) se mettent à chanter plus tôt, lorsque l'obscurité est encore importante (Miller 2006, Kempenaers et al. 2010, Da Silva and Kempenaers 2017). De plus, lorsque les températures printanières sont basses et sous pollution lumineuse, la date de ponte des œufs est avancée chez la mésange charbonnière, *Parus major* (De Jong et al. 2015, Dominoni et al. 2019). A l'inverse, la lumière artificielle pendant la nuit retarde la reproduction saisonnière chez une espèce se reproduisant pendant les jours courts, le wallaby, *Macropus eugenii* (Robert et al. 2015). Ces décalages peuvent réduire les chances de survie des nouveau-nés car les conditions environnementales ne sont pas les plus favorables (manque de nourriture, température...)

Ces nombreuses études sont menées au niveau de l'individu et suggèrent des effets importants de la pollution lumineuse nocturne sur les dynamiques de populations, même si les études à ce niveau sont encore rares. A l'inverse, les mécanismes physiologiques altérés par la pollution lumineuse ont bien été étudiés ces dernières années.

2.2. Mécanismes physiologiques impactés par la pollution lumineuse

De nombreuses conséquences au niveau moléculaire ou physiologique sont dues à l'altération des cycles lumineux (Dominoni and Nelson 2018). La pollution lumineuse peut modifier la sécrétion hormonale (Dominoni et al. 2013b, de Jong et al. 2016, Brüning et al. 2018, Ouyang et al. 2018), les dépenses énergétiques (Raap et al. 2016, Welbers et al. 2017, Touzot et al. 2019), la fonction immunitaire (Bedrosian et al. 2011, Fonken et al. 2012, Fonken et al. 2013b, Fonken et al. 2013c, Aubrecht et al. 2014), l'horloge circadienne (Shuboni and Yan 2010, Fonken et al. 2013a, Fonken and Nelson 2014, Bedrosian et al. 2013, Ikeno et al. 2014) ou encore le stress oxydatif (Navara et al. 2007, McLay et al. 2018).

Plusieurs effets de la modification sur les dépenses énergétiques, à des faibles niveaux de lumière nocturne, ont déjà été mis en évidence chez des rongeurs (Fonken et al. 2010), des oiseaux (Raap et al. 2016, Welbers et al. 2017) et des amphibiens (Touzot et al. 2019). Les changements du métabolisme se produisent indépendamment des changements de l'apport alimentaire quotidien ou de l'activité. Les mésanges charbonnières, exposées à 7,6 lux ont une dépense énergétique qui a chuté de 5 à 15% par rapport aux oiseaux exposés à l'obscurité. Chez le crapaud commun, la pollution lumineuse n'a pas affecté la dépense énergétique totale (consommation d'O₂ totale) mais a modifié l'allocation énergétique (Touzot et al. 2019). La dépense énergétique standard (énergie minimale utilisée pour le fonctionnement et l'entretien de l'organisme) a augmenté de 28% à 5 lux et de 58% à 20 lux, tandis que la dépense énergétique d'activité a diminué de 18% à 5 lux et de 38% à 20 lux.

En ce qui concerne la reproduction, la pollution lumineuse affecte les taux d'hormones. Les concentrations sanguines de stéroïdes sexuels (17β-estradiol; 11-cétotestostérone) ainsi que l'expression de l'ARNm des gonadotrophines (hormone lutéinisante, hormone folliculo-stimulante)

¹ Technique d'accouplement de la plupart des anoures et des urodèles, où le mâle s'accroche au dos de la femelle.

ont été réduites chez deux espèces de poissons, la perche européenne (*Perca fluviatilis*) et le gardon (*Rutilus rutilus*) (Brüning et al. 2016, Brüning et al. 2018). L'expression de l'hormone lutéinisante et l'hormone folliculo-stimulante, chez la perche femelle, a été réduite par la lumière nocturne dès 1 lux. Dominoni et coll. (2013a) ont observé que chez les merles soumis à une très faible intensité de pollution lumineuse (0,3 lux), leurs systèmes reproducteurs se sont développés jusqu'à un mois plus tôt que chez les oiseaux gardés sous des nuits sombres.

Une autre fonction physiologique d'importance majeure est modifiée par la pollution lumineuse : l'immunité. Chez le hamster de Sibérie (*Phodopus sungorus*), après plusieurs semaines d'exposition à la lumière nocturne (5 lux), la réponse d'hypersensibilité retardée a été supprimée (Bedrosian et al. 2011, Aubrecht et al. 2014), c'est-à-dire qu'une diminution de l'activation du système immunitaire est observée. A l'inverse, après 3 semaines d'exposition à 5 lux, une augmentation de la réponse d'hypersensibilité retardée et de la capacité bactéricide, ainsi qu'une augmentation de la production d'anticorps après une injection d'une protéine, l'hémocyanine ont été observées chez le rat du Nil, *Arvicanthis niloticus* (Fonken et al. 2012).

En outre, il a été démontré qu'une faible lumière (5 lux), la nuit, modifie l'expression des gènes de l'horloge circadienne. Par exemple, l'expression de *Per1* et *Per2* a été altérée chez des souris, *Mus musculus* (Shuboni and Yan 2010, Fonken et al. 2013a, Fonken and Nelson 2014). Des changements similaires dans l'expression de ces mêmes gènes sont également apparents dans le noyau suprachiasmatique du hamster de Sibérie exposés au même niveau de lumière nocturne (Bedrosian et al. 2013, Ikeno et al. 2014). L'expression rythmique de *Bmal1*, *Per1*, *Per2*, *Cry1*, *Cry2* et *Rev-Erb* sont également toutes diminuées dans le foie de la souris (Fonken et al. 2013a).

De nombreuses autres études ont documentées des modifications physiologiques liées à la lumière artificielle nocturne. Toutes ces altérations des mécanismes physiologiques ou comportementales peuvent avoir une incidence sur la *fitness* des individus et à plus long terme sur les populations. Les mécanismes qui sous-tendent les impacts physiologiques de la présence d'éclairage artificiel nocturne ne sont pas encore bien connus. Cependant un des mécanismes très largement étudié est la perturbation de la synthèse d'une hormone clé par la lumière artificielle nocturne, la mélatonine (Jones et al. 2015).

3. La mélatonine : un lien entre la pollution lumineuse et les modifications physiologiques ?

3.1. La mélatonine : une molécule aux rôles multiples

La mélatonine est une molécule omniprésente dans les organismes (Tan et al. 2010). Elle a été détectée pour la première fois dans la glande pinéale (épiphyse) des mammifères et a depuis été retrouvée dans les bactéries, les eucaryotes unicellulaires, les macroalgues, les champignons, les plantes et les animaux (Lerner et al. 1958, Vivien-Roels and Pévet 1993, Reiter et al. 2001, Grubisic et al. 2019). Cette large distribution de la mélatonine, en particulier dans les bactéries (cyanobactéries et α -protéobactéries) indique que c'est une molécule ancienne qui a été conservée tout au long de l'évolution dans les organismes (Manchester et al. 2015, Grubisic et al. 2019, Zhao et al. 2019). La fonction initiale proposée de la mélatonine est de détoxifier les radicaux libres (Fig. 5), générés au

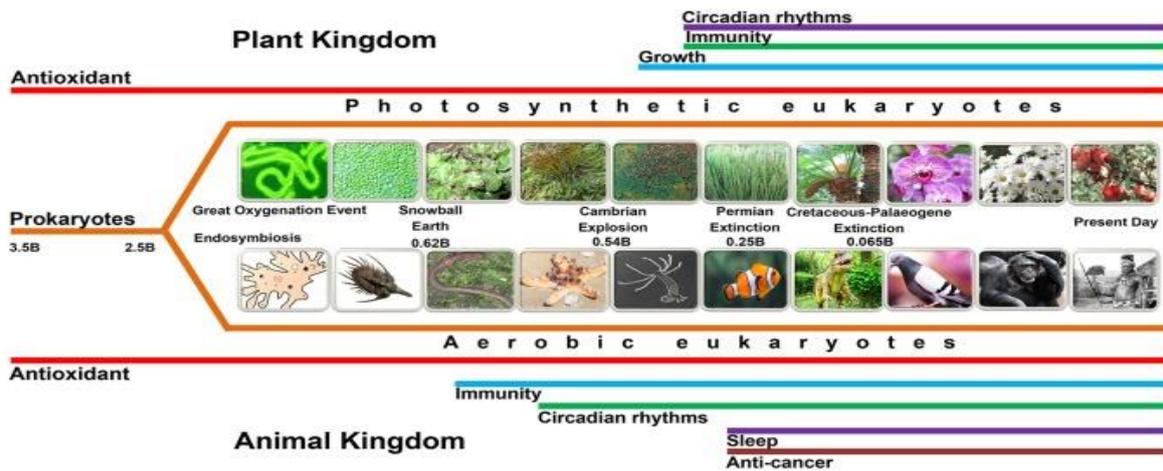


Figure 5 : Evolution possible des différentes fonctions de la mélatonine
 B signifie milliard d'années (source : Zhao et al. 2019).

cours des processus de photosynthèse et du métabolisme (Manchester et al. 2015, Tan et al. 2015, Zhao et al. 2019). Au cours de l'évolution, la mélatonine est devenue une molécule pléiotrope qui influe sur la régulation de nombreuses fonctions physiologiques (Fig. 5 et 6) telles que l'immunité (Radogna et al. 2010, Reiter et al. 2010, Carrillo-Vico et al. 2013, Mauriz et al. 2013), le stress oxydant (Rodriguez et al. 2004, Reiter et al. 2010, Tan et al. 2010, Galano et al. 2011, Manchester et al. 2015, Tan et al. 2015), la reproduction (Tamarkin et al. 1985, Reiter et al. 2009b, Tan et al. 2010), le métabolisme énergétique (Acuña-Castroviejo et al. 2001, Acuña-Castroviejo et al. 2003, Cipolla-Neto et al. 2014) et les rythmes circadiens dont l'horloge circadienne (Reiter 1993, Liu et al. 1997, Reiter et al. 2010, Pevet and Challet 2011).

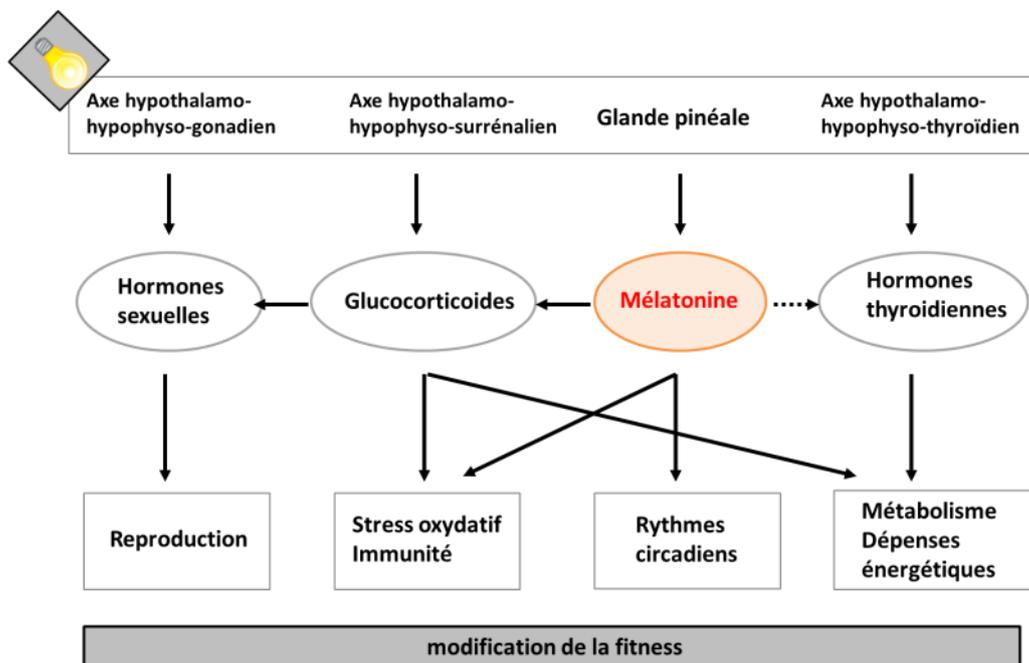


Figure 6 : la mélatonine, une molécule pléiotrope. Ce schéma indique les différentes voies d'actions de la mélatonine sur certaines fonctions physiologiques chez les vertébrés

3.2. Mélatonine et rythmes biologiques

Chez les vertébrés, la mélatonine est l'un des principaux moteurs des rythmes biologiques dont la fonction principale est de relayer l'information de la durée du jour. La durée de la libération de mélatonine varie selon les espèces, mais elle est généralement supposée refléter la longueur de la nuit et donc la photopériode (Arendt 1998). Reiter (1991) définit la mélatonine comme **l'expression chimique de l'obscurité** chez les vertébrés. En effet, la mélatonine est synthétisée dans la glande pinéale la nuit, en absence de lumière, puis elle est excrétée dans le sang. Ce signal « obscurité » est ainsi transmis à toutes les cellules de l'organisme. Chez les espèces animales, le cycle de la mélatonine, avec les niveaux plasmatiques les plus élevés la nuit, est le même quel que soit le modèle d'activité de l'espèce, c'est-à-dire nocturne, diurne ou crépusculaire (Zhao 2019). Chez les amphibiens, les poissons ou des oiseaux, la mélatonine est également synthétisée de manière rythmique dans les yeux (Reppert and Sagar 1983, Underwood et al. 1984, Delgado and Vivien-Roels 1989).

La fonction la plus connue de la mélatonine est d'être le **principal régulateur du rythme circadien**. Les rythmes circadiens permettent d'anticiper les changements quotidiens dans l'environnement et d'adapter les processus physiologiques et comportementaux pour exploiter de manière optimale l'environnement (Grubisic et al. 2019). Les rythmes circadiens fonctionnent avec une période proche, mais pas exactement, de 24 heures en l'absence d'indices environnementaux grâce à une horloge interne : l'horloge circadienne. Elle doit donc être synchronisée avec l'environnement via des signaux horaires fiables ou «zeitgeber» (Aschoff 1960). Comme les cycles de lumière et d'obscurité sont l'un des signaux les plus prévisibles de l'environnement, la lumière est le synchroniseur environnemental le plus puissant dans la plupart des organismes. Ainsi, chez les animaux vivants dans des conditions naturelles, la transmission d'information de la photopériode ambiante par le rythme de la mélatonine est l'une fonction essentielle afin que l'horloge circadienne soit en permanence resynchronisée.

De plus, la production cyclique de mélatonine fonctionne non seulement comme une «horloge» mais également comme un «calendrier» (Reiter 1993). La fonction « calendrier » est obtenue du fait que lorsque la longueur de la nuit change, la durée de l'élévation nocturne de la mélatonine augmente ou diminue également en conséquence (Brainard et al. 1982). Ainsi, l'évolution du cycle de la mélatonine fournit aux organes internes des informations sur la période de l'année. Ces variations du rythme de sécrétion de la mélatonine permettent ainsi de réguler les mécanismes de reproduction saisonnière chez les animaux photopériodiques afin de donner à leur progéniture les meilleures chances de survivre (Tan et al. 2010). Les reproducteurs de longues journées tels que le hamster russe (*Phodopus sungorus*) s'accouplent pendant l'été lorsqu'un taux de mélatonine nocturne élevé est de courte durée. A l'inverse, les reproducteurs de jours courts (exemple : moutons) s'accouplent pendant les mois d'hiver lorsque les niveaux de mélatonine nocturne élevés se prolongent. Peu importe le moment où les animaux s'accouplent, les naissances ont lieu au printemps et au début de l'été (dans l'hémisphère nord), une période qui maximise les chances de survie des jeunes (Reiter et al. 2010). Lorsque les rythmes de mélatonine sont supprimés, les animaux désynchronisent leur période de reproduction. Chez la brebis, les animaux pinéalectomisés² présentent des cycles

² Ablation de la glande pinéale

d'hormone lutéinisante qui ne sont plus synchronisés avec la période de reproduction naturelle, indiquant ainsi que le rythme est libre (Woodfill et al. 1994). Autre exemple, la pinéalectomie chez des mâles hamsters, empêche la régression des organes sexuels (Reiter 1973). Le fait que la mélatonine était responsable de l'involution saisonnière des organes reproducteurs a été démontré par la suite (Reiter et al. 1976, Tamarkin et al. 1976).

3.3. Mélatonine : stress oxydant et fonction immunitaire

Les organismes aérobies ont besoin d'oxygène pour vivre. Cependant, l'utilisation d'oxygène pendant le métabolisme normal produit des radicaux libres tels que les espèces réactives de l'oxygène, dont certains sont très toxiques et nocifs pour les cellules et les tissus. Lorsque l'équilibre entre les radicaux libres et les systèmes de défense antioxydants est déséquilibré en faveur des oxydants, cela provoque ce que l'on appelle le stress oxydant.

La mélatonine est à la fois une molécule antioxydante et une molécule régulatrice de l'activité des enzymes antioxydantes telles que la superoxide dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPX) et la catalase (Rodriguez et al. 2004, Reiter et al. 2010). La mélatonine est capable d'éliminer la réactivité et la toxicité du radical hydroxyle $\bullet\text{OH}$ (Tan et al. 2002, Reiter et al. 2009a, Galano et al. 2011). En plus de neutraliser les $\bullet\text{OH}$, la mélatonine s'est avérée neutraliser d'autres agents oxydants (Reiter et al. 2010). Les observations montrent que non seulement la mélatonine est un piège très efficace de divers radicaux toxiques, mais que les métabolites qui résultent de l'interaction de la mélatonine avec les radicaux libres, tels que 3-hydroxymélatonine cyclique et AFMK, sont également compétents pour neutraliser les réactifs nocifs (Tan et al. 1998, Tan et al. 2000, Hardeland 2009). Ces réactions successives rendent la mélatonine très efficace pour réduire les dommages oxydatifs des cellules. Cette série de réactions est appelée cascade antioxydante de la mélatonine (Fig. 7 ; Reiter et coll. 2010).

De plus, la mélatonine module l'activité de certaines enzymes antioxydantes (Rodriguez et al. 2004, Manchester et al. 2015). Par exemple, l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) est augmentée dans le cerveau de rat et dans plusieurs tissus de poussins après l'administration de mélatonine exogène ($500 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) (Barlow-Walden et al. 1995, Pablos et al. 1995). Ozturk et

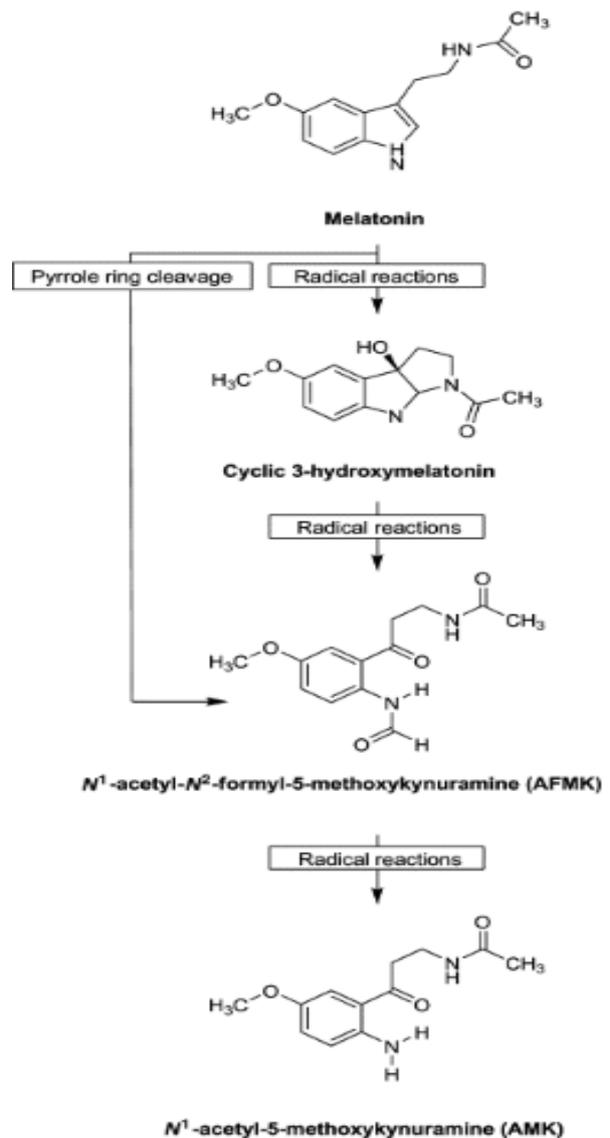


Figure 7 : Cascade antioxydante de la mélatonine et ses métabolites

Source : Reiter et al. (2010)

coll. (2000) ont constaté une augmentation de l'activité de la SOD dans le foie de rat après l'administration de 10 mg.kg^{-1} de mélatonine pendant 7 jours, tandis que Liu et Ng (2000) ont rapporté une amélioration de l'activité de la SOD dans les reins, le foie et le cerveau de rats après une seule injection de mélatonine (5 mg.kg^{-1}).

La mélatonine est donc non seulement un piègeur de radicaux direct efficace, mais un également un antioxydant indirect grâce à l'amélioration de l'expression des gènes ou l'activité des enzymes antioxydantes, ce qui en fait une molécule très importante pour lutter contre le stress oxydant. La diminution de la montée nocturne de mélatonine, par une exposition continue à la lumière, a révélé une réduction de l'augmentation nocturne des activités de la GPx, de la SOD et de la catalase dans plusieurs tissus de poussins et chez des rongeurs (Pablos et al. 1998, Albarran et al. 2001, Tomás-Zapico et al. 2003, Túnez et al. 2003). La pollution lumineuse peut donc avoir une influence sur les niveaux de stress oxydant des organismes (Navara et al. 2007).

La mélatonine régule également les processus inflammatoires et immunitaires (Radogna et al. 2010). Alors que certains auteurs soutiennent que la mélatonine est un immunostimulant, de nombreuses études ont également décrit des propriétés anti-inflammatoires. Il a été démontré que la mélatonine contrôle les rythmes diurnes et saisonniers de la prolifération des leucocytes (Carrillo-Vico et al. 2005). Le nombre de leucocytes augmente pendant les jours courts ainsi que pendant la nuit, périodes où le taux de mélatonine plasmatique est le plus élevé. En raison de ses capacités antioxydantes, la mélatonine peut réguler le stress oxydatif dans les tissus enflammés. Elle réduit également les molécules pro-inflammatoire telle que l'oxyde nitrique et certaines cytokines (Mauriz et al. 2013). Selon Carrillo-Vico et coll. (2013), la mélatonine serait un tampon immunitaire, agissant comme un stimulant dans des conditions basales (ou immunosupprimées) ou comme un composé anti-inflammatoire en présence de réponses immunitaires exacerbées, telles qu'une inflammation aiguë. Ainsi, la mélatonine pourrait favoriser les phases précoces de l'inflammation d'une part et contribuer à son atténuation d'autre part, afin d'éviter les complications de l'inflammation chronique.

D'après plusieurs auteurs, la mélatonine agit également sur le sommeil chez les animaux diurnes, le métabolisme ou encore inhibe le cancer (Zhdanova et al. 2001, Zhdanova et al. 2002, Acuña-Castroviejo et al. 2003, Sainz et al. 2003, Reiter et al. 2010, Cipolla-Neto et al. 2014). La réduction de la production de la mélatonine pourrait avoir des incidences sur l'ensemble de ces fonctions physiologiques.

La suppression de la mélatonine par la lumière artificielle nocturne est largement documentée chez les mammifères, en particulier chez l'homme ou les animaux de laboratoire (rat et souris). En revanche, sur la faune sauvage, le nombre d'étude est beaucoup plus faible et porte essentiellement sur les oiseaux et les poissons. Il paraît important d'étudier les niveaux de mélatonine chez d'autres espèces, notamment sur des espèces nocturnes qui sont soumises de manière plus importante à la pollution lumineuse en raison de leur importante activité pendant la nuit.

4. Problématique

Dans ce cadre théorique, et afin d'acquérir des connaissances fondamentales sur l'impact de la pollution lumineuse sur les zones humides, et en particulier sur les amphibiens, les objectifs de mon projet sont de :

- I. Mesurer les niveaux de la pollution lumineuse auxquels sont soumis les organismes *in natura* sur une zone humide d'importance écologique
- II. Evaluer l'effet de la pollution lumineuse sur la synthèse de la mélatonine chez des têtards d'amphibiens

La première partie du travail va permettre, non seulement, de déterminer à quels niveaux de pollution lumineuse les organismes sont soumis mais également étudier les variations d'intensité lumineuse liées aux conditions météorologiques dans une région ayant une forte densité de zones humides autour d'une grande agglomération (Lyon). Pour cela, un capteur de lumière autonome a été développé en collaboration avec l'université de Toulon. La lumière de l'éclairage de la métropole lyonnaise devrait s'étendre sur plusieurs dizaines de kilomètres. Nous nous attendons également à un fort effet des conditions météorologiques sur les intensités lumineuses au cours de la nuit (Kyba et al. 2015). Cela devrait altérer d'autant plus les cycles naturels de luminosité nocturne, surtout sur les sites les plus proches de la métropole lyonnaise (Posch et al. 2018).

Compte tenu des résultats déjà publiés sur l'impact de la pollution lumineuse sur la mélatonine chez les vertébrés (Brainard et al. 1982, Dominoni et al. 2013b, Robert et al. 2015, de Jong et al. 2016, Grubisic et al. 2019), nous formulons l'hypothèse que le rythme de la synthèse de la mélatonine est également affectée chez les amphibiens. Le pic nocturne de mélatonine peut être réduit, décalé ou supprimé selon la sensibilité de l'espèce étudiée.

Le projet de recherche présenté ici s'insère au cœur d'un vaste programme de recherche sur l'étude de la pollution lumineuse qui rassemble des chercheurs en écologie, en santé humaine et en sciences humaines et sociales (financement IDEX Lyon).

Partie I : Analyse spatiale et temporelle de la pollution lumineuse sur une zone humide

1. Introduction

1.1. La pollution lumineuse dans les écosystèmes aquatiques

Les écosystèmes d'eau douce tels que les fleuves, les rivières, les ruisseaux, les lacs et les étangs sont souvent des points chauds de la biodiversité. Ces écosystèmes occupent moins de 1% de la surface de la terre mais abritent 6% des espèces décrites dont environ 30% des espèces de vertébrés (Dudgeon et al. 2006, Balian et al. 2007). Les eaux douces fournissent des services écosystémiques importants tels que l'approvisionnement en nourriture et en eau potable et servent à des fins récréatives. Ainsi, les humains ont tendance à s'installer près des plans d'eau. Plus de 50% de la population mondiale vit dans un rayon de moins de 3 km autour d'un plan d'eau de surface (rivières ou lacs). Seulement 10% de la population mondiale vit à plus de 10 km d'un plan d'eau (Kummu et al. 2011). Par conséquent, les eaux douces sont fortement touchées par les facteurs de stress anthropiques.

Etant donné que la pollution lumineuse est étroitement liée à l'activité humaine, les systèmes d'eau douce de surface sont très fortement impactés par cette pollution (Secondi et al. 2017). De nombreuses études ont montré des conséquences négatives de la pollution lumineuse sur les systèmes aquatiques et leurs environnements à presque tous les niveaux trophiques. Par exemple, des changements dans la composition des communautés de micro-organismes (Hölker et al. 2015, Grubisic et al. 2017, 2018a) et de cyanobactéries (Poulin et al. 2014) ont été démontrés. La biomasse des autotrophes et la proportion de cyanobactéries ont diminué après quelques semaines d'exposition à la pollution lumineuse. En revanche, la proportion d'insectes volants d'origine aquatique et terrestre augmente dans les zones éclairées au niveau des cours d'eau (Perkin et al. 2014b, Manfrin et al. 2017). La pollution lumineuse altère également la composition de ces communautés d'invertébrés. Elle favorise principalement les prédateurs et les détritivores et induit des changements de régime alimentaire chez les prédateurs (Meyer and Sullivan 2013, Manfrin et al. 2017, Sullivan et al. 2019). En outre, des études sur plusieurs espèces de poissons (perche, gardon, bar, saumon atlantique migrateur) montrent que cette pollution affecte le développement des alevins, retarde et modifie leurs modes de dispersion, diminue la production d'hormones sexuelles chez les adultes, affecte les rythmes biologiques et les mouvements de migration (Brüning et al. 2011, Riley et al. 2012, Riley et al. 2015, Foster et al. 2016, Brüning et al. 2018).

Malgré les nombreuses études sur la pollution lumineuse, il est très surprenant qu'il n'y ait que très peu de données quantitatives publiées sur la façon dont les écosystèmes aquatiques sont exposés à la pollution lumineuse (Jechow and Holker 2019a). A ce jour, les études menées sur les systèmes aquatiques grâce aux mesures de radiance par les satellites sont réalisées uniquement sur les écosystèmes marins (Aubrecht et al. 2008, Davies et al. 2014, 2016, Gillespie et al. 2017, Geronimo et al. 2018, Zhao et al. 2018). À notre connaissance, les systèmes d'eau douce n'ont pas été étudiés à partir de données satellitaires. Très récemment, des mesures *in situ* à la surface de systèmes d'eau douce ont été obtenues grâce à différents capteurs de lumière. Jechow et coll. (2016) ont mesuré la

luminosité du ciel nocturne sur le lac Stechlin, dans une région très sombre en Allemagne. La luminosité nocturne zénithale est à un niveau naturel, cependant à l'horizon, les halos de plusieurs villes éloignées sont observables. Secondi et coll. (2017) a étudié les niveaux de lumière nocturne dans 26 étangs et 2 sites fluviaux à Angers, en France. Ils révèlent que sur les sites urbains par ciel couvert, les niveaux de lumière nocturne mesurés au-dessus et sous la surface de l'eau sont aussi élevés, voire plus, qu'une nuit de pleine lune. Certaines mesures de pollution lumineuse sont « cachées » dans des publications. Ces études *in natura* sont dédiées aux effets de la pollution lumineuse sur les organismes et les auteurs relèvent donc les niveaux de luminosité nocturne de leurs zones études (Riley et al. 2012, Meyer and Sullivan 2013, Perkin et al. 2014a). Cependant, le nombre de jeux de données publiés avec des mesures *in situ* reste très faible. De plus, ces mesures sont réalisées sur une zone très restreinte. Or, l'information des différents niveaux de pollution lumineuse présents dans les écosystèmes aquatiques est importante pour les chercheurs qui désirent réaliser des expériences, en laboratoire, sur les conséquences d'une exposition à des niveaux réalistes de pollution lumineuse sur les espèces présentes dans ces écosystèmes.

1.2. Mesurer la pollution lumineuse

Mesurer la pollution lumineuse reste encore aujourd'hui un défi majeur en raison notamment des très faibles intensités enregistrées. Au cours de deux dernières décennies, de nombreuses études ont été réalisées et plusieurs instruments et techniques ont ainsi été développés. Cependant, un obstacle majeur au progrès dans ce domaine est le grand nombre de systèmes et d'unités de mesure utilisés (Tableau 1 ; Hanel et al. 2018). Actuellement, 2 grandes stratégies ont été adoptées par les auteurs de ces études. Une partie des études utilisent les données issues d'images prises par les satellites et modélisent des cartes de pollution lumineuse à large échelle (Cinzano et al. 2001, Bennie et al. 2014, Bennie et al. 2015, Falchi et al. 2016). L'autre stratégie consiste à prendre des mesures à partir du sol (Kollath 2010, Kyba et al. 2011, Puschig et al. 2014, Kyba et al. 2015, Jechow et al. 2016, Ribas et al. 2016, Jechow et al. 2018, Posch et al. 2018). Cette stratégie, difficile à mettre en place à large échelle, permet de mesurer d'autres aspects de la pollution lumineuse. Elle permet de mesurer la quantité de lumière reçue au niveau du sol qui varie en fonction des conditions météorologiques, du cycle lunaire et des particules en suspension dans l'air.

Tableau 1 : Appareils de mesure de la lumière nocturne

Instruments	Type de mesures	Unité
Defense Meteorological Satellite Program Operational Line-Scan System (DMSP-OLS)	Photométrie satellitaire	$W.cm^{-2}.sr^{-1}$
Visible Infrared Imaging Radiometer Suite Day-Night Band (VIIRS DNB)	Photométrie satellitaire	$W.cm^{-2}.sr^{-1}$
Sky Meter Quality (SQM)	Photométrie 1D	$mag.arcsec^{-2}$
Luxmètre	Photométrie 1D	lux
Appareil photo avec objectif « fisheye »	Photométrie 2D	$cd.m^{-2}$ ou $mag.arcsec^{-2}$
Spectromètre Jaz	Spectroscopie	$\mu moles.s^{-1}.m^{-2}$

1.2.1. Modélisation et données satellites

1.2.1.1. Données issues des différents satellites

Les premières cartes de pollution lumineuse, réalisées à partir d'images satellites, datent du début des années 1990. En 1989, Sullivan produit une image des sources de lumière sur la terre, pendant la nuit, en rassemblant les images prises par les satellites DMSP (Defense Meteorological Satellite Program du programme de Défense, USA). Cette image ne permet pas de distinguer les sources de lumière persistante (éclairage) et des sources de lumière éphémère (feu). Par la suite Eldvige et coll. (1997 à 2001) ont produit des cartes identifiant les différentes sources de lumière nocturne mais la lumière du ciel n'est pas encore quantifiée. En 1998, Falchi et Cinzano ont utilisé, pour la première fois, les données de radiance des satellites DMSP pour modéliser des cartes de la luminosité du ciel sur de grandes zones. Dès 2001, ils publient le premier atlas mondial de la pollution lumineuse. Pour modéliser ces cartes de la luminosité du ciel au zénith, ils utilisent les techniques de modélisation de la propagation de la pollution lumineuse dans l'atmosphère établit par Garstang en 1986 et 1989. Par la suite, les données de radiance des satellites DMSP ont permis d'évaluer l'évolution de la pollution lumineuse entre 1992 à 2012 à un niveau national (Espagne, Chine), continental (Europe) ou dans des écosystèmes spécifiques (Bennie et al. 2014, Han et al. 2014, Bennie et al. 2015). Cependant, en raison des limites du DMSP et en particulier de la saturation des capteurs dans les centres villes, de l'absence d'étalonnage des capteurs et une résolution spatiale faible (3km), le nombre d'études a été limité.

En 2012, la qualité de ces images s'est considérablement améliorée grâce à de nouveaux détecteurs spatiaux. Les données de radiance des radiomètres à imagerie infrarouge/visible (VIIRS DNB : Visible Infrared Imaging Radiometer Suite Day-Night Band) sont étalonnées dans une bande spectrale V (de 500 à 900 nm) et les images ont une résolution spatiale d'environ 750 m. C'est à partir de ces données que Falchi et coll. (2016) ont réalisé le nouvel atlas mondial de la pollution lumineuse.

1.2.1.2. Les limites des capteurs et de la modélisation

Cette approche par modélisation des données issues des satellites présente des limites (Falchi et al. 2016). La première étant que les modèles sont calculés à partir de plusieurs approximations concernant la transparence de l'atmosphère, la distribution spatiale vers le haut des villes, le spectre des sources lumineuses artificielles. Plus les conditions réelles diffèrent de ces approximations, plus la différence de luminosité entre le réel et les données modélisées sera grande. De plus, les horaires de survol des satellites sur une zone spécifiques ne sont pas forcément connus. Les données en libre accès sont les valeurs moyennes, mensuelles ou annuelles, de radiance. Or, la plupart des zones soumises à la pollution lumineuse affichent une diminution progressive de la lumière au cours de la nuit, ce qui entraîne des différences d'environ $0,3 \text{ mag.arcsec}^{-2}$ entre 20h00 et 02h00 (Kyba et al. 2015). En outre, l'extinction de l'éclairage public des communes au cours de la nuit sont de plus en plus nombreuses. En fonction de l'heure de passage du satellite, les niveaux de pollution lumineuse vont différer. Par conséquent, lorsque les mesures par les satellites sont réalisées après minuit, les niveaux de pollution lumineuse sont sous-estimés par rapport au début de nuit.

Une autre limite connue vient du fait que les cartes de pollution lumineuse sont réalisées uniquement par ciel dégagé. Or, les conditions atmosphériques sont d'une importance primordiale. En fonction de la présence de nuages, des changements de luminosité du ciel sont attendus. La

présence de nuages amplifie fortement les halos de pollution lumineuse à proximité et dans les agglomérations. Une amplification des niveaux de luminosité du fond du ciel dans les grandes villes en présence de nuages d'un facteur 5 à plus de 100 est rapportée dans plusieurs études (Kyba et al. 2011, Bará 2016, Jechow et al. 2017). La pollution lumineuse est ainsi largement sous-estimée par ciel couvert (Kyba et al. 2011, Posch et al. 2018).

L'une des préoccupations des chercheurs de ce domaine concerne la transition de l'éclairage des lampes à vapeur de sodium vers les lampes LED (light-emitting diode) en raison de leur spectre d'émission dans le bleu (400 à 500 nm). Or le capteur VIIRS DNB n'est pas sensible à ces longueurs d'onde. A moins que l'émission de la lumière bleue soit limitée, les approximations utilisées pour la modélisation vont s'écarter de plus en plus de la réalité. Cela signifie que l'insensibilité au bleu du VIIRS DNB indiquerait une réduction faussée de la pollution lumineuse alors qu'en réalité, la luminosité du ciel augmenterait (Falchi et al. 2016).

1.2.2. Mesures de la luminosité du ciel obtenues depuis le sol

Au cours de ses 2 dernières décennies, un certain nombre d'appareils pour mesurer de très faibles intensités de lumière ont été développés. Ces appareils peuvent être classés en 2 types : les instruments «unidimensionnels» et les instruments «d'imagerie». Les instruments unidimensionnels permettent d'étudier le ciel selon un angle défini. En général, ces appareils sont orientés au zénith. Les instruments d'imagerie peuvent fournir des informations sur le rayonnement provenant de toutes les directions. Je présente ci-après uniquement les 2 appareils les plus utilisés actuellement dans les études de pollution lumineuse.

1.2.2.1. Sky Quality Meter

Le Sky Quality Meter (SQM) a été initialement développé par la société Unihedron principalement comme un outil pour les astronomes amateurs afin de mesurer la luminosité du ciel nocturne sur leurs sites d'observation. Ces dernières années, il a été utilisé dans un grand nombre d'études sur la luminosité du ciel (271 publications recensées entre 2011 et 2016 d'après Hanel et al. 2018). Le SQM se compose d'un convertisseur lumière-fréquence (TAOS TSL237S) et d'un filtre infra-rouge. La réponse spectrale englobe le spectre phototique de la vision humaine, mais elle est également sensible à des longueurs d'onde plus courtes, c'est-à-dire qu'il est sensible dans le bleu (Fig. 8). Les mesures sont rapportées dans l'unité magnitude par second d'arc carré (mag.arcsec^{-2}), une unité logarithmique inverse utilisée par la communauté astronomique. Cela signifie que plus la valeur est élevée, plus le ciel est sombre. L'échelle est définie de sorte qu'une diminution de $5 \text{ mag.arcsec}^{-2}$ correspond à une augmentation d'un facteur 100 de la luminance. Le SQM est disponible en tant qu'appareil portable (mesures ponctuelles) ou, depuis quelques années, connecté via USB, Ethernet ou RS232 (mesures en continue). Ces appareils connectés nécessitent un ordinateur sur le terrain pour l'acquisition et le stockage des données et d'une alimentation électrique.

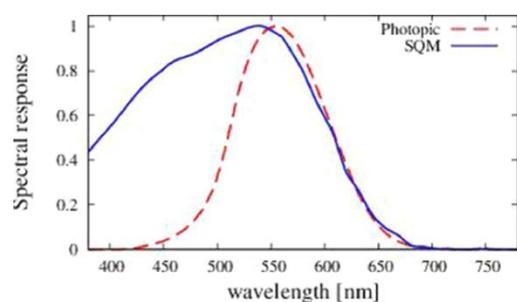


Figure 8 : Réponses spectrales du SQM et de la vision phototique humaine. Source : Hanel et al, 2018

Le coût faible du SQM portable (environ 150€) a permis sa large utilisation par des professionnels et des amateurs. Cela a permis de constituer des bases de données mondiales publiques (par exemple : Globe at Night, <https://www.globeatnight.org/maps.php>). Le développement des versions de mesure en continue ont permis de réaliser quelques études sur la variation de la luminosité du ciel au cours du temps (Kummu et al. 2011, Puschnig et al. 2014, Bará 2016, Jechow et al. 2016, Ribas et al. 2016, Posch et al. 2018).

1.2.2.2. Appareil photographique équipé d'un objectif « fisheye »

Au cours des 10 dernières années, des objectifs 180° appelés « fisheye » ont été adaptés pour des mesures du ciel nocturnes en s'inspirant des travaux d'écologie forestière. Ils permettent de prendre des photographies de tout le ciel. Ainsi, toutes les sources de lumière et les niveaux d'éclairement du ciel, sous tous les angles, peuvent être d'identifier. La plupart des auteurs génèrent des images en fausses couleurs (Fig. 9). Cela permet de mieux visualiser les données. Si ces appareils sont équipés de caméra CDD ou de capteurs CMOS, ils peuvent fournir des informations spectrales sur les trois canaux RVB : rouge, vert et bleu (Hanel et al. 2018). Cela est utile pour surveiller les changements du spectre lumineux entre la lumière naturelle (lune, étoiles) et les différentes techniques d'éclairage (lampes à vapeur de sodium, lampes LED). L'étude des bandes spectrales en dehors de la bande spectrale V (correspondant au maximum de sensibilité de l'œil humain) pourraient être importante pour comprendre l'influence d'autres longueurs d'ondes sur les animaux ou les plantes.

Cependant, ces lentilles ont un fort vignettage, ce qui induit à un assombrissement à la périphérie de la photographie. Elles peuvent transmettre moins de 50% de la lumière à l'horizon, où se trouvent la plupart des sources de lumière artificielle.

D'après Hanel et coll. (2018), pour mesurer les intensités de lumière avec précision avec des caméras fisheye, l'étalonnage et l'orientation des caméras sont très critiques. Un autre obstacle à l'utilisation de ces photographies est le manque de logiciel gratuit pour l'étalonnage et l'affichage des données. A ce jour, cette méthode n'est pas automatisable et nécessite une source d'énergie peu adaptée à des suivis sur plusieurs jours. Chacune de ces méthodes a ses avantages et ses inconvénients. Une seule technique ne permet pas de réaliser, à la fois, une étude spatiale à large échelle (plusieurs centaines de km²) et une étude temporelle afin d'étudier les variations de luminosité nocturne en fonction de divers paramètres environnementaux.

1.3. Hypothèse et objectif

Afin d'étudier les niveaux de pollution lumineuse sur une zone humide d'intérêt majeur pour la biodiversité, telle que la Dombes au nord-est de Lyon, nous avons opté pour 2 approches. Dans un premier temps, des mesures de lumière zénithale depuis le sol ont été réalisées en continu pendant 29 jours (mars-avril 2018) afin d'identifier les niveaux et les variations de luminosité nocturne à

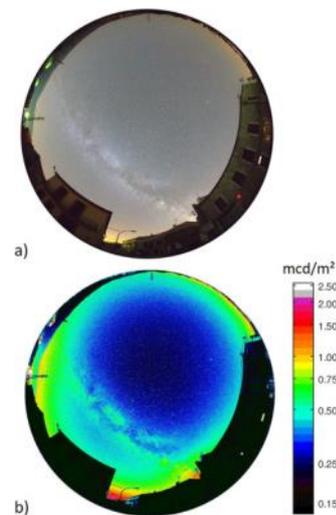


Figure 9 : Image de la luminosité du ciel dans le village espagnol d'Ager mesurée avec un appareil photo reflex numérique a) image non traitée et b) image en fausses couleurs montrant la luminance

Source : A. Jechow

distance croissante de la métropole lyonnaise. Par la suite, les niveaux de pollution lumineuse seront étudiés sur l'ensemble du territoire de la Dombes grâce à des cartes de pollution lumineuse modélisées à partir des données satellites VIIRS DNB, calibrées par nos données de lumière zénithale prises au sol. Nous nous attendons à observer un haut niveau de pollution lumineuse à proximité de la métropole lyonnaise (bordure sud-ouest de la Dombes) et dans la partie la plus rurale, les niveaux de luminosité nocturne devraient se rapprocher de celui d'un ciel naturel. Par ailleurs, la présence de nuage devrait augmenter les niveaux de pollution et modifier les patrons de luminosité naturelle.

2. Matériels et méthodes

2.1. Zone d'étude

La question du respect environnemental et des enjeux écologiques se pose particulièrement dans les territoires soumis à une forte pression démographique et au développement important des infrastructures. La Dombes, territoire géographique de plus de 47 000 ha, située au nord-est de Lyon, est une des zones humides d'importance majeure en France en termes de biodiversité (INPN, Inventaire national du patrimoine naturel). Sa population humaine a doublé depuis 1975 (INSEE) et elle est située à proximité de la métropole lyonnaise qui comporte 1,3 millions d'habitants. 40 % de la population humaine se concentre sur la bordure ouest (vallée de la Saône) et la bordure sud de la Dombes, ce qui donne une physionomie urbaine à cette partie du territoire. Les autoroutes, les routes départementales de plus en plus fréquentées ainsi que les lignes ferroviaires nécessaires au développement régional constituent 89 km de barrières écologiques fortes traversant le territoire de la Dombes. Le cœur du territoire est nettement moins peuplé et exprime un caractère rural entre forêts, terres agricoles et étangs.

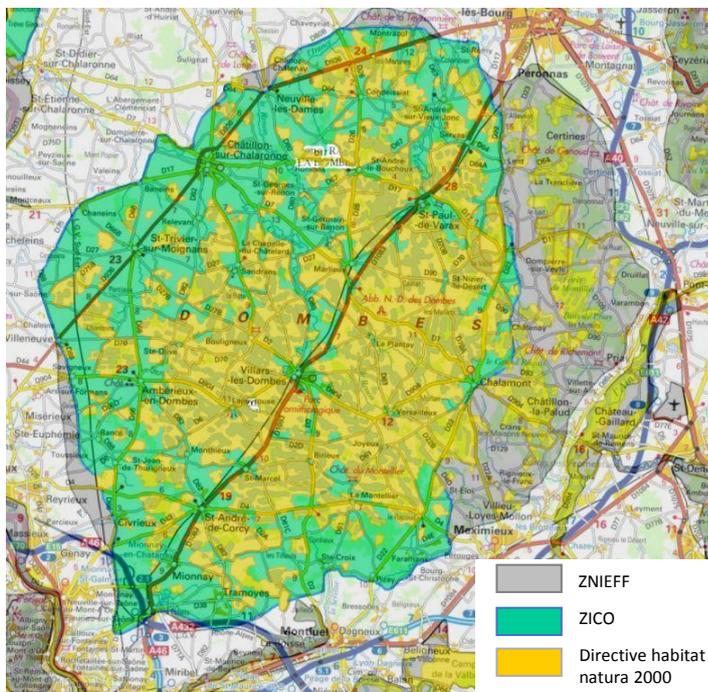


Figure 10 : la Dombes, un territoire à intérêt écologique majeur

La Dombes a également été classée comme site Natura 2000 par l'arrêté du 12 avril 2006 (JORF n°94 du 21 avril 2006, page 5971, texte n° 92). Le réseau Natura 2000, constitué d'un ensemble de sites

Territoire aux milles étangs, cette zone abrite une biodiversité remarquable et unique en France. C'est actuellement la zone humide continentale la plus riche de France pour de nombreux taxons (odonate mais aussi amphibiens et surtout oiseaux). L'ensemble de la Dombes est concernée par l'Inventaire des Zones Naturelles d'Intérêt Écologique, Faunistique et Floristique (ZNIEFF, Fig. 10). L'objectif des ZNIEFF est d'identifier et de décrire des secteurs de grand intérêt écologique abritant la biodiversité patrimoniale, dans la perspective de créer un socle de connaissance mais aussi un outil d'aide à la décision (protection de l'espace, aménagement du territoire).

naturels européens, vise à assurer la survie à long terme des espèces et des habitats particulièrement menacés, à forts enjeux de conservation en Europe. L'objectif de la démarche européenne est à la fois la préservation de la diversité biologique et la prise en compte des exigences socio-économiques. De plus, la Dombes est inventoriée comme ZICO (Zone Importante pour la Conservation des Oiseaux). Enfin, une labélisation dans le cadre de la convention Ramsar (www.ramsr.org) est actuellement en cours. Elle engage les Etats membres à la conservation et à l'utilisation durable de leurs milieux humides, plus particulièrement les habitats des oiseaux d'eau. Elle prévoit la création d'un réseau mondial de zones humides d'importance internationale.

2.2. Mesure de la lumière nocturne

2.2.1. Capteurs JASONDARK

Un des problèmes majeurs de la mesure de la pollution lumineuse est lié à la sensibilité des appareils disponibles sur le marché. La plupart ne sont pas assez sensibles. Certains appareils comme le Sky Quality Meter (SQM) et certains radiomètres sont assez sensibles mais ne fonctionnaient pas de manière autonome au début de l'étude. Afin de pallier à ces problèmes, des appareils autonomes à haute résolution « Jasondark » ont été développés grâce à une collaboration initiée par Thierry Lengagne (CR CNRS, LEHNA, Lyon) avec le pôle technologique de l'Université de Toulon (Pr Hervé Glotin). Chaque appareil de mesure est composé de capteurs « TAOS TSL237 » qui convertissent la lumière en fréquence (Fig. 11, spectre de réponse en annexe). Ces capteurs réalisent des mesures d'intensité lumineuse en continu. Le temps d'intégration de la mesure de lumière est de 30 secondes. Les capteurs sont placés dans un support étanche afin de pouvoir réaliser des mesures quelque soit les conditions météorologiques. Ils ont une capacité de stockage des données et une autonomie (batterie interne) d'au moins 25 jours.



Figure 11 : A gauche, capteur Jasondark dans son support. A droite, carte électronique avec les capteurs TAOS TSL237

Les mesures sont enregistrées, dans un fichier texte, sous le format suivant :

`$.year/month/day;hour:min:sec;onTime;sumRedLightCount;sumGreenLightCount;sumBlueLightCount;sumClearLightCount`, dans lequel:

- **\$** indique une nouvelle mesure
- **year/month/day** et **hour:min:sec** représentent la date et l'heure de la mesure
- **onTime** représente le temps (en secondes) depuis le démarrage de la carte
- **sumClearLightCount** représente la totalité des "ticks/impulsions" reçus pendant la période d'intégration principale (30s) pour chacun des capteurs

`sumClearLightCount` est converti en $\text{magnitude.arcsec}^{-2}$ (même unité que le SQM). Pour rappel, c'est une unité logarithmique inverse pour la mesure de la luminosité du ciel nocturne. Dans la littérature, cette unité est largement utilisée pour décrire la luminosité du ciel nocturne (en anglais, Night Sky Brightness ou NSB).

2.2.2. Campagne de mesure de la lumière nocturne depuis le sol

Grâce à une collaboration avec le géographe T. Joliveau (Université de Saint Etienne, financement labex IMU, Fig. 12), sur le territoire de la Dombes, nous avons identifié les zones où les mesures de lumière ne seront pas altérées par la lumière directe émise par des zones d'habitation ou par le trafic routier (distance minimale des axes routiers mineurs : 275 m, distance minimale d'une agglomération : 700 m). Pour limiter les problèmes d'ombrage, les forêts sont exclues des sites potentiels et les capteurs sont donc posés dans des espaces dégagés où la végétation est basse. Nous avons identifié 82 sites répondant à ces critères. Chacun de ces sites ont été vérifiés de visu. Afin d'obtenir l'autorisation de poser un capteur sur ces sites, la recherche des propriétaires ou des exploitants de ces terrains a été réalisée auprès du Centre des impôts de Trévoux et des mairies des communes concernées. Au final, 21 sites répartis dans la Dombes ont été retenus pour la mesure de la réflexion de la lumière par l'atmosphère et les nuages (Fig. 13) situés entre 16 et 50 km du centre de Lyon. Les capteurs Jasondark ont été installés du 26 mars au 23 avril 2018. Les capteurs sont orientés à la verticale, vers le zénith.

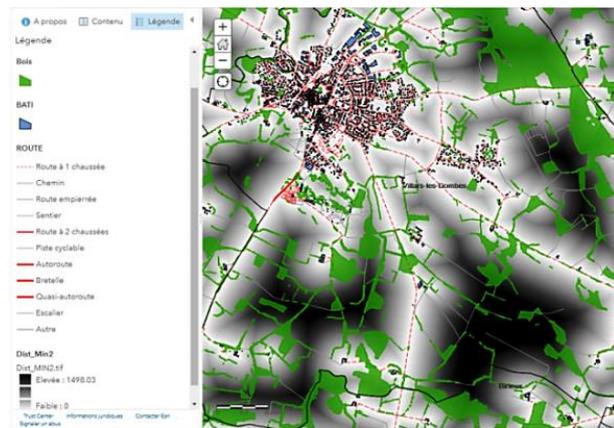


Figure 13 : Carte Arcgis de Villars-les-Dombes. Le gradient de couleur blanc/noir est représentatif de la distance par rapport à une potentielle source

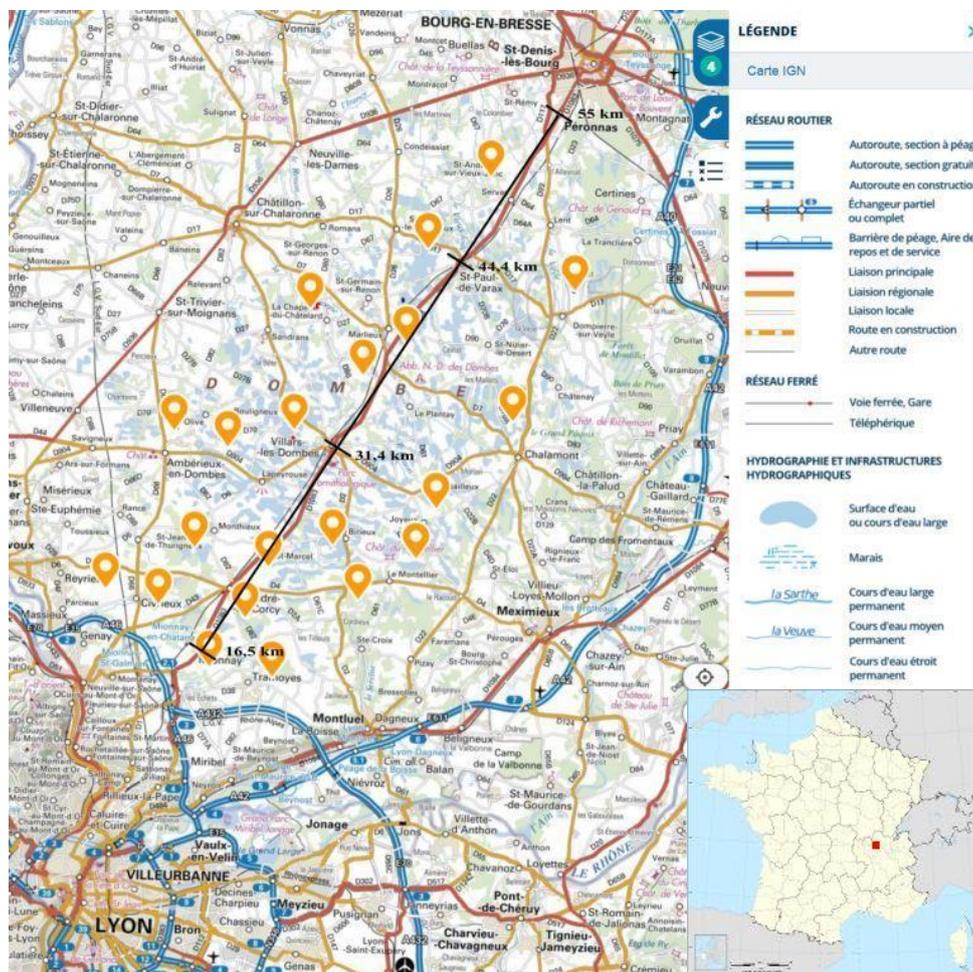


Figure 12 : Localisation des sites (marqueur orange) de mesure de lumière nocturne par les capteurs Jasondark. La ligne en noir indique la distance au centre-ville de Lyon

Pendant ces 29 jours, plus de 1,7 millions de mesures ont été prises. 2 capteurs ont été retirés du jeu de données en raison de la présence de poussière sur la vitre du capteur. Les données ont été filtrées afin de conserver uniquement les données de la nuit astronomique (soleil à 18° sous l'horizon). Cela représente un total de 384 000 mesures.

2.2.3. Données météorologiques et lunaires

Les données météorologiques sont récupérées à partir des données synop essentielles OMM de Météo France (donneespubliques.meteofrance.fr/?fond=produit&id_produit=90&id_rubrique=32). Les données sont celles issues de la station météorologique basée à l'aéroport Lyon-St Exupéry (la plus proche de notre zone d'étude). Le pourcentage de couverture nuageuse est relevé toutes les 3 heures (20h, 23h, 02h UTC). Pour cette étude, nous faisons le postulat que les conditions météorologiques sont stables pendant 30 min après la mesure. Pour les données sur le cycle lunaire, 4 types d'informations sont collectées : le pourcentage de surfaces visibles (phase de la lune), les heures de lever et de coucher de lune et l'angle d'élévation de la lune dans le ciel.

La mesure de la lumière émise par la lune peut paraître simple au premier abord. Pourtant, la mesure de la luminosité au zénith en fonction du cycle lunaire est en réalité très complexe à réaliser. La luminosité au zénith varie en fonction de la phase lunaire, de l'angle d'élévation de la lune au-dessus de l'horizon, de la présence ou non de nuage et de la qualité de l'air. Un site de référence, très peu ou non soumis à de la pollution lumineuse et dans des conditions météorologiques similaires comparable à notre zone d'étude, nous aurait permis d'estimer les niveaux de pollution quelles que soient les conditions lunaires ou météorologiques. Malheureusement, avoir un site de référence n'a pas été possible. Les sites sans pollution lumineuse, en France, sont extrêmement rares et les conditions météorologiques n'auraient pas été similaires à notre zone d'étude.

2.2.4. Analyse de la variation de la luminosité du ciel nocturne

Pour représenter la variation de luminosité du ciel au cours des 28 nuits, le diagramme en « sablier » est un graphique approprié. L'axe x est un axe temporel, représentant les dates et les heures des 28 nuits. L'axe y est également un axe temporel, mais il indique uniquement les heures de la nuit. Une échelle de couleur est utilisée pour indiquer la valeur de NSB mesurée à chaque moment de la nuit. La nuit de pleine lune est indiquée par des lignes verticales en pointillés (noires), tandis que la nouvelle lune est indiquée par des lignes verticales en pointillés (rouges). Plus le ciel est « vierge », plus la corrélation entre le NSB et la phase lunaire est forte. Par exemple, sur un site faiblement pollué en dehors de la zone d'étude (Fig. 14), les nuits sont de couleur bleu foncé à noir en absence de la lune. Les valeurs de NSB peuvent être supérieure à $21,6 \text{ mag.arcsec}^{-2}$ sous un ciel couvert qui masque les étoiles. Lorsque la

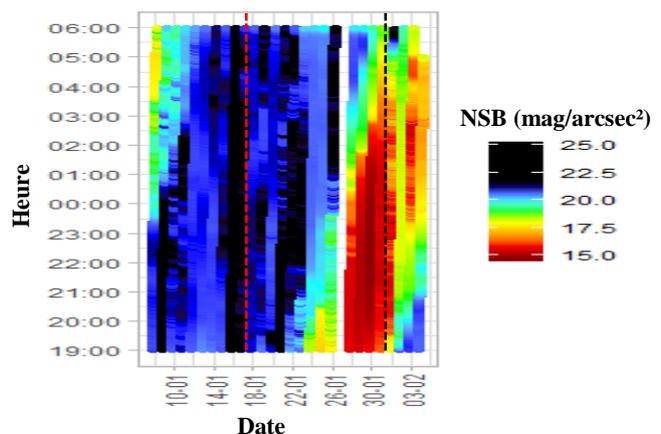


Figure 14 : Diagramme en sablier d'un site, dans la Drôme, très faiblement pollué en janvier 2018

La ligne pointillée rouge indique la nouvelle lune et la ligne pointillée noir indique la pleine lune.

lune est présente et la luminosité plus importante, les couleurs varient alors entre le jaune et le rouge.

2.2.5. Simulation des cartes de pollution lumineuse

Le bureau d'étude DarkSkyLab (darkskylab.com/) a développé un outil de simulation de la pollution lumineuse appelé **Otus**. Le moteur de simulation est capable de produire des cartes de pollution lumineuse en prenant en entrée différents types de données (sources lumineuses discrètes, radiances satellite, données de population, ...) selon leur disponibilité.

Des satellites américains de la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) collectent depuis 2012 des données de radiance grâce au capteur VIIRS DNB. La résolution spatiale est d'environ 750 m. Les valeurs de radiance sont moyennées par mois ou par année pour réaliser des jeux de données nommés « composites ». Avant de réaliser les moyennes, les données de radiance sont filtrées pour exclure les données impactées par la lumière parasite (la foudre, l'éclat de la lune) et la couverture nuageuse. Les jeux de données composites sont ensuite mis à disposition publiquement (ngdc.noaa.gov/eog/viirs/download_dnb_composites.html). Pour modéliser les cartes de cette étude, le jeu de données composite annuel de radiance VIIRS DNB de l'année 2019 (assemblé par DarkSkyLab à partir des jeux composites mensuels publiés par le NOAA) a été utilisé. De plus, les mesures de NSB des capteurs Jasondark des 19 sites ont été utilisées pour calibrer la simulation.

Les données de radiance représentent une luminance énergétique ($W.cm^{-2}.sr^{-1}$). Il ne s'agit pas d'une mesure directe de la pollution lumineuse sur un territoire. La transformation des données de radiance en données de luminance du ciel au zénith (le **NSB** exprimé en $mag.arcsec^{-2}$) se fait au travers d'un algorithme de « diffusion ». L'utilisation d'un jeu de données de radiance satellite dans un moteur de simulation de la pollution lumineuse nécessite une calibration initiale. L'approche utilisée par DarkSkyLab avec son logiciel de simulation Otus, pour calibrer au mieux un jeu de données composite annuel VIIRS DNB, consiste à ajuster les paramètres du modèle en utilisant des mesures réalisées sur le terrain. L'objectif de cette approche est de minimiser les écarts entre les prévisions du modèle et les mesures réalisées sur le terrain.

Les valeurs de NSB utilisées par DarkSkyLab, pour réaliser la calibration d'un jeu de données, répondent aux exigences suivantes afin de minimiser les biais et les imprécisions. Elles doivent être le résultat de mesures réalisées en continu sur plusieurs jours, voire plusieurs semaines, sur chacun des sites. Elles doivent également être réalisées sur un nombre suffisant de sites représentant des niveaux de pollution lumineuse variés. Pour chaque site de mesure, deux valeurs de NSB caractéristiques ont été déterminées : un NSB avec des conditions moyennes de beau temps par une nuit claire sans la lune et un NSB représentatif d'un ciel très couvert avec les plus hautes valeurs de luminance du ciel, toujours hors de la présence de la Lune. L'approche statistique de la mesure du NSB permet d'obtenir ces deux valeurs caractéristiques.

Une fois le jeu de valeurs NSB de calibration obtenu, le logiciel de simulation Otus réalise automatiquement des simulations de manière répétée en faisant varier un petit nombre de paramètres clés. Après chaque simulation, les prédictions du modèle sont comparées aux NSB

caractéristiques mesurés sur le terrain. Les paramètres retenus pour le modèle à l'issue du processus de calibration sont ceux qui minimisent les différences entre les prédictions et les mesures.

A titre d'exemple, la figure 15 représente cette étape de sélection des paramètres. Sur le graphique de gauche, les prévisions du modèle et les mesures réalisées au sol diffèrent. Les lignes, grise (droite théorique de concordance entre le modèle et les mesures réelles) et orange (droite de régression des mesures), sont très éloignées l'une de l'autre. Les paramètres de ce modèle ne sont donc pas corrects. Sur le graphique de droite, les 2 lignes se superposent. Ainsi, les paramètres de ce modèle peuvent être retenus pour réaliser une carte de pollution lumineuse sur la zone d'étude sélectionnée.

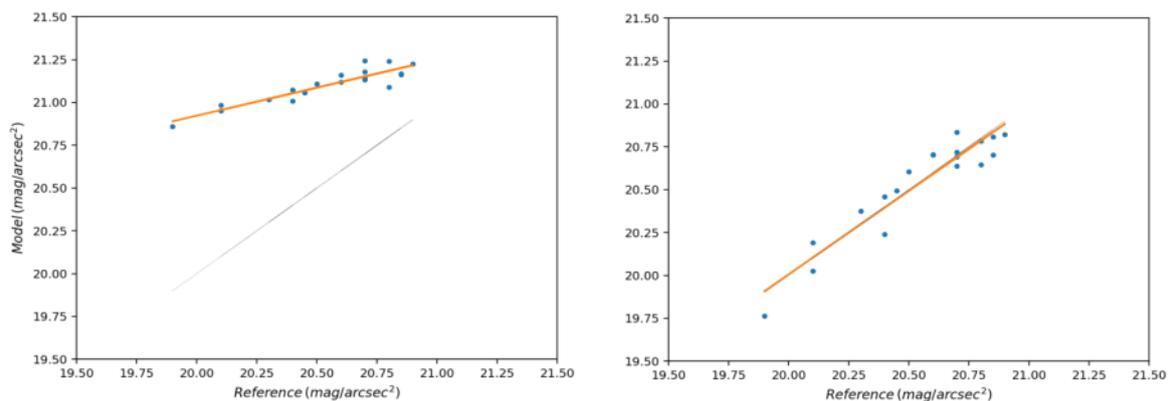


Figure 15 : Courbes d'ajustement des paramètres de simulation OTUS.

L'axe horizontal représente les valeurs de NSB mesurées sur le terrain et l'axe vertical représente les prédictions du modèle Otus. La ligne orange est la droite de régression des mesures au sol. La ligne grise représente la concordance parfaite entre le modèle et les mesures sur le terrain.

Ce processus de sélection des paramètres est réalisé pour les 2 conditions de ciel : un ciel clair et un ciel très couvert. Ainsi, 2 simulations de carte de pollution lumineuse ont été produites par OTUS. Les données brutes des simulations OTUS (uniquement les communes de la zone Natura 2000) ont été transférées sur QGIS (logiciel de Système d'Information Géographique) afin de déterminer les pourcentages de surfaces impactées par différents niveaux de pollution lumineuse.

3. Résultats

3.1. Résultats des mesures avec les capteurs Jasondark

3.1.1. Impact de la couverture nuageuse sur la luminosité du ciel

Afin d'étudier l'effet d'une couverture nuageuse sur la diffusion de la lumière artificielle, seules les mesures sans lune sont utilisées. Soit près de 239 000 mesures.

La figure 16 montre les variations des valeurs de NSB au cours d'une nuit sans lune (9-10 avril 2018) en fonction de la distance à Lyon (échelle de couleur). Plus la valeur de NSB est faible, plus le ciel est lumineux. Les variations de NSB, pour chacun des 19 sites, sont liées à la présence d'une couverture nuageuse plus au moins dense à partir de 22h00-22h30. La présence de nuage augmente la luminosité du ciel quel que soit la distance du site à la métropole lyonnaise.

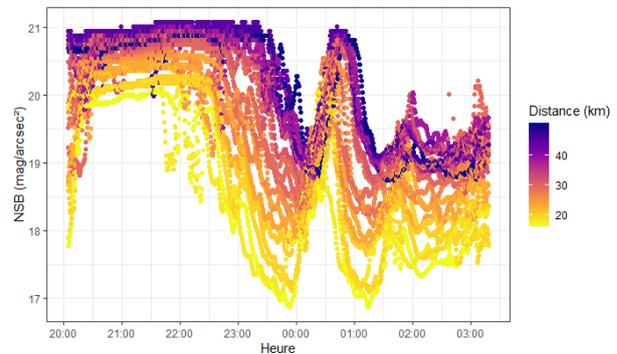


Figure 16 : Relevés de mesures du NSB au cours de la nuit du 9-10 avril 2018. L'échelle de couleur correspond à la distance des différents sites par rapport à Lyon.

Un graphique approprié pour caractériser l'obscurité ou la pollution lumineuse est un histogramme des NSB pour un site donné (Posch et al. 2018). Ces chiffres sont obtenus à partir des nuits avec ou sans nuages, en absence de la lune. Dans ce qui suit,

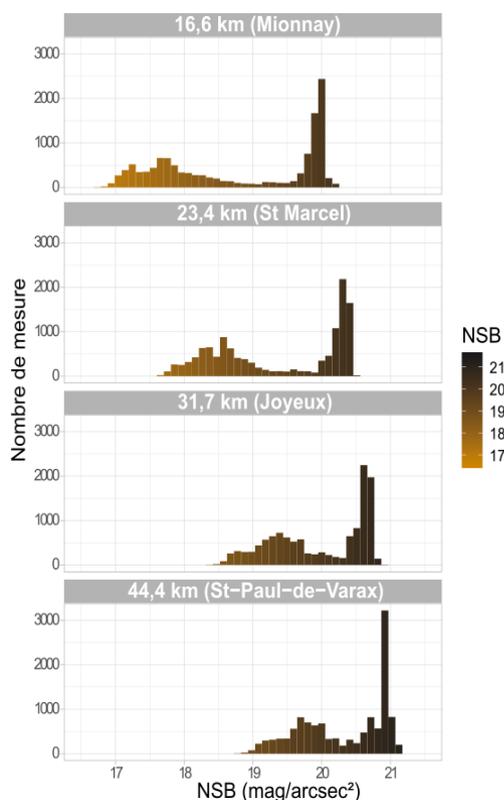


Figure 17 : Histogrammes des valeurs de luminosité du ciel (NSB) à différentes distances de la métropole lyonnaise en absence de lune (n par site entre 12 569 et 12 585)

nous discuterons de 4 histogrammes sélectionnés à une distance croissante de la métropole lyonnaise (Fig. 17). L'ensemble des histogrammes de l'étude sont en annexe. Nous observons un décalage des valeurs NSB vers un ciel de plus en plus sombre lorsque la distance à la métropole lyonnaise s'accroît. Cependant, aucun site n'atteint la valeur de référence d'un ciel étoilé de bonne qualité : 21,6 mag. arcsec⁻². Tous les sites sont donc soumis à de la pollution lumineuse.

Il est à noter, dans la figure 17, que la distribution des fréquences absolues de la luminosité nocturne a une forme bimodale. Le pic de droite, avec des valeurs de luminosité plus sombres, correspond aux nuits sans lune et sans nuages. Le second pic ayant des valeurs de NSB plus faibles (donc un ciel plus lumineux) est dû à la présence d'une couverture nuageuse plus ou moins dense. La distance entre les 2 pics augmente lorsque la distance à la métropole diminue. La distance entre ces 2 pics dépend principalement de la réflexion de la lumière artificielle sur la couche

nuageuse. Plus les sources de lumière sont proches et nombreuses, plus la réflexion de la lumière est importante. La réflexion de la lumière artificielle par temps couvert est donc plus importante lorsque le site est à proximité de la métropole.

3.1.2. Etude des variations de luminosité du cycle lunaire

Dans la zone d'étude, 6 sites ont été sélectionnés en fonction de leurs distances à la métropole lyonnaise pour réaliser les diagrammes en sablier (Fig. 18). Comme dans les résultats précédents, nous constatons qu'aucun des 6 sites n'atteint la valeur de référence d'un ciel étoilé naturel (21,6 mag.arcsec⁻², en noir sur l'échelle de couleur). La pollution lumineuse ne masque pas totalement le cycle naturel de variation de la luminosité nocturne. Nous observons une variation de luminosité liée en partie au cycle lunaire sur chacun des sites. Toutefois, une zone, entre le 7 avril au soir et le 15 avril au matin, est beaucoup plus lumineuse qu'attendue. La lune n'est présente qu'en fin de nuit ou

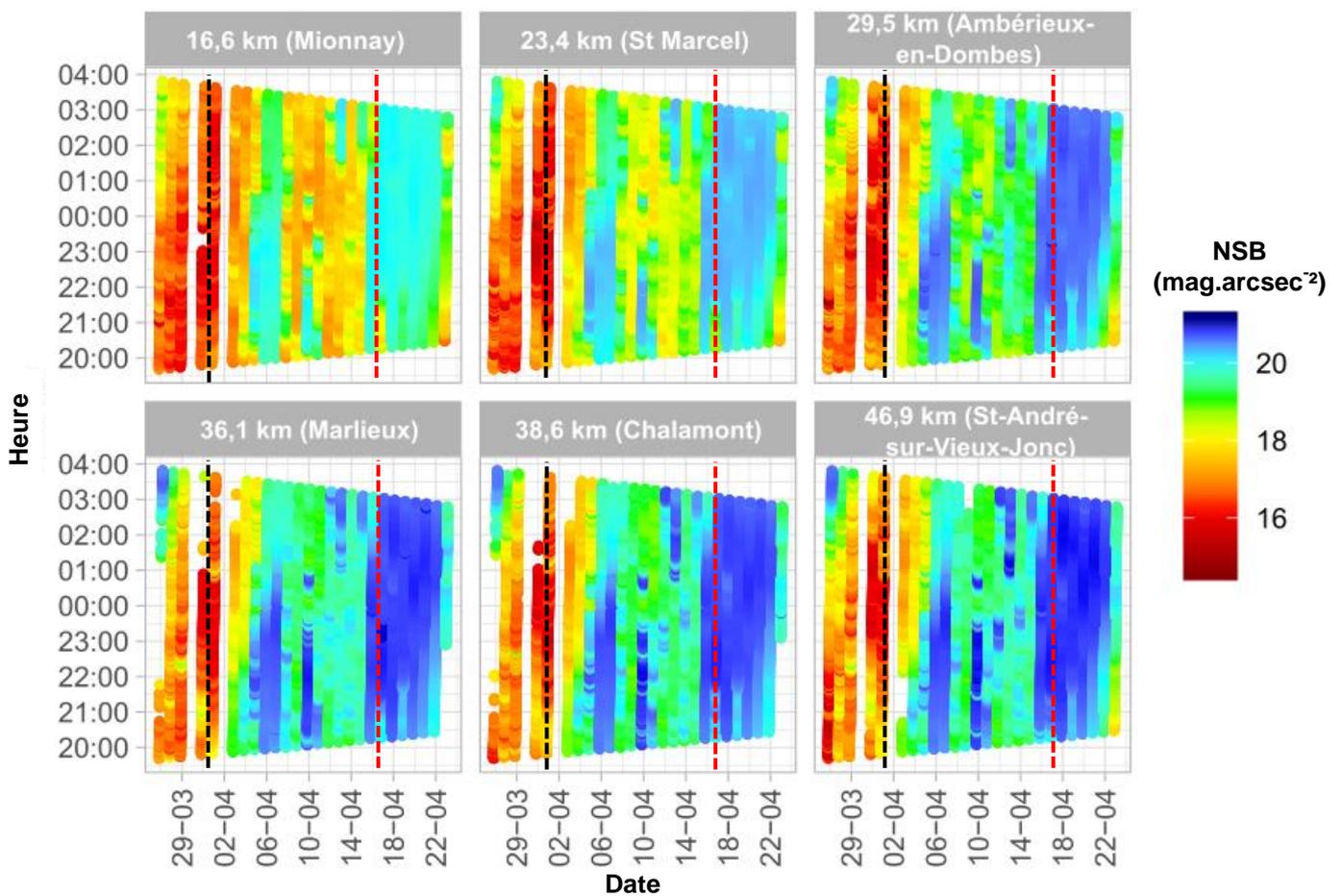


Figure 18 : Diagrammes en sablier du NSB sur les 6 sites à distance croissante de Lyon (km).

La ligne pointillée rouge indique la nouvelle lune et la ligne pointillée noir indique la pleine lune.

alors absente. Il s'agit de nuits où le ciel était partiellement ou totalement couvert. Cela représente 30,4% des mesures réalisées sur l'ensemble du jeu de données. Sur le site à 16,6 km de Lyon pendant cette période, les niveaux de pollution lumineuse sont extrêmement hauts, atteignant des valeurs de NSB entre 17 et 18 mag.arcsec⁻². En s'éloignant de métropole lyonnaise, les niveaux de luminosité du ciel diminuent sur cette période.

3.1.3. Comparaison de la luminosité du ciel selon 3 conditions environnementales

Les données ont été sélectionnées pour obtenir 3 conditions environnementales très contrastées. La première condition réunit toutes les valeurs de luminosité du ciel en absence totale de nuage et de lune. La seconde condition réunit les valeurs de luminosité du ciel avec plus de 90% de nébulosité et l'absence de la lune. Pour la dernière condition, 90% de nébulosité et la pleine lune, nous avons sélectionné 30 min de mesures (le 31-03-2018 entre 20h et 20h30).

Afin de quantifier les effets de la couverture nuageuse et de la lune, les valeurs de NSB (mag.arcsec^{-2}) sont approximativement converties en valeurs photométriques : Luminance ($\mu\text{cd.m}^{-2}$) $\approx 10,8 \times 10^{10} \times 10^{-0,4 \cdot \text{mag}/\text{arcsec}^2}$. La figure 19 représente les valeurs de luminance zénithale moyenne en fonction de la distance à Lyon dans les 3 conditions environnementales sélectionnées. Toutes les valeurs de luminance moyenne sont réunies dans le tableau 9 en annexe. Tous les sites sont soumis à de la pollution lumineuse. En absence de lune, aucun des sites n'atteint la valeur de référence d'un ciel étoilé de bonne qualité ($250 \mu\text{cd.m}^{-2}$). Nous observons une diminution de la pollution lumineuse en s'éloignant de Lyon. L'augmentation de la luminance sur la droite du graphique est probablement due à la ville de Bourg-en-Bresse (aire urbaine en 2016 : 127 049 habitants). Sur le site le plus sombre (44,4 km), la luminance zénithale moyenne est de $486 \mu\text{cd.m}^{-2}$, soit 1,9 fois plus de lumière qu'un ciel naturel. La luminance moyenne sur le site le plus proche de Lyon est de $1154 \mu\text{cd.m}^{-2}$, soit 4,6 fois plus de lumière qu'un ciel naturel.

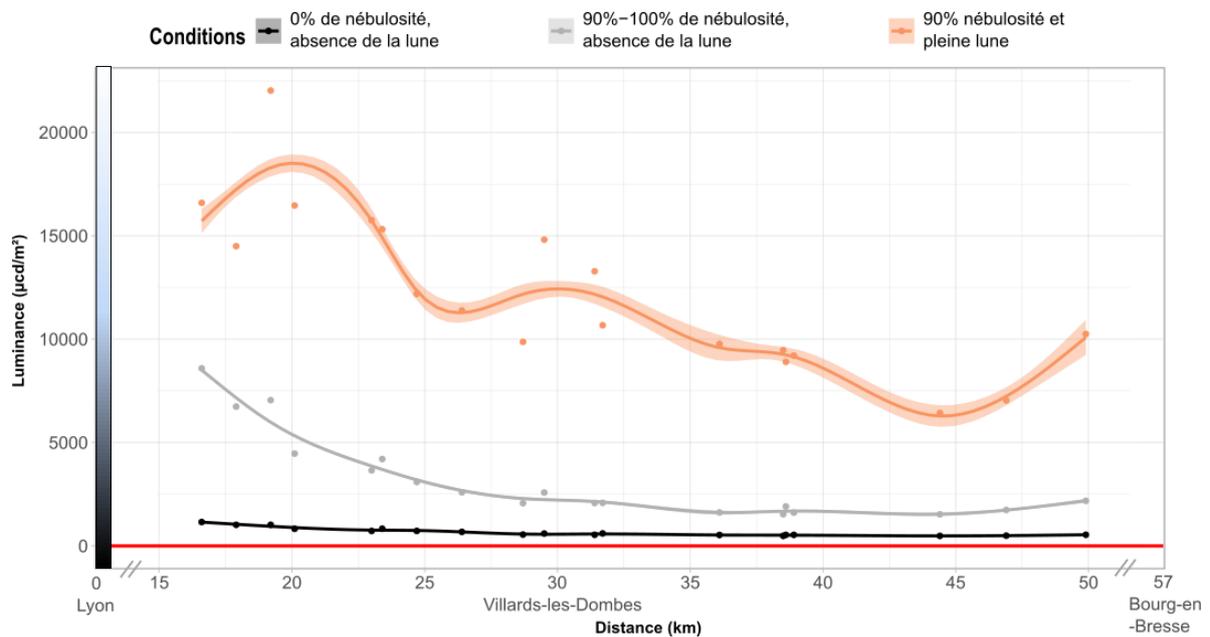


Figure 19 : Mesure de la luminance zénithale moyenne en fonction de la distance à Lyon.

La ligne rouge représente la valeur de référence ($250 \mu\text{cd.m}^{-2}$) d'un ciel sans lune par ciel dégagé. Les courbes sont issues d'un modèle additif généralisé (loi de distribution Gamma).

Lorsque que le ciel est couvert, tous les sites ont une valeur de luminance moyenne comprise entre $1526 \mu\text{cd.m}^{-2}$ et $8588 \mu\text{cd.m}^{-2}$. L'écart, entre la courbe par ciel clair et par ciel nuageux sans lune, est beaucoup plus important à proximité de la métropole lyonnaise. L'impact de la couverture est donc plus important à proximité de très grandes agglomérations. Cela est confirmé par les facteurs de réflexion de la lumière par les nuages (rapport ciel nuageux sur ciel clair). Il est d'un facteur 3,1 sur le

site le plus sombre et d'un facteur 7,4 sur le site le plus lumineux. Dans le cas d'une comparaison avec un ciel naturel étoilé, cela représente 6,1 à 34,4 fois plus de lumière en présence de nuage.

Les données en présence de lune et de nuages sont plus difficiles à analyser. Nous n'avons pas de valeur de référence, c'est-à-dire un site sans pollution lumineuse, avec des conditions météorologiques et lunaires comparables. Nous ne pouvons pas distinguer la lumière provenant de la lune de celle provenant de la pollution lumineuse. Cependant, une diminution de la luminance du ciel lorsque l'on s'éloigne de Lyon est observée. Cela laisse supposer que la lumière de la lune s'additionne à la lumière artificielle et que cette dernière n'est pas négligeable en terme de quantité.

3.2. Cartes de pollution lumineuse

Dans un premier temps, la carte de radiance a été produite grâce à un jeu de données composite de radiance de l'année 2019 (c'est-à-dire la moyenne annuelle des valeurs de mesures de radiance, Fig. 20). Nous pouvons observer une multitude de petites zones lumineuses qui « mouchètent » la Dombes ainsi que 2 zones très lumineuses au nord-est et au sud-ouest de la carte. Les petites zones

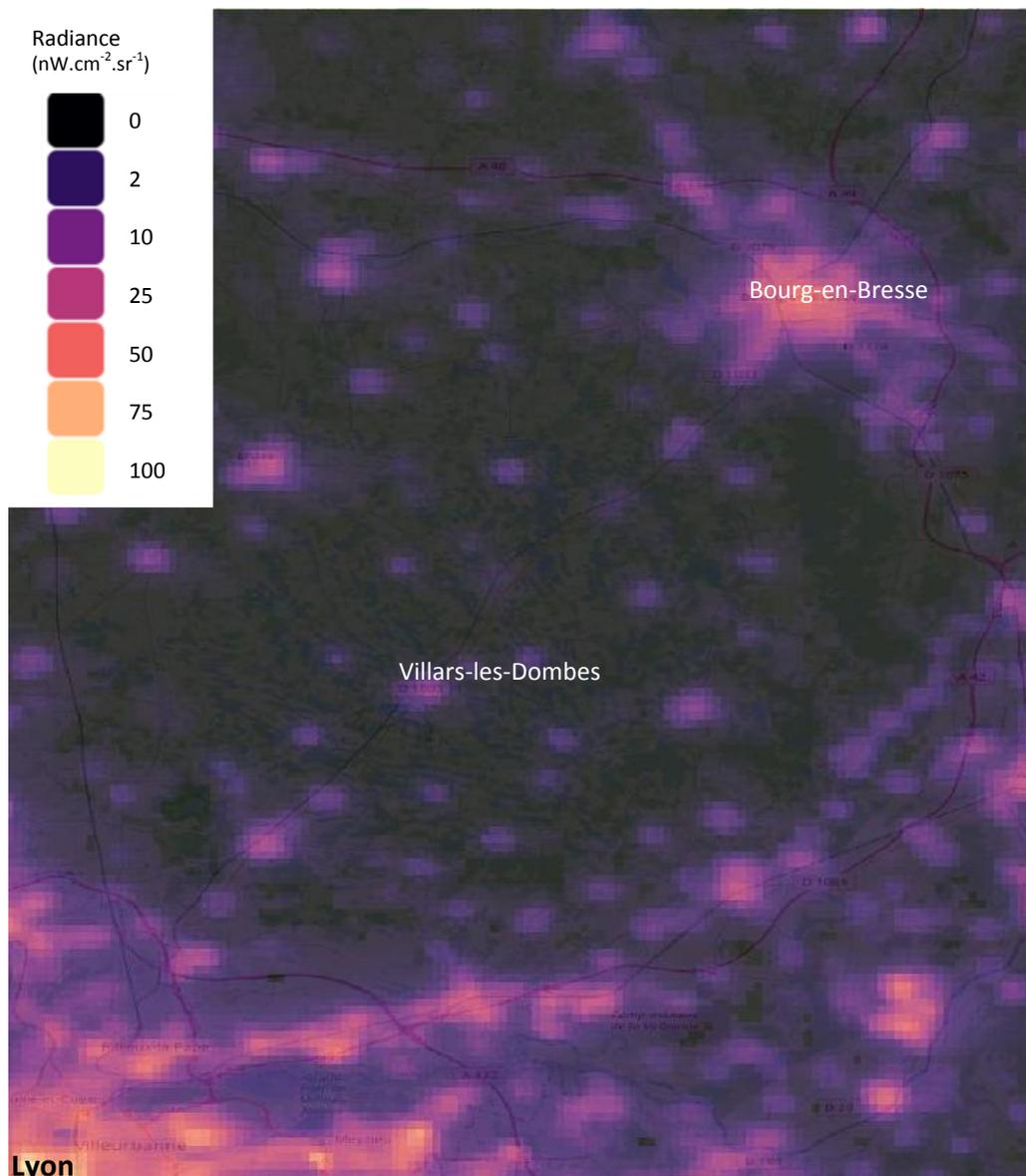


Figure 20 : carte de mesures de radiance par le capteur satellite VIIRS DNB (jeu de données composite de l'année 2019) produite par DarskyLab

colorées en violet sont des villages de taille variable. La zone colorée au nord correspond à la ville de Bourg-en-Bresse et les villages à proximité. Au sud-ouest de la carte, une grande partie de la zone colorée fait partie de la métropole lyonnaise. En dehors des communes et à une certaine distance des villes, le capteur VIIRS DNB ne détecte pas d'émission de lumière, ce qui pourrait laisser penser qu'une partie du territoire de la Dombes n'est pas ou peu soumis à la pollution lumineuse. Cependant cette carte montre uniquement la lumière émise vers le ciel.

Afin d'estimer la quantité de lumière réfléchiée vers le sol, des simulations de carte de pollution lumineuse à partir de ces données de radiance VIIRS DNB et des données issues des capteurs JasonDark ont été réalisées sur une large zone englobant le territoire de la Dombes à l'aide du logiciel Otus. Les résultats sont montrés ci-dessous (Fig. 21) avec une échelle de couleur qui représente les différents niveaux de pollution lumineuse au zénith en chaque point du territoire. La couleur grise foncée indique que les valeurs sont inférieures à 17 mag.arcsec⁻² (Fig. 21, à droite). Les pastilles de couleurs représentent les emplacements des capteurs JasonDark. La valeur entre crochets est la valeur du NSB caractéristique en mag.arcsec⁻² du site selon la condition de ciel définie ayant servi à la calibration de la carte. Les triangles noirs correspondent aux communes réalisant l'extinction de l'éclairage public à partir de 23h (heure locale).

L'ensemble du territoire de la Dombes est soumis à la pollution lumineuse quelle que soit les conditions météorologiques (Fig. 21). Par ciel clair sans lune, la valeur maximale de NSB est de 20,9 mag.arcsec⁻². Les zones rouges correspondent aux villes et villages. Même les plus petits villages (quelques centaines d'habitants) sont visibles. Nous observons que 3 villages (Ambérieux en Dombes : 1705 hab, Marlieux : 1163 hab, Sandrans : 530 hab) ne présentent pas de zone colorée en

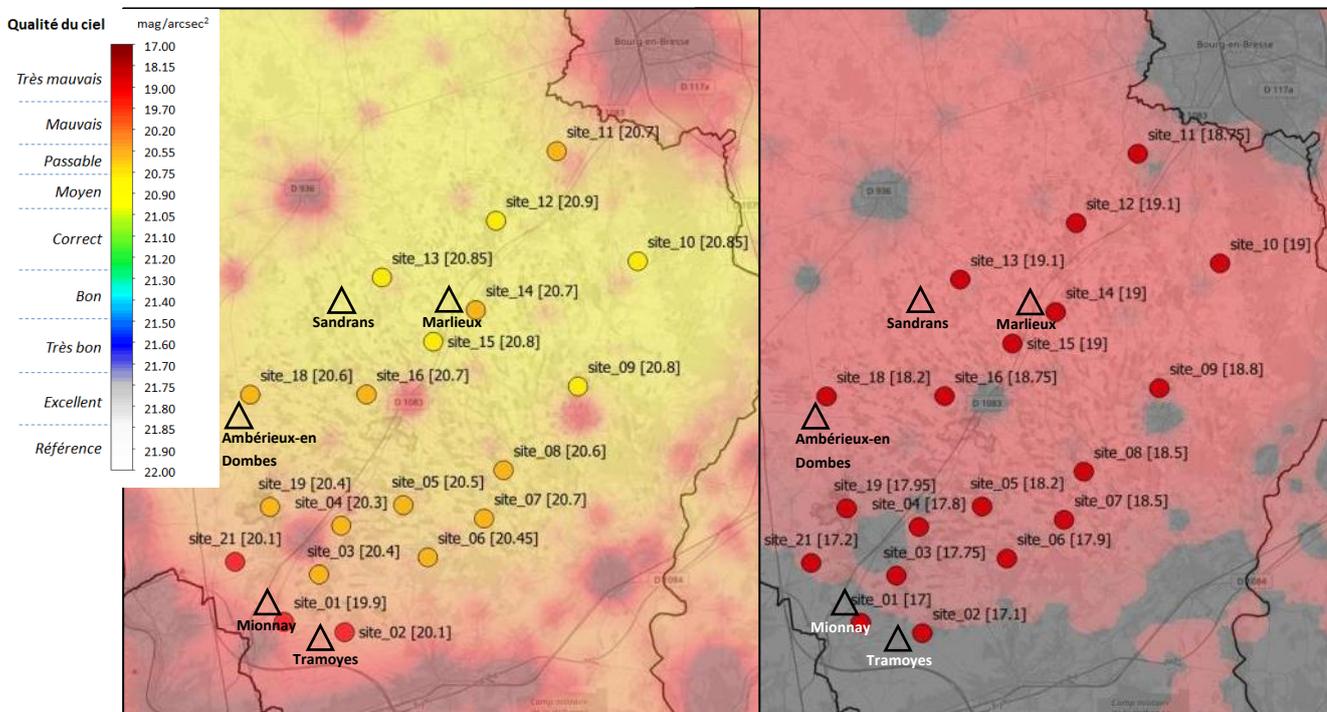


Figure 21 : Simulation OTUS de la pollution lumineuse avec les paramètres ajustés par les capteurs JasonDark avec un ciel clair (à gauche) et par ciel couvert (à droite).

Les pastilles de couleur représentent les sites de pose des capteurs. La valeur entre crochet est le NSB caractéristique du site dans la condition météorologique sélectionnée. La couleur grise indique une valeur de NSB inférieure à 17 mag/arcsec². Les triangles noirs correspondent aux communes réalisant l'extinction de l'éclairage public à partir de 23h (heure locale).

rouge. Cela est probablement dû aux passages des satellites lors des périodes d'extinction de l'éclairage public de ses communes.

Pour la simulation par ciel couvert, nous atteignons les limites de la simulation OTUS. La simulation ne calcule pas les valeurs de NSB inférieures à 17 mag.arcsec⁻² (zones grises). De plus, l'échelle de couleur est basée sur l'échelle de Bortle. C'est une échelle utilisée par les astronomes, fondée sur le nombre d'étoiles visibles dans le ciel. La carte avec cette échelle de couleur ne permet pas d'observer les différents niveaux de pollution lumineuse d'un point de vue « écologique » par ciel couvert (Fig. 21). A partir des données brutes issues des simulations OTUS, une nouvelle échelle de couleur est définie sur QGIS afin de mieux observer ces différences de luminosité (Fig. 22-23). Pour s'affranchir de cette échelle logarithmique, les valeurs de NSB en mag.arcsec⁻² ont été approximativement converties en luminance ($\mu\text{cd.m}^{-2}$).

A partir de la carte par ciel clair sans la lune, nous avons pu estimer que plus de 46% du territoire a un niveau de luminance au moins 2 fois plus important qu'un ciel naturel (Fig. 22). Nous prenons la valeur 18,9 mag.arcsec⁻² (3000 $\mu\text{cd.m}^{-2}$) comme la limite inférieure des cônes dans la vision humaine (Puschnig et al. 2014). À des luminances plus faibles, la vision nocturne dite « scotopique » est assurée uniquement par les bâtonnets, insensibles à la couleur. Si le NSB est inférieur à 18,9 mag.arcsec⁻², l'œil humain détecte encore certaines couleurs et ne « bascule » plus en vision scotopique. Ainsi, 4,2% de la Dombes à une valeur de NSB inférieur à 18,9 mag.arcsec⁻², soit au moins 12 fois plus lumineux qu'un ciel naturel.

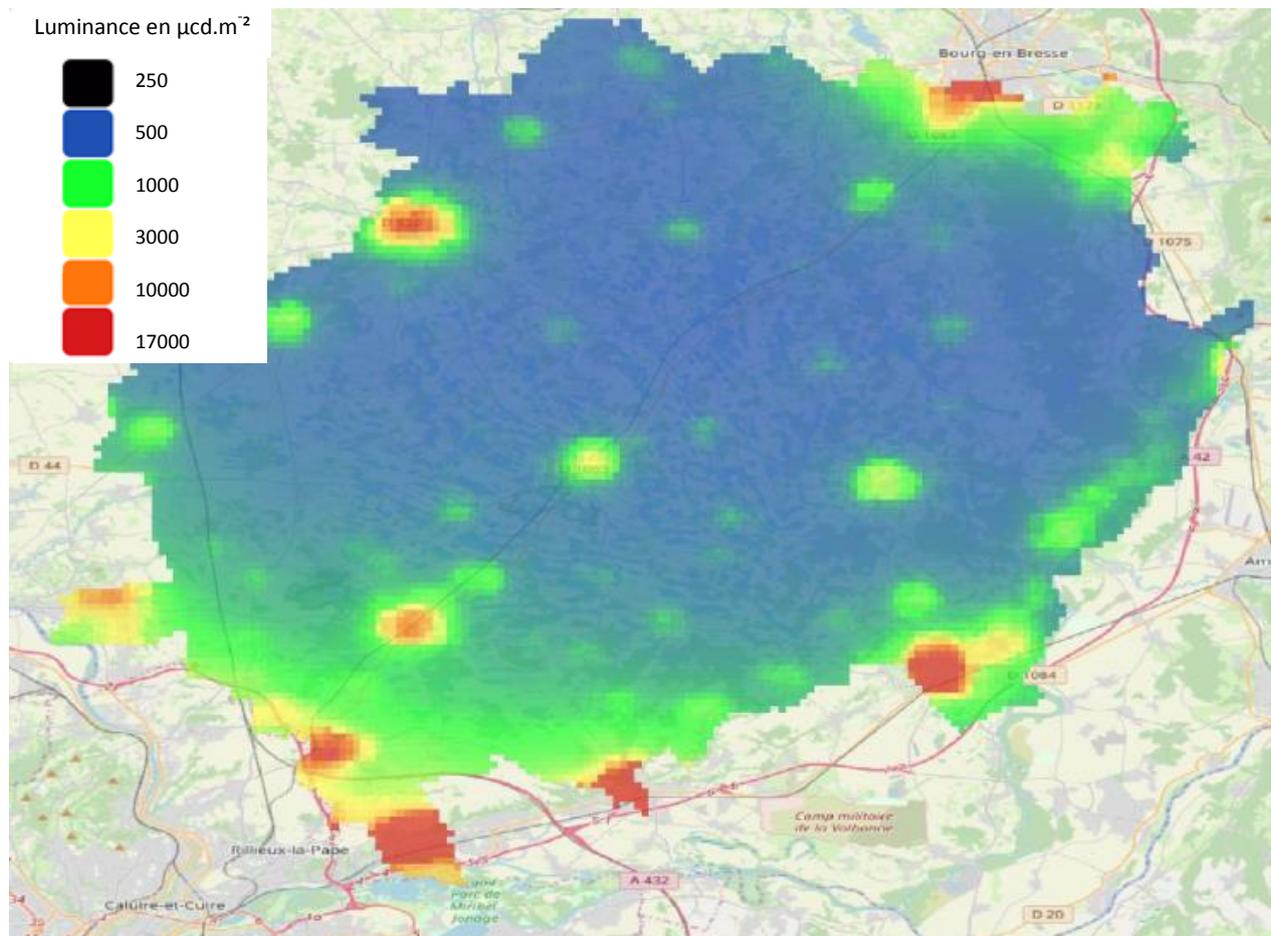


Figure 22 : Simulation de carte de la pollution lumineuse par ciel clair en luminance ($\mu\text{cd.m}^{-2}$) sur la Dombes

Par ciel couvert, 100 % du territoire à un niveau de luminance au moins 2 fois plus important qu'un ciel naturel (Fig. 23). Si nous nous référons à la limite de détection des couleurs de vision humaine, 73% de la zone a une valeur de luminance supérieure à 3000 $\mu\text{cd.m}^{-2}$.

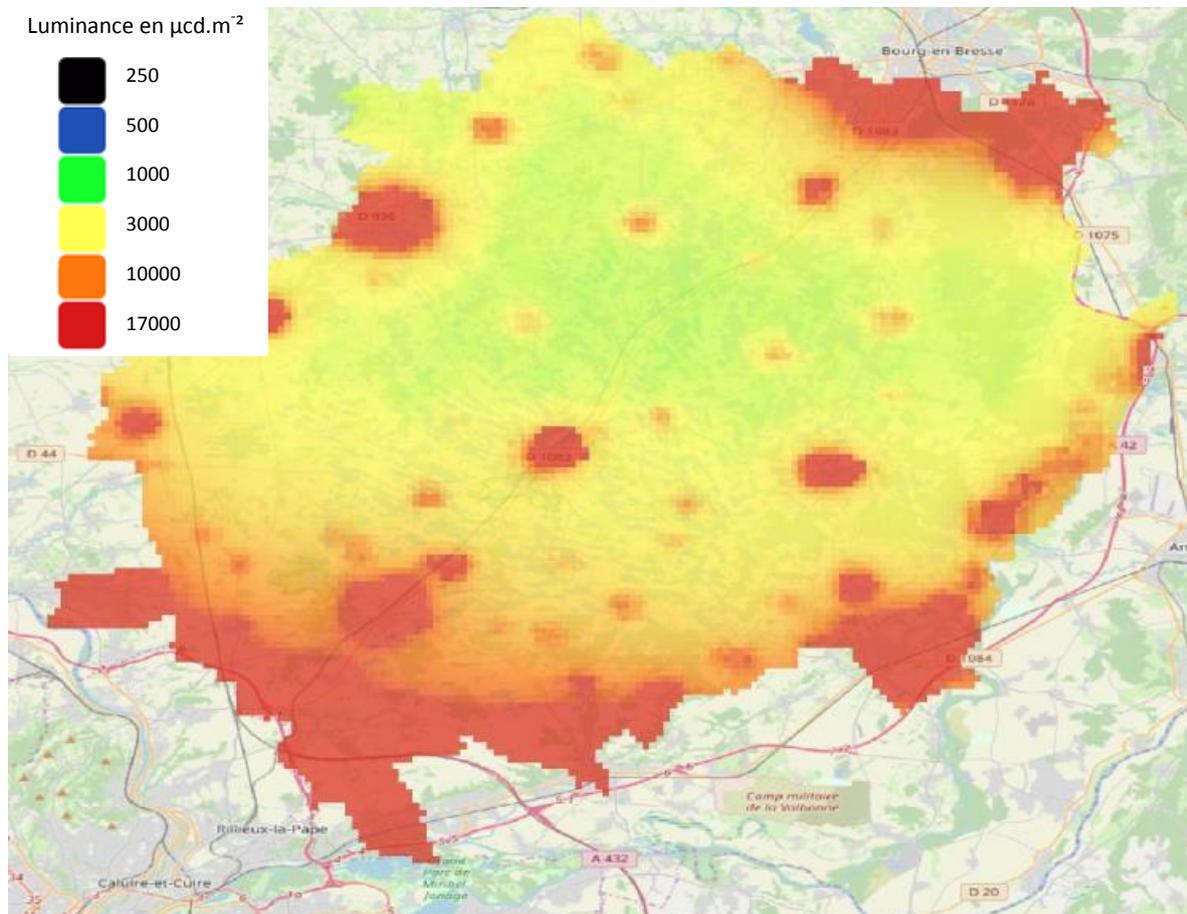


Figure 23 : Simulation de carte de la pollution lumineuse par ciel couvert en luminance ($\mu\text{cd.m}^{-2}$) sur la Dombes

4. Discussion

La pollution lumineuse écologique est définie comme étant une altération des patrons naturels de la lumière dans les écosystèmes terrestres et aquatiques. Actuellement, les instruments unidirectionnels, tels que les SQM, sont les plus adaptés pour surveiller les changements temporels de la luminosité du ciel (Hanel et al. 2018). Ces dernières années, plusieurs études ont été menées pour comprendre la variation de la lumière zénithale liée à la lune ou à une couverture nuageuse (Kyba et al. 2011, Puschnig et al. 2014, Kyba et al. 2015, Jechow et al. 2016, Ribas et al. 2016). Ces études sont essentielles à la compréhension de ces phénomènes. Cependant, la plupart de ces études sont réalisées sur 1 ou 2 sites (urbains ou ruraux). Peu d'études ont été menées sur un large territoire. Quelques études viennent de paraître en Europe avec 7 à 26 sites de mesures (Bará 2016, Posch et al. 2018, Bertolo et al. 2019, Puschnig et al. 2020). Notre étude est une des premières menées à une large échelle sur une zone humide d'importance écologique majeure.

Nos résultats montrent que l'ensemble du territoire de la Dombes est soumis au halo lumineux de la métropole lyonnaise ou de Bourg-en-Bresse. Quelles que soient les conditions atmosphériques, les

valeurs de luminance zénithale dépassent la valeur de référence d'un ciel étoilé. Les données issues des capteurs Jasondark montrent qu'en présence de nuage et en absence de la lune, la quantité de lumière renvoyée au sol augmente très fortement. Nous observons de 6,1 à 34,4 fois plus de lumière lorsque le ciel est totalement couvert. L'impact de la couverture nuageuse de notre étude est comparable à celle menée près de Berlin (Kyba et al. 2011). Le facteur de réflexion de la couverture nuageuse (ciel couvert/ciel clair) est de 10,6 à 10 km de centre-ville de Berlin et de 2,8 à 32 km. Le facteur de réflexion de la couverture nuageuse est de 7,4 à 16,6 km de centre-ville de Lyon et de 3,5 à 31,7 km. L'importance de réflexion de la lumière dépend également de la hauteur de la couche nuageuse (Ribas et al. 2016).

Ainsi, la couverture nuageuse altère d'autant plus les patrons de variations de luminosité du ciel liés au cycle lunaire. Bien que la durée de mesure (29 jours) de notre étude soit trop courte pour évaluer correctement ces altérations, nous avons pu observer un lien entre le NSB et le cycle lunaire sur les sites les moins touchés par la pollution lumineuse. A l'inverse, sur les sites proches de la métropole lyonnaise, plusieurs nuits très nuageuses atteignent des valeurs de NSB équivalentes à des valeurs de NSB en présence de lune par ciel clair. Le cycle lunaire est toujours détectable mais l'amplitude de variation de sa lumière est fortement réduite. En milieu urbain, Posch et coll. (2018) ont montré que la luminosité du ciel apparaît presque stochastique, car la principale « force motrice » de la luminosité du ciel est la nébulosité, qui ne suit aucune périodicité stricte. Une partie de la Dombes est probablement dans ce cas de figure sur la bordure sud-ouest de la Dombes, dans les centres-villes et aux abords des villages. A partir d'un certain niveau de population, il se peut que la fréquence régionale des nuits couvertes soit plus importante que la densité de population pour déterminer la menace que font peser la pollution lumineuse sur les écosystèmes (Kyba et al. 2011). Afin d'évaluer de manière correcte les altérations des cycles naturels de la luminosité nocturne, des mesures en continu pendant au moins un an, voire plusieurs années seraient nécessaires. Toutes ces altérations du cycle naturel de luminosité nocturne pourraient avoir de nombreux effets sur les organismes non seulement à un niveau individuel mais également au niveau des populations (Longcore and Rich 2004, Gaston et al. 2014). En effet, les cycles lunaires sont particulièrement importants sur un large éventail de synchronisations biologiques, y compris la recherche de nourriture, la reproduction et la migration (Gaston et al. 2017). De surcroît, de nombreuses activités ou rythmes physiologiques, aussi bien quotidiens que saisonniers, dépendent de l'alternance jour-nuit. Si l'obscurité nocturne n'est plus assez prononcée, ces rythmes sont désynchronisés (Robert et al. 2015).

Une des limites des mesures par des capteurs unidirectionnels orientés au zénith est qu'il n'y a pratiquement pas d'organismes qui perçoivent uniquement la luminosité zénithale. Par conséquent pour les effets écologiques, d'après Jechow et coll. (2017), la quantité de lumière évaluée par les SQM (ou appareils similaires) est sous-estimée par un facteur de 2 à 2,5 par rapport à la luminosité de l'ensemble du ciel, dans le cas du ciel clair. Cependant, il n'est pas simple de convertir une valeur zénithale en éclairage horizontal ou selon un angle défini par rapport à l'horizon. Certains auteurs ont développé des approximations afin de convertir les mesures de luminance zénithale en niveaux d'éclairage lumineux horizontal (Kocifaj et al. 2015). Or, ces approximations sont calculées pour des conditions atmosphériques particulières et ne tiennent pas compte de la topographie. De plus, elles donnent un « ordre de grandeur » de l'éclairage lumineux horizontal. Actuellement, le NSB est le meilleur proxy de pollution lumineuse écologique pour des études à grandes échelles.

Les cartes de radiance par satellites peuvent permettre aux écologistes d'étudier comment les différents niveaux de pollution lumineuse modifient la répartition spatiale des organismes (exemple : distribution des espèces tolérantes ou intolérantes à la lumière, connectivité des habitats, phénomène de barrière à la dispersion, interactions avec d'autres facteurs de stress anthropiques...). Colman et coll. (2020) ont utilisé les cartes de radiance des satellites DMSP afin d'évaluer dans quelle mesure les zones de nidification de quatre espèces de tortues marines sont exposées à la lumière artificielle nocturne sur 604 km de côtes brésiliennes. Les niveaux de lumière et la densité de nidification avaient des relations variables entre les espèces. La tortue olivâtre (*Lepidochelys olivacea*) et la tortue luth (*Dermodochelys coriacea*) ont leurs principales colonies dans des zones sombres et protégées. Bien que les résultats ne révèlent pas d'effet de la lumière sur le choix du site de nidification des tortues caouannes du nord (*Caretta caretta*) et des tortues imbriquées (*Eretmodochelys imbricata*), la désorientation par la lumière artificielle des tortues à l'éclosion est bien connue et constitue une menace pour la survie des nouveaux nés (Witherington and Martin 2000, Thums et al. 2016). Les cartes de radiance commencent également à être utilisées pour évaluer les niveaux de pollution lumineuse et leur évolution dans les réserves naturelles ou des écosystèmes spécifiques (Davies et al. 2014, Bennie et al. 2015, Zhao et al. 2018). Par exemple, malgré une interdiction d'utilisation de l'éclairage artificiel le long des côtes du Brésil, plus de 60% des plages de nidification des tortues ont connu une augmentation de la pollution lumineuse entre 1992-1996 et 2008-2012 (Colman et al. 2020). Autre exemple, Davies et coll. (2016) ont évalué la lumière artificielle nocturne à travers le réseau mondial d'aires marines protégées grâce aux données de radiance des satellites DMSP. En 2012, d'après les auteurs, 35% des aires marines protégées sont soumis à de la pollution lumineuse par ciel clair. Cependant, ce pourcentage d'aires marines protégées soumis à la pollution lumineuse est sous-estimé. En effet, sur notre carte de radiance, certaines zones avaient une valeur nulle de radiance. En revanche, après avoir réalisé la carte de pollution lumineuse calibrée par les données au sol, nous avons observé que l'ensemble de la zone d'étude était soumise à la pollution lumineuse. Il serait donc intéressant de réévaluer ce pourcentage en utilisant des simulations de cartes de pollution lumineuse.

Bien que ces cartes de radiance présentent une grande utilité (en raison de leur disponibilité et leur large dimension spatiale) pour étudier les effets de la lumière artificielle sur les organismes, les effets des plus faibles intensités lumineuses nocturnes ne sont pas pris en compte. Les données de radiance indiquent uniquement la lumière émise vers le ciel et non celle reçue, naturelle ou artificielle, au niveau du sol. En outre, le passage des satellites sur la France est à 4h du matin. Or, certaines communes ont éteint leur éclairage à cette heure-ci. Une diminution progressive de lumière au cours de la nuit est également observée (Kyba et al. 2015), ce qui entraîne une sous-estimation de la pollution lumineuse en début de nuit. De surcroît, les cartes de radiance par satellites sont réalisées uniquement dans le cas de nuits claires. Notre analyse indique donc qu'il est très important que les cartes de pollution lumineuse basées sur ces résultats tiennent compte du rôle potentiel des conditions météorologiques. Cela signifie qu'un site qui semble exempt de pollution lumineuse dans des conditions de ciel clair, n'est pas nécessairement exempt de pollution lumineuse écologique en présence de nuages. Dans l'exemple de notre étude, le ciel est 12 fois plus lumineux qu'un ciel naturel sur 4,2% de la zone d'étude par ciel clair. Lorsque le ciel est couvert, cette proportion augmente de manière impressionnante jusqu'à 73%.

Il est donc préférable d'utiliser les cartes de pollution lumineuse mises à la disposition du public plutôt que les cartes de radiance ou de réaliser des cartes de pollution lumineuse calibrées de la zone d'étude grâce à des mesures de lumière *in situ*. Les mesures de NSB avec des capteurs unidirectionnels dans différentes conditions météorologiques couplées à des simulations de carte de pollution lumineuse pourraient être un outil majeur pour les chercheurs, les gestionnaires de réserve naturelle ou de réserve internationale de ciel étoilé afin d'évaluer le niveau d'exposition d'un territoire à la lumière artificielle nocturne quelques soient les conditions météorologiques.

Partie II : Analyse de l'effet de la pollution lumineuse sur la synthèse de la mélatonine chez des têtards d'amphibiens

1. Introduction

De nombreuses publications ont démontré une altération de la production de mélatonine dans de nombreux taxons soumis à de la pollution lumineuse (Brainard et al. 1982, Bayarri et al. 2002, Dominoni et al. 2013b, Bruning et al. 2015, Robert et al. 2015, de Jong et al. 2016, Le Tallec et al. 2016, Desouhant et al. 2019, Grubisic et al. 2019, Jiang et al. 2020). Par exemple, deux études récentes, chez les oiseaux, ont mis en évidence qu'une lumière nocturne d'une intensité comparable à celle trouvée en milieu naturel ou urbain peut supprimer les rythmes de la mélatonine. La première étude a montré qu'une exposition à une intensité lumineuse de 0,3 lux est capable de réduire les concentrations de mélatonine, surtout en début et fin de nuit, chez le merle noir, *Turdus merila* (Dominoni et al. 2013b). La deuxième, sur la mésange charbonnière (*Parus major*), a révélé que plus l'intensité lumineuse était forte pendant la nuit, plus les taux plasmatiques de mélatonine diminuent (de Jong et al. 2016). Des résultats similaires ont été trouvés chez des poissons, où l'exposition à 2 lux de lumière seulement pendant 1 h au milieu de la nuit est capable de diminuer les niveaux de mélatonine dans le sérum (Bayarri et al. 2002). Afin de comprendre comment la lumière régule la production de la mélatonine, nous détaillons dans les paragraphes suivants, le processus de synthèse de cette molécule.

1.1. La mélatonine : synthèse et régulation

1.1.1. Détection de la lumière : les photorécepteurs

Les animaux perçoivent la lumière par des cellules sensibles à la lumière, les photorécepteurs. Ces cellules sensibles à la lumière sont localisées dans différents organes. Chez les mammifères, les photorécepteurs sont concentrés dans la rétine, tandis que les autres vertébrés possèdent également des photorécepteurs extrarétiniens divers : l'organe parapinéal, des photorécepteurs dans la glande pinéale et le cerveau (Menaker et al. 1997). Dans les yeux, la rétine est l'emplacement des photorécepteurs le plus connu et son organisation générale est conservée dans toutes les classes de vertébrés. En plus des bâtonnets et des cônes nécessaires à la formation d'image, un sous-ensemble de cellules ganglionnaires rétiniennes photosensibles, les ipRGC (Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells) contenant de la mélanopsine, assure la synchronisation des rythmes circadiens (Berson et al. 2002).

Les différentes classes de photorécepteurs extrarétiniens, telles que les photorécepteurs pinéaux (trouvés dans presque tous les vertébrés) et les photorécepteurs dans le cerveau (trouvés chez tous les vertébrés non mammifères) peuvent avoir des rôles spécialisés dans la synchronisation circadienne et les réponses photopériodiques (Foster and Soni 1998, Doyle and Menaker 2007, Pérez et al. 2019). L'organe parapinéal des ectothermes est spécialisé dans la perception de la lumière ultraviolette et/ou polarisée. Cet organe est intracrânien chez les poissons et extracrânien, appelé «organe frontal» chez les amphibiens et «œil ou corps pariétal» chez certains lézards (Fig. 24). La glande pinéale des ectothermes fonctionne directement comme un détecteur de lumière. Elle est

située sous le crâne, près de la surface du cerveau (Falcón et al. 2009). Chez les poissons, environ 10% de la lumière atteint la glande pinéale. Chez les amphibiens, les reptiles et les oiseaux, une quantité moindre de lumière peut pénétrer dans les tissus, soit 0,1 à 0,3% de la lumière (Dodt and Meissl 1982). Beaucoup plus de lumière atteint les organes parapinéaux extracrâniens (50% chez les amphibiens et 20% chez les reptiles). Même chez les oiseaux et les mammifères, des quantités mesurables de lumière pénètrent le crâne jusqu'à l'hypothalamus (Ganong et al. 1963, Hartwig and Van Veen 1979). Ainsi, l'intensité lumineuse d'une pleine lune est suffisante pour stimuler le photorécepteur du cerveau chez le moineau domestique, *Passer domesticus* (Dodt 1973).

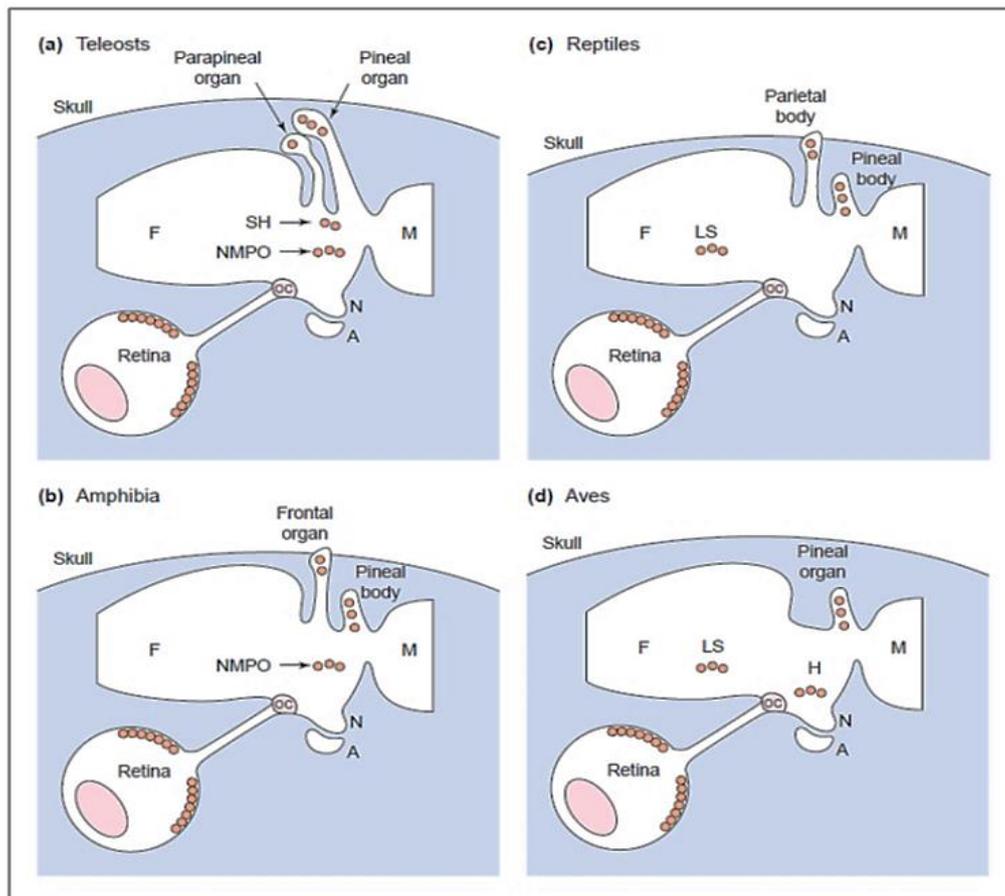


Figure 24 : les photorécepteurs chez les vertébrés (Source : Foster and Soni 1998)
 Schematic diagrams illustrating the differences and some of the proposed sites of encephalic photoreception in vertebrates. (a) Teleost fishes; (b) Amphibia (note the extracranial frontal organ); (c) lacertid reptiles (note the extracranial parietal organ); and (d) birds. Those areas of the brain thought to contain photoreceptors (opsin immunopositive) are indicated by orange circles. Drawings are not to scale. A, adenohypophysis; F, forebrain; H, hypothalamus; LS, lateral septum; M, mid-brain; NMPO, nucleus magnocellularis preopticus; N, neurohypophysis; OC, optic chiasm; SH, subhabenular

1.1.2. Synthèse de la mélatonine

Après la détection du signal lumineux par les photorécepteurs, celui-ci est transmis aux organes produisant la mélatonine. Pendant un certain nombre d'années, après sa découverte (*N*-acétyl-5-méthoxytryptamine) par Lerner et coll. en 1958, la mélatonine a été considérée comme produite exclusivement dans la glande pinéale liée au contrôle des rythmes circadiens et circannuels, y

compris saisonniers tel que la reproduction. Suite à l'identification du processus de synthèse dans la glande pinéale, la présence d'enzymes liées à sa synthèse a ensuite été découverte dans la rétine et le cervelet (Cardinali and Rosner 1971, Bubenik et al. 1974). La présence de la mélatonine a également été identifiée dans de nombreux tissus et organes périphériques. Elle est produite dans le cerveau, la rétine, la glande de Harder, l'épithélium des voies respiratoires, la peau, le tractus gastro-intestinal, le foie, le rein, la thyroïde, le pancréas, le thymus, la rate, les cellules du système immunitaire, l'appareil reproducteur et les cellules endothéliales (Hardeland 2009, Acuña-Castroviejo et al. 2014). La mélatonine est sécrétée dans le sang principalement par la glande pinéale chez les vertébrés. Les autres tissus n'excrètent pas ou peu la mélatonine dans le sang (Reiter et al. 2010).

À partir du tryptophane, la synthèse de la mélatonine comprend quatre étapes enzymatiques quel que soit l'organisme animal ou le type cellulaire (Hardeland 2008, Back et al. 2016). Chez les vertébrés, le tryptophane est d'abord converti en sérotonine grâce à 2 enzymes. Le tryptophane est d'abord hydroxylé par la tryptophane hydroxylase pour former le 5-hydroxytryptophane. Puis le 5-hydroxytryptophane est décarboxylé par la décarboxylase d'acides aminés aromatiques pour former la sérotonine (Tan et al. 2016). Ensuite, 2 autres étapes enzymatiques catalysent la sérotonine pour former le produit final, la mélatonine (Fig. 25). Cela implique l'arylalkylamine-*N*-acétyltransférase (AANAT) et la *N*-acétylsérotonine-*O*-méthyltransférase (ASMT), anciennement connue sous le nom d'hydroxyindole-*O*-méthyltransférase ou HIOMT (Reiter et al. 2010). L'enzyme AANAT, joue un rôle clé dans la conversion de la sérotonine en *N*-acétylsérotonine tandis que la dernière enzyme, l'ASMT, catalyse la *N*-acétylsérotonine pour produire de la mélatonine.

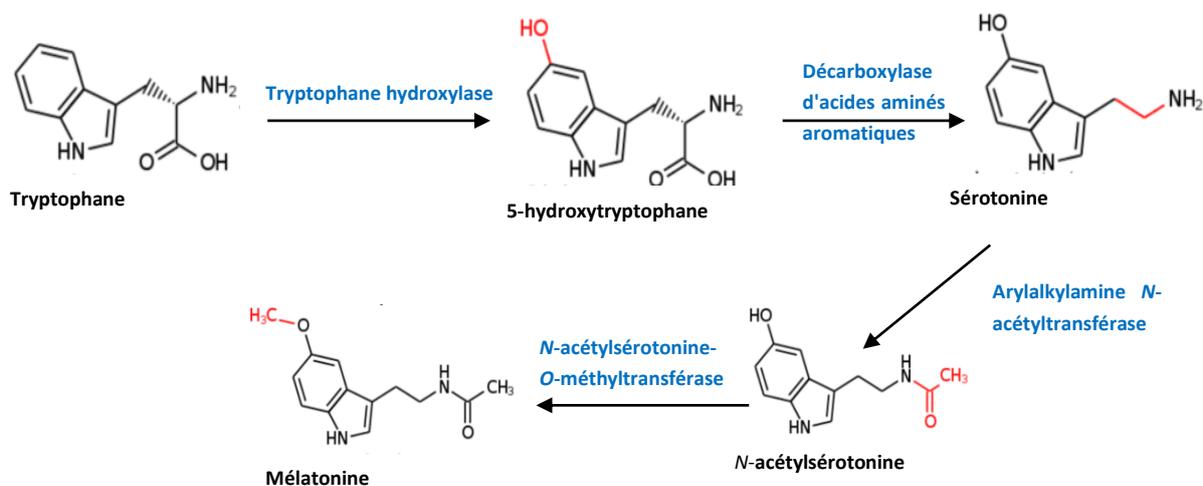


Figure 25 : Schéma de synthèse de la mélatonine chez les vertébrés

Comme indiqué ci-dessus, la biosynthèse de la mélatonine est étroitement associée à quatre enzymes successives conduisant à la production de ce composé. On pense généralement que l'AANAT est l'enzyme limitant la vitesse de synthèse de la mélatonine pinéale chez les vertébrés, bien que l'ASMT puisse limiter ce niveau autour d'un maximum de mélatonine nocturne (Liu and Borjigin 2005). Pour les animaux, l'activité de l'AANAT et la production de mélatonine présentent généralement une bonne relation positive (Klein et al. 1997). La régulation de l'AANAT dans la glande pinéale dépend des taxons animaux examinés. L'AANAT est active uniquement la nuit. L'alternance jour/nuit régule donc fortement son activité. Soit la lumière empêche la synthèse de l'AANAT,

comme chez les rongeurs, soit elle est synthétisée de manière constitutive mais détruite la journée en absence de protection chez les primates et les ongulés (Schomerus and Korf 2005). D'après Pozdeyev et coll. (2006), dans la rétine du poulet, la liaison d'une protéine chaperonne à l'AANAT est régulée par la lumière. Pendant la nuit dans l'obscurité, l'AANAT est phosphorylée et forme un complexe avec des protéines 14-3-3. La phosphorylation d'AANAT facilite la liaison de l'enzyme aux protéines 14-3-3. Au sein de ce complexe, l'AANAT est activée et protégée de la déphosphorylation et de la dégradation. La lumière perturbe le complexe AANAT/14-3-3, entraînant une inactivation, une déphosphorylation et une dégradation protéolytique de l'enzyme.

L'ASMT a longtemps été considérée comme une enzyme constitutive ou ayant de faible taux de variation journalier. Cependant, plusieurs d'études montrent qu'elle présente également un pic de synthèse au cours de la nuit chez le rat, *Ratus sp.* (Ribelayga et al. 1999) ou chez le poisson rouge, *Carassius auratus* (Velarde et al. 2010). La synthèse de mélatonine est donc dépendante de la quantité de ces 2 enzymes au cours du temps.

1.1.3. Les récepteurs de la mélatonine

Chez les vertébrés, l'action de la mélatonine est régulée par l'intermédiaire des récepteurs membranaires. Trois sous-types de récepteurs sont couplés à la protéine G : Mel1a (alias MT1, MTNR1A), Mel1b (alias MT2, MTNR1B) et Mel1c (alias MTNR1C). Les sous-types de récepteurs Mel1a et Mel1b, sont présents chez de tous les vertébrés, alors que le récepteur de sous-type Mel1c, qui fait partie de la famille des quinones réductases 2, n'a été identifié que chez les poissons, les amphibiens et les oiseaux (Li et al. 2013). Les récepteurs Mel1a sont exprimés dans de très nombreux tissus : le cerveau, le système cardiovasculaire, le système immunitaire, le système reproducteur, la peau, le foie, les reins, le cortex surrénalien, la rétine, le pancréas et la rate (Dubocovich and Markowska 2005, Fischer et al. 2008, Pandi-Perumal et al. 2008, Slominski et al. 2008). Le récepteur Mel1b a été trouvé dans le système immunitaire, le cerveau (plus particulièrement dans l'hypothalamus et le noyau suprachiasmatique ou NSC), la rétine, l'hypophyse, les vaisseaux sanguins, les testicules, les reins, le tractus gastro-intestinal, les glandes mammaires, le tissu adipeux et la peau (Reppert et al. 1995, Dubocovich and Markowska 2005, Slominski et al. 2005). Mel1c a moins été étudié. Cependant, quelques études ont localisé ce récepteur dans la rétine, le cerveau, les cellules photoréceptrices, chez les amphibiens, les poissons et les oiseaux (Wiechmann 2003, Park et al. 2007, Confente et al. 2010, Jones et al. 2012). Il a également été trouvé dans les muscles et la peau chez la sole sénégalaise, *Solea senegalensis* (Confente et al. 2010). Chez le diamant mandarin, *Taeniopygia guttata*, des ARNm du récepteur Mel1c étaient également présents en moindre quantité dans les tissus périphériques tels que le cœur, le rein, les poumons et le foie (Jones et al. 2012). La distribution de ces récepteurs confirme le rôle de la mélatonine dans l'orchestration des réponses physiologiques et des rythmes dans le système nerveux central et ses tissus périphériques. Le tableau 2 résume l'expression des différents récepteurs de la mélatonine dans les tissus périphériques et les principaux effets physiologiques de chacun, d'après Slominski et coll. (2012).

Tableau 2 : Distribution tissulaire des récepteurs de la mélatonine chez les vertébrés et rôle de la mélatonine

Tissus	Récepteurs de la mélatonine exprimés	Rôle de la mélatonine
NSC	Mel1b	Régule le rythme circadien
Rétine	Mel1b	Diminue la libération de dopamine
Système vasculaire	Mel1a, Mel1b	Mel1a: vasoconstricteur Mel1b: vasodilatateur
Système immunitaire	Mel1a, Mel1b	Favorise la prolifération des cellules immunitaires Stimule la production d'IL2 et d'IL6
Système reproducteur	Mel1a, Mel1b	Diminue la libération de GnRH, LH, FSH
Pancréas	Mel1a, Mel1b	Diminue la libération d'insuline
Peau	Mel1a, Mel1b	Régule la croissance des cheveux et les fonctions de l'épiderme
Tractus gastro-intestinal	Mel1a, Mel1b	Diminue la contraction gastrique, le péristaltisme et les actions de la sérotonine Augmente la libération de bicarbonate, d'amylase et de CCK
Os	Mel1a	Augmente l'activité ostéoblastique et diminue l'activité ostéoclastique
Reins	Mel1a, Mel1b	Protège de l'inflammation, régule la filtration glomérulaire

Ces dernières années, les processus qui modulent la concentration des récepteurs membranaires de la mélatonine ont été examinés dans plusieurs régions du cerveau, en particulier dans le NSC et le lobe tubéral (Vanecek 1998, Venegas et al. 2013). Il a été observé que l'expression de ces récepteurs varie selon l'espèce, l'emplacement, le cycle lumière/obscurité, l'heure de la journée, le stade de développement neuronal et l'état endocrinien (Vanecek 1998, Witt-Enderby et al. 2003, Jones et al. 2012). Les rats montrent des changements quotidiens significatifs dans la densité des récepteurs membranaires de la mélatonine dans le NSC, et que ces changements seraient contrôlés par la photopériode (Gauer et al. 1994). Dans le foie de rat, les concentrations des récepteurs Mel1a et Mel1b présentent des rythmes circadiens avec un pic en fin de nuit (Venegas et al. 2013). Chez un poisson (*Siganus guttatus*), les taux d'ARNm de Mel1c dans la rétine, la glande pinéale et le cerveau varient quotidiennement et augmente pendant la nuit (Park et al. 2007). Des rythmes significatifs du récepteur Mel1b ont été trouvés dans le cerveau, la glande pinéale et la rétine du diamant mandarin tandis que Mel1c ne semble pas être exprimé de façon rythmique dans les tissus cérébraux (Jones et al. 2012). Les ARNm des récepteurs Mel1a, Mel1b et Mel1c, présents également dans des tissus périphériques, montrent des profils d'expression spécifiques aux tissus (cœur, foie, rein, poumons).

1.2. Méthode de dosage de la mélatonine et des récepteurs

Les premiers dosages de la mélatonine, au milieu des années 1970, étaient réalisés par dosage radio-immunologique (radioimmunoassay ou RIA). Aujourd'hui, cette technique est toujours utilisée mais nécessite de l'équipement spécifique ainsi que des habilitations en raison de l'utilisation de la

radioactivité. Par la suite des méthodes de dosage par chromatographie en phase liquide à haute performance ont été développées, fin des années 1980. Cependant, cette méthode est plus adéquate pour la mélatonine seule, et non pour les mélanges de plusieurs indoles, tels que la sérotonine et la tryptamine entre autres qui peuvent provoquer des perturbations dans le dosage (De Almeida et al. 2011). De plus, cette technique nécessite de grande quantité de tissus. Ces dernières années, plusieurs kits de dosages immuno-enzymatiques (ELISA) ont été mis au point, en particulier pour l'humain. La sensibilité de ces différents dosages varie entre quelques pg/ml à quelques ng/ml de plasma. Compte tenu des faibles niveaux de mélatonine dans les échantillons biologiques (de l'ordre de quelques pg à quelques centaines de pg par ml dans le plasma ou par g de tissus), le problème majeur des mesures de mélatonine est son extraction (De Almeida et al. 2011). De plus, pour éviter la dégradation de la mélatonine, les échantillons biologiques doivent être protégés de la lumière. Actuellement, les méthodes les plus couramment utilisées pour la détermination de la mélatonine dans le sang sont les techniques de RIA et les ELISA. Plusieurs kits commerciaux sont maintenant disponibles pour ces tests. Ils sont pratiques à utiliser, en particulier les tests à base d'enzymes, mais la possibilité de réactions croisées, et des effets non spécifiques doivent être pris en compte.

Il est également possible de doser les enzymes de la synthèse de la mélatonine, AANAT et ASMT, mais ces dosages sont peu utilisés en dehors des études qui s'intéressent aux mécanismes de synthèse de la mélatonine. Certaines études utilisent le western blot, ou l'immunohistochimie pour quantifier ou localiser l'AANAT dans les tissus. Le dosage de l'activité de ses 2 enzymes est également possible mais nécessite d'utiliser la radioactivité.

En ce qui concerne les récepteurs de la mélatonine, le développement de l'analogue radioactif de la mélatonine, 2- [¹²⁵I] iodomélatonine, a permis la caractérisation et la localisation des sites de liaison de la mélatonine chez plusieurs espèces de vertébrés par autoradiographie (Isorna et al. 2004). Cependant cette technique ne permet pas de distinguer les différents sous-types de récepteurs de la mélatonine. Ces récepteurs peuvent être dosés de manière plus spécifique par western blot, immunohistochimie ou par ELISA. Cependant, ces techniques nécessitent d'avoir des anticorps spécifiques à l'espèce étudiée et à chaque récepteur. Or, ces techniques ont été principalement développées chez les mammifères. A partir des années 1990, les différents récepteurs de la mélatonine sont identifiés et semi-quantifiés grâce à l'hybridation *in situ* avec des sondes ARNc ou par Northern blot.

Avec l'essor de la biologie moléculaire, il est possible de quantifier de manière précise l'expression des gènes des enzymes, AANAT et ASMT, ainsi que des différents récepteurs de la mélatonine par PCR quantitative (qPCR). En outre, cette technique, peu coûteuse en matériel biologique, permet de réaliser le dosage de plusieurs gènes avec le même échantillon biologique. Cela est particulièrement utile lorsque nous travaillons sur des espèces protégées qui sont soumis aux lois éthiques et législatives très restrictives.

1.3. Problématique

Dans une récente synthèse, Grubisic et coll. (2019) font un résumé de la littérature existante sur les effets de la pollution lumineuse sur la production de mélatonine par classe de vertébrés. La sécrétion de mélatonine est supprimée par des intensités lumineuses extrêmement faibles chez de nombreux vertébrés, allant de 0,01 à 0,03 lx pour les poissons et les rongeurs à 6 lx pour les humains (Fig. 26). Aucune étude n'a été menée pour les amphibiens et les reptiles.

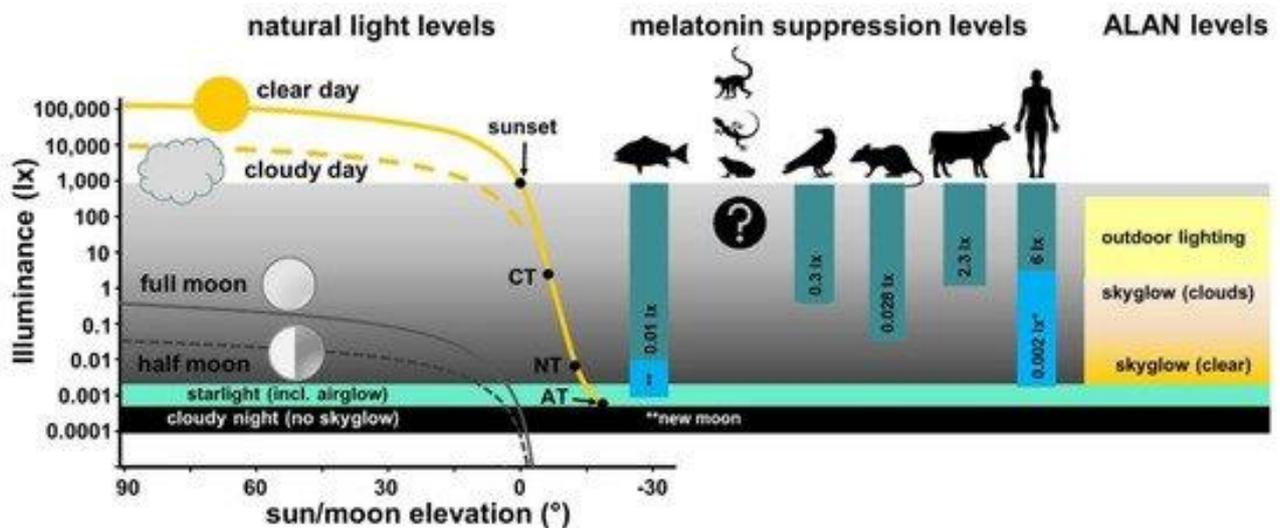


Figure 26 : Niveaux minimaux de lumière émise par des sources de lumière naturelle et artificielle connus pour supprimer la synthèse de mélatonine dans les groupes de vertébrés

À gauche : éclairage du jour, du crépuscule et de la nuit en fonction de l'angle d'élévation du soleil et de la lune; la barre grise ombragée symbolise le crépuscule (CT : fin du crépuscule civil, NT : fin du crépuscule nautique, AT : fin du crépuscule astronomique), la barre vert clair symbolise l'éclairage du ciel clair et la barre noire symbolise l'éclairage pendant une nuit nuageuse. Au centre : niveaux minimaux de suppression de la mélatonine publiés dans les études examinées pour différents groupes de vertébrés : poissons, amphibiens, reptiles, oiseaux, rongeurs, ongulés, primates non humains et humains.

Or, le groupe des amphibiens est celui qui contient le plus grand nombre d'espèces nocturnes chez les vertébrés (93%), en dehors de chiroptères, ce qui rend ce groupe potentiellement très vulnérable à la pollution lumineuse. De plus, au cours des dernières années, les populations d'amphibiens montrent un fort déclin dû aux perturbations environnementales telles que l'augmentation du rayonnement des UV-B, les changements climatiques, la perte et la fragmentation de l'habitat (Wise 2007). Le groupe des amphibiens compte la plus grande proportion d'espèces menacées selon les estimations de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) en 2018. La pollution lumineuse pourrait être un des facteurs qui accroît encore ce déclin car de nombreux amphibiens sont actifs la nuit et ont des rythmes biologiques régulés par la lumière (Wise 2007, Hölker et al. 2010). En outre, de nombreuses zones humides dans les pays industrialisés sont situées à proximité des villes. De plus, plusieurs d'entre elles ont été restaurées ou créées à des fins récréatives. Elles sont donc particulièrement exposées à des niveaux élevés de pollution lumineuse (Secondi et al. 2017).

La synthèse de la mélatonine dans les yeux et la glande pinéale d'amphibiens adultes est décrite depuis les années 1980 avec un pic nocturne (Pang et al. 1985, Delgado and Vivien-Roels 1989, Serino et al. 1993, Alonzo-Gómez et al. 1994, Green et al. 1999). Cette rythmicité est également observée à des stades précoces du développement (stade prémétamorphique, développement des

pattes) chez le têtard de *Rana catesbiana* (Wright et al. 2006). Plusieurs études ont démontré une corrélation positive entre le taux de mélatonine et l'activité de son enzyme de synthèse, l'AANAT, chez *Pelophylax esculenta* (anciennement *Rana esculenta*) (Serino et al. 1993, d'Istria et al. 1994). L'activité de l'AANAT et de la quantité de la mélatonine étaient toutes les deux plus élevées pendant la nuit dans la rétine et dans la glande pinéale. Alonzo-Gómez et coll. (1994) ont étudié l'activité de l'AANAT dans la rétine au cours de la journée chez 4 espèces d'anoures (*Xenopus laevis*, *Discoglossus pictus*, *Rana perezy* et *Bufo calamita*). Les auteurs ont sélectionné différents stades de développement des têtards pour chacune des espèces allant du stade œuf à la métamorphose. Pour chaque espèce, l'activité de l'AANAT est plus importante pendant la nuit et ce rythme jour/nuit apparaît très tôt dans le développement, au moment du début de l'alimentation des têtards. La différence d'activité de l'AANAT entre le jour et la nuit peut atteindre un facteur compris entre 2 et 10 selon l'espèce. Tous ces travaux permettent de faire l'hypothèse que l'expression du gène AANAT présenterait un rythme circadien avec un pic nocturne.

Notre but est d'étudier les effets de la pollution lumineuse sur la synthèse de la mélatonine chez 2 espèces d'amphibiens nocturnes via l'expression des gènes AANAT et ASMT ainsi que des 3 récepteurs à la mélatonine (Mel1a, Mel1b, Mel1c).

3. Matériels et méthodes

3.1. Modèle biologique

Parmi les amphibiens, les anoures (grenouilles et crapauds) sont les plus susceptibles d'être affectés par une exposition à la pollution lumineuse nocturne. Leur mobilité réduite et leur dépendance à l'humidité les rendent moins aptes que d'autres espèces à éviter et à s'adapter aux changements environnementaux, tels que des changements d'éclairage (Buchanan 2006). Nous avons choisi d'étudier les effets de la pollution lumineuse chez deux espèces : *Bufo bufo* (crapaud commun, Fig. 27) et *Rana dalmatina* (grenouille agile, Fig. 27). Ces deux espèces sont largement répandues en Europe et actives la nuit.



Figure 27 : A gauche, photographie de *B. Bufo*. A droite, photographie de *R. dalmatina*. Source : INPN

3.2. Elevage et dispositif expérimental

Deux pontes d'amphibiens ont été échantillonnées en mars 2018 *in natura* à Sainte Croix (*B. bufo*) et à Saint André de Corcy (*R. dalmatina*) dans le département de l'Ain. Dans l'animalerie EcoAquatron (UCBL1), les têtards ont été élevés dans des aquariums de 32 x 17,5 x 18,5 cm contenant de l'eau déchlorée et oxygénée. Dès le stade de développement 25 (Gosner 1960), ils ont été nourris avec de la salade cuite. La photopériode était réglée par rapport à la photopériode naturelle du mois de mars-avril. En journée, l'éclairage était d'environ 1995 ± 253 lux et la température était de $16,0 \pm 0,03^\circ\text{C}$.

Dès l'éclosion, 300 têtards par espèce issus d'une seule ponte ont été répartis en 2 groupes : le groupe « contrôle » et le groupe « traitement ». Chaque groupe est réparti dans 3 aquariums soit 50 têtards par aquarium. Pendant la nuit, le groupe contrôle est soumis à une intensité lumineuse

inférieure à 0,01 lux. Pour le groupe traitement, une intensité lumineuse de 5 lux est produite par des rubans LEDs (white cold Light Plus, 6000-6500 K, 14W, 60 LED/m), ce qui correspond à un éclairage péri-urbain (Bennie et al. 2016). Les LEDs blanches ont été choisies car elles sont de plus en plus utilisées pour l'éclairage public et privé (Falchi et al. 2016).

Au stade 31 de Gosner du développement des têtards soit 23 jours (les pattes arrière en forme de pagaie), 5 têtards par groupe ont été prélevés toutes les 2 heures entre 16h et 8h le lendemain matin avec un dernier prélèvement à 11h (Fig. 28). Les têtards sont posés sur la glace et la tête du têtard est récupérée rapidement puis congelée dans de l'azote liquide avant d'être stockée à -80°C.

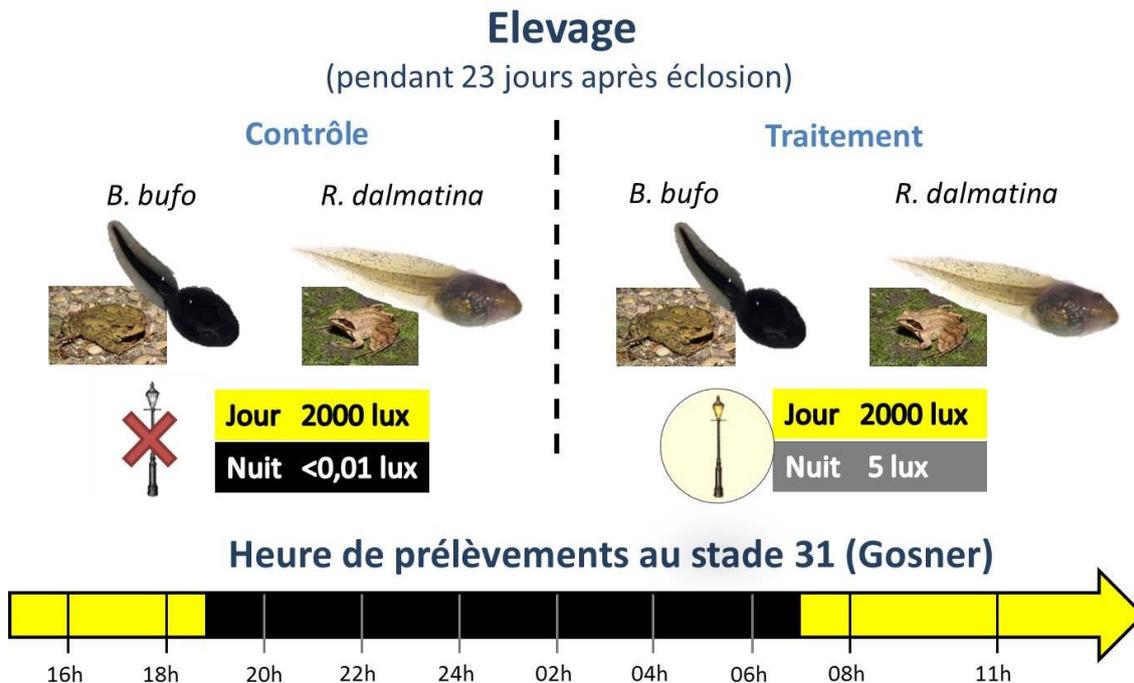


Figure 28 : Schéma du protocole expérimental

3.3. Dosage des ARNm de l'AANAT, l'ASMT et des 3 récepteurs

3.3.1. Transcriptomique

Les bases de données ne disposant pas de transcriptomes de référence de nos espèces ou d'espèces proches, des transcriptomes *de novo* de *B. bufo* et *R. dalmatina* avaient été synthétisés en 2015 et 2016. Pour cela, les ARN totaux des têtards (8 têtards de *R. dalmatina* et 9 têtards de *B. bufo*) ont été extraits au TRI Reagent (Euromedex, TR-118) en suivant les instructions du fournisseur. Les ARN ont été traités avec 4U de TURBO DNase™ Enzyme (Fisher Scientific Life Technologies, AM1907) puis dosés par fluorescence au Qubit. Les différents ARNs ont été groupés par espèce. Les 2 librairies d'ARN ont été synthétisées avec le kit TruSeq™ RNA Sample Prep Kit v2 (ILLUMINA, RS-122-2001). La bonne synthèse des librairies est vérifiée au Bioanalyzer Agilent 2100 avec le kit High Sensitivity DNA Assay (Agilent, 5067-4626). Les librairies ont été séquencées en Hiseq 4000 sequencing 2x100 bases standard. Les transcriptomes ont été assemblés par Tristan Lefebure (MCF Université de Lyon, LEHNA).

3.3.2. Sélection des gènes et design des amorces

Les gènes cibles sélectionnés sont ceux des 2 enzymes majeures pour la synthèse de la mélatonine AANAT et ASMT ainsi que les 3 récepteurs de la mélatonine présents chez les amphibiens : Mel1a, Mel1b et Mel1c (Li et al. 2013).

Pour la sélection des gènes de référence, nous nous sommes basées sur des gènes utilisés pour des études sur le cycle circadien (Kamphuis et al. 2005) et des gènes stables au cours du développement chez les amphibiens (Dhorne-Pollet et al. 2013, Lou et al. 2014). Les gènes retenus sont β -actine, gapdh, GluR2, Rpl8, Tbp, dicer1 et drosha. Ces gènes ont des fonctions différentes dans l'organisme (Tableau 3).

Tableau 3 : description des gènes de référence

Gène	description	publication
β-actine	Actine cytosquelettique non musculaire	Kamphuis et al. 2005
gapdh	Glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogenase	Kamphuis et al. 2005
GluR2	Récepteur du glutamate de type AMPA	Kamphuis et al. 2005
Rpl8	Protéine ribosomique L8	Dhorne-Pollet et al. 2013, Lou et al. 2014
Tbp	Protéine de liaison de la TATA box	Dhorne-Pollet et al. 2013
dicer1	Ribonucléases de type III	Dhorne-Pollet et al. 2013
drosha		

Pour chacun des gènes, nous avons recherché les séquences nucléotidiques des gènes pour au moins 2 mammifères (*Homo sapiens*, *Ratus norvegicus*), 1 oiseau (*Gallus gallus*) et les amphibiens (*Xenopus laevis*, *Xenopus tropicalis*, *Rana esculenta*, *Rana catesbiana*) présentes dans la banque de données NCBI Nucleotide. A partir des séquences d'amphibiens ou d'*H. sapiens* (en cas d'absence de séquences d'amphibiens), un blast a été réalisé sur les transcriptomes *de novo*, permettant d'identifier les séquences des gènes ciblés sur nos modèles d'étude. Les séquences retenues ont des pourcentages d'identité supérieurs à 70% avec *X. laevis* et une longueur minimale de 200 pb. Les séquences issues de NCBI et des transcriptomes *de novo* ont été alignées grâce au logiciel seaview. Un arbre phylogénique est réalisé par PhyML afin de vérifier que les séquences issues des transcriptomes ont été correctement identifiées.

Après validation des séquences des gènes de nos espèces d'étude, des amorces spécifiques de 20 pb sont créées. Les amplicons ont des tailles comprises entre 100 et 200 pb. Deux paires d'amorces sont testés par gène.

3.3.3. Extraction d'ARN et synthèse d'ADNc

Pour chaque espèce, 5 têtards par heure de prélèvement et par traitement lumineux sont traités comme indiqué ci-dessous. Les têtards ont été homogénéisés individuellement dans du TRI Reagent (Euromedex, TR-118) pendant 2 min à 50 Hz. Les ARN totaux ont été extraits en suivant les instructions du fournisseur. Les ARN ont été traités avec 4U de TURBO DNase™ Enzyme (Fisher Scientific Life Technologies, AM1907) puis dosés par fluorescence au Qubit. L'intégrité de l'ARN a été

évaluée à l'aide d'un Bioanalyzer Agilent 2100 et des kits Eukaryote Total RNA Nano (Agilent, 5067-4626).

Une quantité de 5 µg d'ARN totaux a été synthétisée en ADNc simple brin. Les ARN ont été dilués dans 12 µl d'eau ultra pure avec 1µl d'oligo(dt)20 (50µM) et 1 µl dNTP mix (10mM de chaque dNTP). Ce mélange a été incubé 5 min à 65°C. Puis, 1 µl de 0,1M DTT, 4 µl de 5X First-Strand Buffer et 1 µl (200U) d'enzyme reverse transcriptase SuperScript® III (Invitrogen, 18080-085) ont été ajoutés à chaque échantillon. L'incubation finale est de 45 min à 50°C suivi de 15 min à 70°C. Les échantillons d'ADNc obtenus ont été traités avec 1U de Ribonucléase H (Invitrogen, 18021-071) pendant 30 min à 37°C.

3.3.4. PCR quantitative

Les échantillons d'ADNc ont été dilués au 1/10^{ème} pour *B. bufo* et 1/5^{ème} pour *R. dalmatina*. Les conditions de qPCR ont été les suivantes : 1X SsoADV Univer SYBR Green Supermix (BIORAD, 172-5274), 100 à 500nM d'amorces F et R et 2 µl d'ADNc dilué dans un volume final de 10 µl (tableau 4).

Le programme qPCR du thermocycler CFX (BIORAD) est : l'activation de l'enzyme à 95°C pendant 30 sec suivi de 40 cycles de 95°C pendant 10 sec et 60°C pendant 30 sec. A la fin des cycles, une courbe de fusion a été réalisée. Tous les échantillons ont été réalisés en duplicat. Les données de qPCR ont été analysées avec le logiciel Biorad CFX Manager 3.0. Les valeurs de Cycle de quantification (Cq) ont été obtenues en utilisant la méthode par régression du logiciel. Les valeurs Cq étaient considérées comme valides si les mesures en duplicat différaient de moins de 0,5 cycle. Pour toutes les paires d'amorces, l'efficacité d'amplification est calculée à partir d'une gamme étalon. Toutes les efficacités sont comprises entre 90 et 110%. La spécificité de chaque qPCR est vérifiée grâce à la courbe de fusion.

Tableau 4 : Liste des amorces et taille des amplicons pour chacun des gènes utilisés en qPCR

Gènes	Espèce	Forward 5'-3'	Reverse 5'-3'	Taille de l'amplicon	Concentration des amorces (µM)
AANAT	<i>B. bufo</i>	CCCGCCAGTGAATTCGCTG	TCTAACTTCATCCAGGTGGA	116	100
	<i>R. dalmatina</i>	CCTGCCAGTGAATTCGTTG	CCTGACTTCATCCAGATGGA	116	250
ASMT	<i>B. bufo</i>	TTTCACCACGTACTTGGTC	CAGCCTGCGGTAAGAAGTG	104	100
	<i>R. dalmatina</i>	TTTCTTCAGTATATCTGATC	TAGCTTGAGGTAGGAATTG	104	500
Mel1a	<i>B. bufo</i>	TTAATGGGAATAAGTGTCAT	ATCCAACAAATAAATTTGGC	184	100
	<i>R. dalmatina</i>	TTAATGGGAATAAGTGTCAT	ATCCAACAAATAAATTTGGC	184	250
Mel1b	<i>B. bufo</i>	TGCTGTGATTTATGGACTTC	GCTTTTAGGGCACTCTGTCG	126	250
	<i>R. dalmatina</i>	TGCTGTTATATACGGATTGC	GCTCTTTGGGCATTCTGTTC	126	250
Mel1c	<i>B. bufo</i>	CAAGTGAAGCACAGAGTAAG	GCTACAGCAAGGCCAATGAA	139	250
	<i>R. dalmatina</i>	CAAGCACAGAGTAAGACAAG	GCCACCCTAGGCCAATAAA	139	250
β-actine	<i>B. bufo</i>	GAAGATTCTTACTGAGAGAG	TGACCTGCCATCAGGCAAC	140	500
	<i>R. dalmatina</i>	GAAAATTCTGACTGAGAGGG	TGACCTGCCATCAGGCAAC	140	250
Rpl8	<i>B. bufo</i>	GCTAAGCTCAGGGCTGTCGA	AAGGCAACCTTGCCAAGAGG	109	250
	<i>R. dalmatina</i>	GCTAAGCTCAGGGCTGTCGA	AAGGCAACCTTAGCAAGTGG	109	250
Tbp	<i>B. bufo</i>	AACAATCTCGTTAGCAGCC	GATGCGTGAGCACGAGACCC	149	100
	<i>R. dalmatina</i>	TGAAGAGCAGTCGCGCTTGG	TTACATCACAGCTCCCTACC	115	250
GluR2	<i>B. bufo</i>	ACCTTGATTATCATTTTCATC	GAATTCCTTTGTTGACCCTG	149	250

3.4. Analyses

3.4.1. Sélection des gènes de référence

L'identification de gènes de référence exprimés de manière stable est essentielle lors de l'étude de l'expression génique, afin de minimiser l'influence de facteurs techniques (efficacité de la reverse-transcriptase, qualité de l'ARN...) sur les résultats finaux. Par ailleurs, il est indispensable de vérifier que l'expression des gènes de référence sélectionnés ne soit pas modifiée par les conditions expérimentales. De plus, la plupart des gènes ayant un rythme circadien, il faut s'assurer que les gènes de référence ont une expression stable au cours du temps. Si l'expression des gènes de référence varie en fonction du traitement ou du temps, l'expression des gènes cibles serait par conséquent affectée. Ainsi, il est recommandé de choisir plusieurs gènes de référence (Hellemans 2007, Derveaux et al. 2010).

Les gènes Droscha et Dicer présentent un taux d'amplification insuffisant par qPCR. En raison de la quantité limitée d'ADNc, seuls 4 gènes de références ont été retenus pour être dosés par qPCR : β -actine, Rpl8, GluR2 et Tbp. Nous avons privilégié des gènes de référence avec des niveaux d'expression différents et le gène Rpl8 très souvent utilisé chez les amphibiens.

Pour déterminer les gènes de référence les plus stables, nous avons utilisé le logiciel geNorm et Normfinder. GeNorm classe les gènes en fonction de la mesure de stabilité d'expression (M). La valeur M est calculée comme la variation moyenne entre la mesure d'expression d'un transcrite donné et tous les autres transcrits sélectionnés. Lorsque plusieurs gènes partagent un modèle d'expression cohérent, ils sont associés à une valeur M faible, généralement inférieure à 1,0 dans des échantillons hétérogènes et inférieure à 0,5 dans des échantillons homogènes (Hellemans et al. 2007). Ce logiciel traite les données pour l'ensemble du jeu de données. La stabilité des gènes a été testée également avec le logiciel Normfinder. Normfinder permet d'estimer la variation entre les sous-groupes d'échantillons sur l'ensemble des échantillons. Il fournit une valeur de stabilité pour chaque gène. La stabilité des gènes a été testée en fonction du traitement et de l'heure de prélèvement.

3.4.2. Normalisation et analyses statistiques

Les gènes cibles sont normalisés par le package R : easyqPCR. Ce package permet de normaliser les gènes cibles par plusieurs gènes de référence. Il convertit les valeurs de Cq de chaque échantillon en quantités relatives normalisées (NRQ).

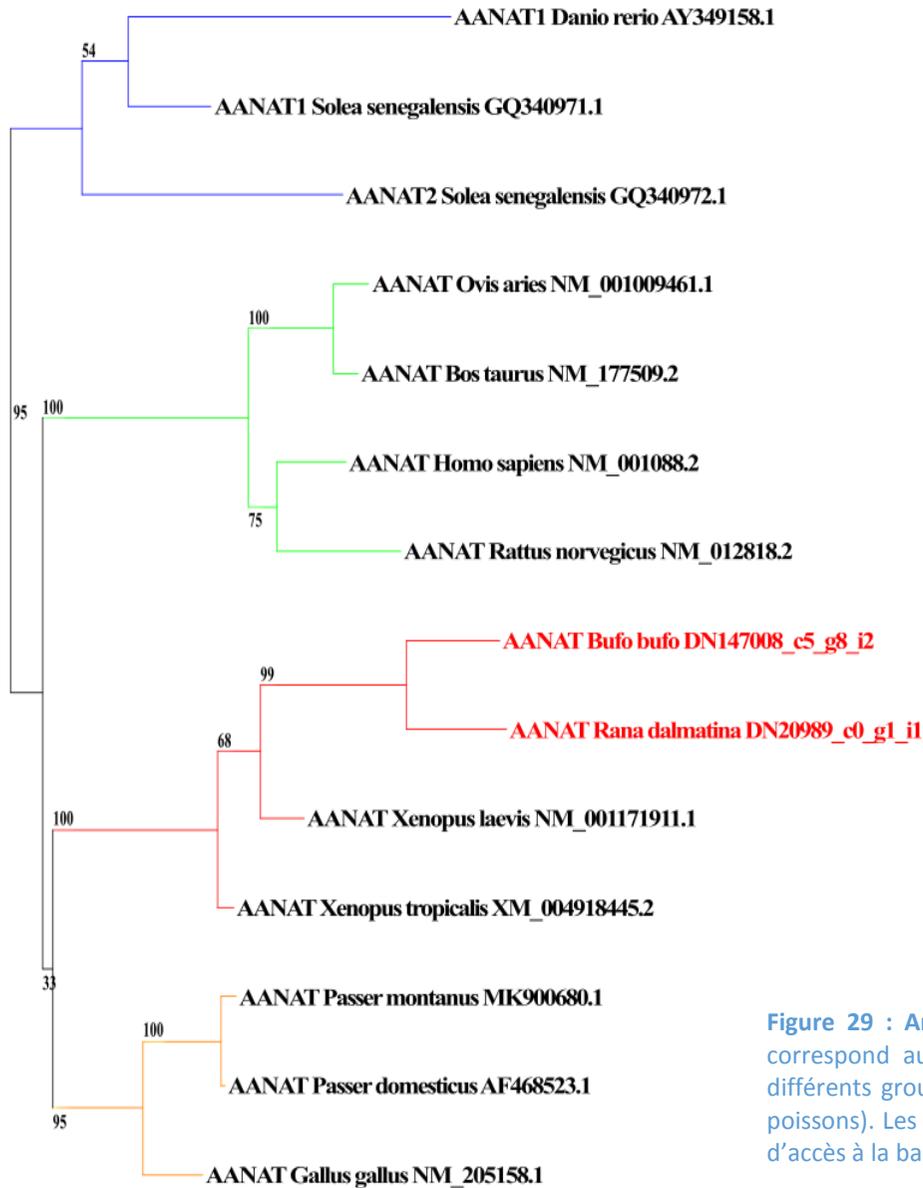
L'expression relative des gènes a été analysée avec un modèle additif généralisé (GAM) avec une distribution GAMMA (package mgcv). Les facteurs testés dans les modèles sont l'heure de prélèvement et le traitement ainsi que l'interaction de ces 2 facteurs pour chacune des espèces. La sélection des modèles est basée sur le plus petit critère d'information d'Akaike (AIC).

4. Résultats

4.1. Validation des séquences nucléiques pour les gènes cibles et de référence

La première étape de notre étude a été d'identifier les séquences d'ARNm des différents gènes cibles pour les 2 espèces, *B. bufo* et *R. dalmatina*. La séquence du gène Mel1a n'a pas été trouvée dans le transcriptome de *R. dalmatina* mais elle a été séquencée, par la suite, grâce à des amorces créées à partir de zones conservées entre la séquence de *B. bufo* et de *X. laevis*. La comparaison des séquences nucléiques indique que les 2 espèces ont un pourcentage d'identité compris entre 80 et 99% avec d'autres amphibiens, entre 76 et 80% avec des oiseaux, entre 69 et 75% avec des mammifères et entre 65 et 76% avec des poissons pour les gènes AANAT et les 2 récepteurs de la mélatonine (Mel1a et Me1b). Pour le 3^{ème} récepteur, Mel1c, les pourcentages d'identité nucléique sont comparables aux précédents, exceptés pour les mammifères qui ne possèdent pas ce récepteur. Les pourcentages d'identité nucléique d'ASMT entre nos 2 espèces et les autres taxons sont plus faibles : 72-73% avec *X. laevis*, 66-67% avec les oiseaux, 57-60% avec les mammifères et 61-64% avec les poissons. Afin de confirmer la bonne identification de ces séquences nucléiques, des arbres phylogéniques et une analyse des séquences protéiques ont parallèlement été réalisés. Pour analyser les séquences d'acides aminés, nous avons étudié le pourcentage d'acides aminés identiques et les substitutions conservatrices (acides aminés ayant des propriétés physico-chimiques semblables) entre les séquences des différents taxons. Pour tous les gènes cibles excepté ASMT, la comparaison des séquences entre les 2 espèces et les différents taxons indique 82 à 98% de similitude. Pour ASMT, les pourcentages de similitude sont compris entre 68 et 87%. Les figures 29 et 30 présentent les analyses phylogéniques des différents gènes cibles et valident l'identification des séquences, ce qui est particulièrement important dans les familles multigéniques tels que les récepteurs à la mélatonine. Ces analyses ont également été réalisées sur les différents gènes de référence nécessaires à la normalisation des résultats de qPCR.

PhyML ln(L)=-3866.4 531 sites GTR 1000 replic. 4 rate classes | 0.1



PhyML ln(L)=-8835.4 1077 sites GTR 1000 replic. 4 rate classes | 0.2

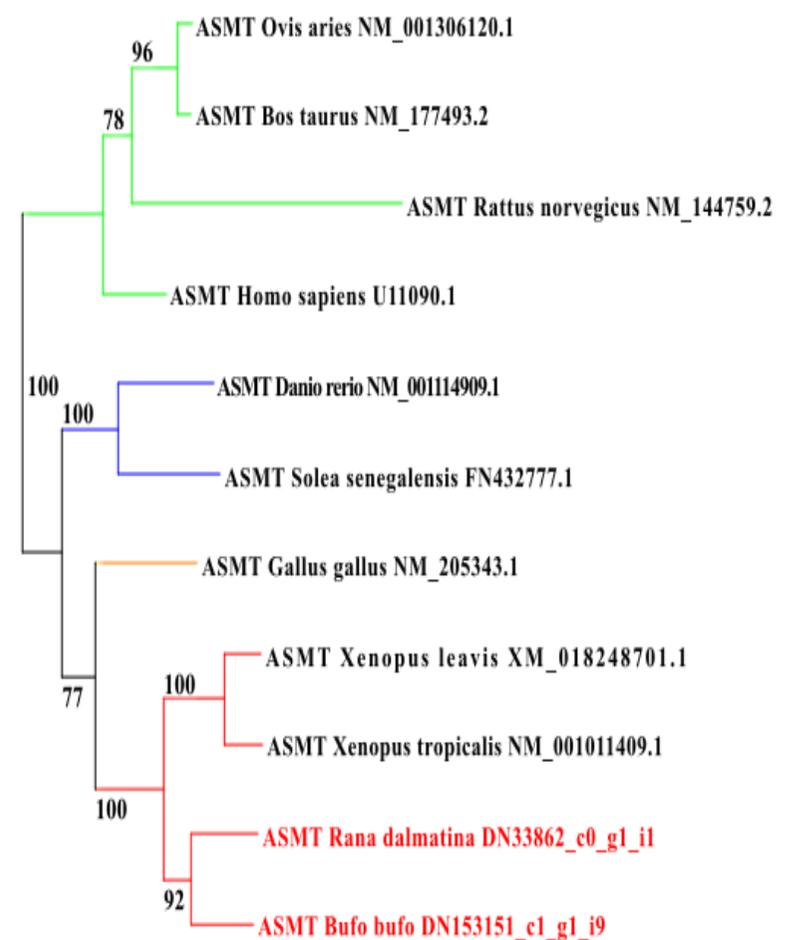


Figure 29 : Arbres phylogéniques de l'AANAT et de l'ASMT. Le nom des séquences en rouge correspond aux séquences issues des transcriptomes. La couleur des branches représente les différents groupes taxonomiques (rouge : amphibiens, orange : oiseaux, vert : mammifères, bleu : poissons). Les chiffres au-dessus des branches sont les résultats de l'analyse bootstrap. Le numéro d'accès à la base de données NCBI Nucleotide est indiqué après le nom de l'espèce.

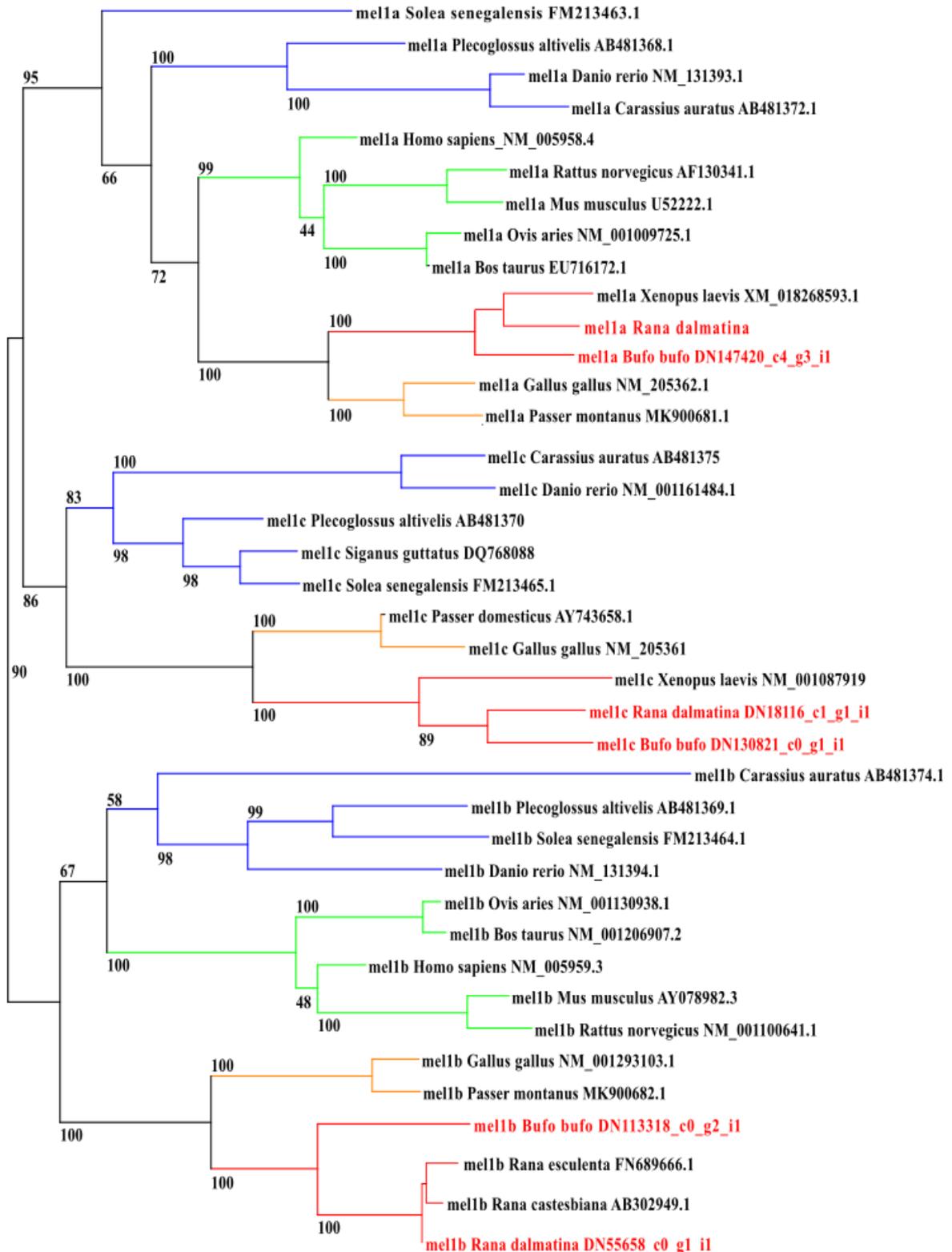


Figure 30 : Arbre phylogénique des récepteurs à la mélatonine. Le nom des séquences en rouge correspond aux séquences issues de nos transcriptomes ou d'un séquençage Sanger. La couleur des branches représente les différents groupes taxonomiques (rouge : amphibiens, orange : oiseaux, vert : mammifères, bleu : poissons). Les chiffres au-dessus des branches sont les résultats de l'analyse bootstrap. Le numéro d'accès à la base de données NCBI Nucleotide est indiqué après le nom de l'espèce.

4.2. Sélection des gènes de référence

L'analyse de stabilité des gènes par ces 2 algorithmes GeNorm et Normfinder nous a permis de sélectionner les 3 gènes les plus stables pour la normalisation des gènes cibles de *B. bufo* : β -actine, Rpl8 et Tbp (Tableau 5). Le gène GluR2, présentant une variation plus importante selon l'heure de prélèvement d'après Normfinder, a été exclu des gènes de référence. Nous avons utilisé ces mêmes gènes de référence pour *R. dalmatina* en vérifiant également leur stabilité.

Tableau 5 : Résultats des analyses de stabilité des gènes de référence par GeNorm et Normfinder. Les valeurs de stabilité de geNorm sont données pour l'ensemble du jeu de données, sans distinction du traitement ou de l'heure de prélèvement. Pour les valeurs de stabilité indiquées par Normfinder, les données ont été analysées soit en fonction du traitement soit en fonction de l'heure de prélèvement. Plus les valeurs sont basses, plus l'expression des gènes est stable.

Espèce	Gènes	GeNorm	Normfinder	
			Traitement	Heure
<i>Bufo bufo</i>	β -actine	0,806	0,04	0,23
	Rpl8	0,938	0,07	0,26
	Tbp	0,993	0,07	0,28
	GluR2	1,006	0,09	0,36
<i>Rana dalmatina</i>	β -actine	0,424	0,03	0,10
	Rpl8	0,446	0,03	0,10
	Tbp	0,439	0,04	0,11

4.3. Résultats de l'expression génique de l'AANAT, l'ASMT et les récepteurs à la mélatonine

4.3.1. *Rana dalmatina*

L'expression des 2 enzymes de synthèse de la mélatonine (AANAT et ASMT) augmente au cours du temps (+111% pour l'AANAT et + 82,3% pour l'ASMT, Fig. 31). Par contre, l'extrême variabilité observée entre les échantillons ne permet pas de montrer un patron rythmique. Nous observons également que le traitement lumineux n'affecte pas significativement le taux d'expression de ces 2 enzymes (Tableau 6 et Fig. 31).

En ce qui concerne les récepteurs de la mélatonine, il faut noter que le récepteur Mel1a a été dosé mais en raison d'un taux d'expression trop faible, les résultats n'ont pas pu être analysés. Pour les récepteurs Me11b et Mel1c, une interaction entre l'heure de prélèvement et le traitement lumineux est observée (Tableau 6). En effet, l'expression de Mel1b et de Mel1c est constante au cours du temps pour les individus ayant été exposés à 5 lux pendant la nuit (Fig. 32). Alors que chez les contrôles, nous observons une augmentation de l'expression de Mel1b d'un facteur 2,6 entre 16h et 11h, ainsi qu'une augmentation de l'expression de Mel1c en fin de nuit.

Tableau 6 : Résultats des modèles additifs généralisés (GAM) pour *R. dalmatina*. Le modèle sélectionné est surligné en bleu. Groupe contrôle : heure ou Groupe 5 lux : heure indique s'il y a des différences d'expression du gène au sein du traitement choisi en fonction de l'heure.

Gène	modèle	Covariable(s)	<i>p</i>	Déviante	AIC
AANAT	1	Heure	0,002	11,7	200,8
	2	Heure	0,002	12,1	202,5
		Traitement	0,346		
	3	Groupe contrôle : heure	0,049	12,1	204,4
		Groupe 5 lux : heure	0,014		
		Traitement	0,224		
ASMT	1	Heure	0,003	9,35	225,8
	2	Heure	0,003	9	227,7
		Traitement	0,779		
	3	Groupe contrôle : heure	0,011	9,95	229,1
	Groupe 5 lux : heure	0,096			
	Traitement	0,577			
Mel1b	1	Heure	0,002	12,7	119,9
	2	Heure	0,002	13	121,7
		Traitement	0,699		
	3	Groupe contrôle : heure	<0,001	18,3	117,4
	Groupe 5 lux : heure	0,335			
	Traitement	0,264			
Mel1c	1	Heure	0,466	7,1	60,8
	2	Heure	0,113	9,18	60,9
		Traitement	0,219		
	3	Groupe contrôle : heure	0,061	16,5	57,8
	Groupe 5 lux : heure	0,182			
	Traitement	0,256			

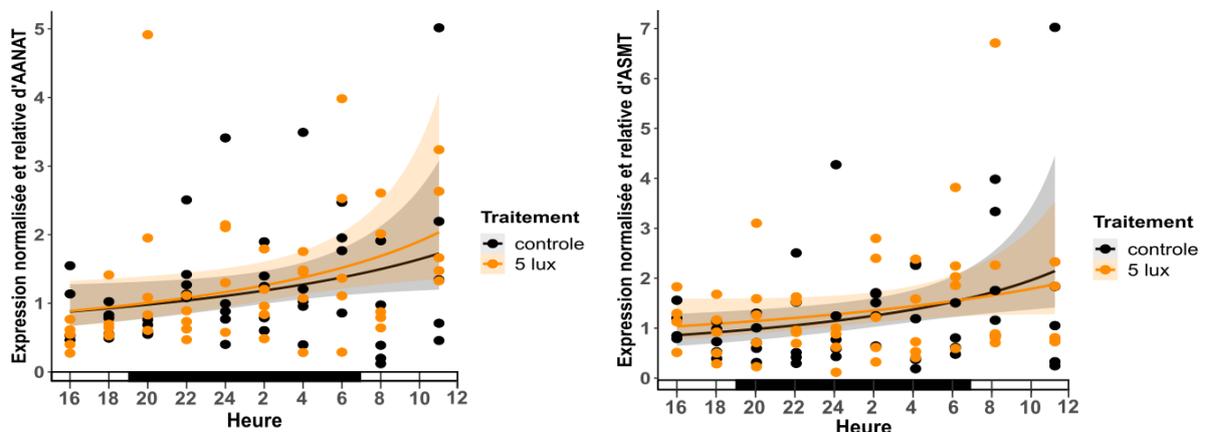


Figure 31 : Niveaux d'expression normalisés et relatifs des gènes AANAT et ASMT, chez *R. dalmatina* selon l'heure de prélèvement et le traitement lumineux. Chaque point représente un individu. L'axe des abscisses indique les heures de la journée ainsi que les périodes diurnes (blanches) et nocturnes (noires). Les traits pleins sont les régressions définies par les modèles additifs généralisés (GAM). Les zones colorées (orange ou grise) représentent l'intervalle de confiance à 95%.

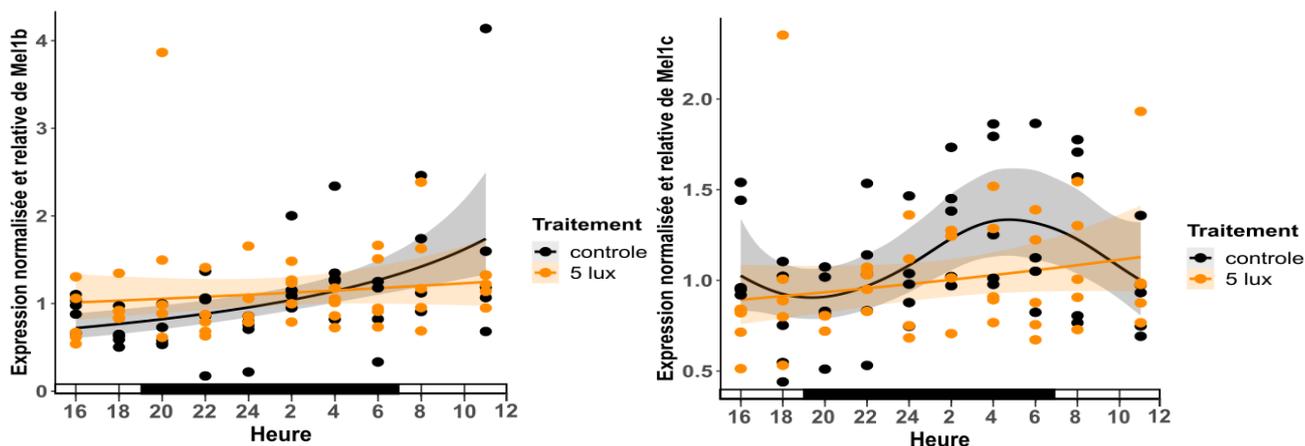


Figure 32 : Niveaux d'expression normalisés et relatifs des gènes Mel1b et Mel1c, chez *R. dalmatina* selon l'heure de prélèvement et le traitement lumineux. Chaque point représente un individu. L'axe des abscisses indique les heures de la journée ainsi que les périodes diurnes (blanches) et nocturnes (noires). Les traits pleins sont les régressions définies par les modèles additifs généralisés (GAM). Les zones colorées (orange ou grise) représentent l'intervalle de confiance à 95%.

4.3.2. *Bufo bufo*

De façon surprenante, nos résultats montrent que chez les têtards de *B. bufo*, le taux d'expression de l'AANAT est plus important pendant la journée par rapport à la nuit. En outre, même si le patron d'expression de l'AANAT est similaire entre les individus contrôle et les individus exposés à la lumière nocturne, les individus exposés présentent un taux d'expression d'AANAT plus élevé (Tableau 7 et Fig. 33). Pour l'ASMT, les taux d'expression ne sont pas affectés par le traitement lumineux (Tableau 7). Cependant, bien que cela ne soit pas significatif, les taux d'expression d'ASMT semblent être affectés par l'heure de prélèvement sans pour autant montrer un rythme bien défini (Fig. 33). Nous observons un léger pic vers 22h mais également un pic en journée vers 11h.

Tableau 7 : Résultats des modèles additifs généralisés (GAM) pour *B. bufo*. Le modèle sélectionné est surligné en bleu.

Gène	modèle	Covariable(s)	<i>p</i>	Déviance	AIC
AANAT	1	Heure	<0,001	34,2	71,92
	2	Heure Traitement	<0,001 0,036	37,7	69,52
	3	Groupe contrôle : heure Groupe 5 lux : heure Traitement	0,017 0,002 0,053	37,6	76,13
ASMT	1	Heure	0,066	18,5	137,74
	2	Heure Traitement	0,073 0,392	19,2	138,90
	3	Groupe contrôle : heure Groupe 5 lux : heure Traitement	0,344 0,053 0,951	23,3	138,74

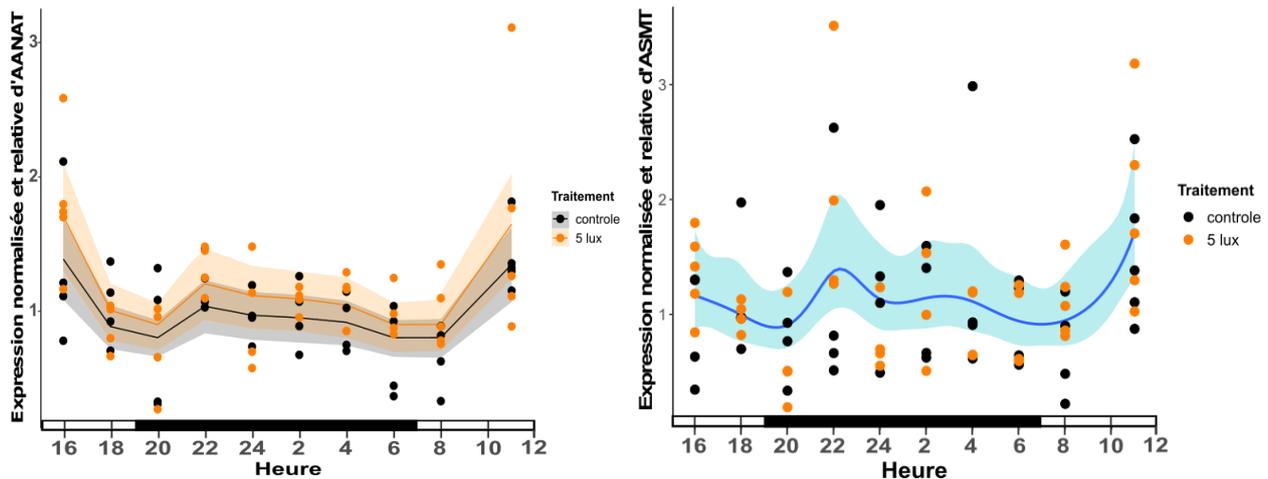


Figure 33 : Niveaux d'expression normalisés et relatifs des gènes AANAT et ASMT, chez *B. bufo*, selon l'heure de prélèvement et le traitement lumineux. Chaque point représente un individu. L'axe des abscisses indique les heures de la journée ainsi que les périodes diurnes (blanches) et nocturnes (noires). Les traits pleins sont les régressions définies par les modèles additifs généralisés (GAM). Les zones colorées (orange ou grise) représentent l'intervalle de confiance à 95% pour chacun des groupes. La zone colorée en bleu est l'intervalle de confiance à 95 % en tenant compte uniquement de l'heure du prélèvement.

En ce qui concerne les 3 récepteurs à la mélatonine, les taux d'expression ne sont pas affectés par le traitement lumineux (Tableau 8). En revanche, nous observons une augmentation de l'expression de Mel1a au cours du temps aussi bien pour le groupe contrôle que pour le groupe exposé à la lumière nocturne (+64,5%, Tableau 8 et Fig. 34). Bien que cela ne soit pas significatif, les taux d'expression de Mel1b semblent être affectés par l'heure de prélèvement (Tableau 8, Fig. 34). Enfin, Mel1c ne présente aucune variation d'expression selon le traitement lumineux ou l'heure de prélèvement.

Tableau 8 : Résultats des modèles additifs généralisés (GAM) pour *B. bufo*. Le modèle sélectionné est surligné en bleu.

Gène	modèle	Covariable(s)	<i>p</i>	Déviante	AIC
Mel1a	1	Heure	0,024	14,6	159,36
	2	Heure	0,026	15	160,87
		Traitement	0,512		
	3	Groupe contrôle : heure	0,074	14,8	162,14
		Groupe 5 lux : heure	0,048		
		Traitement	0,630		
Mel1b	1	Heure	0,069	26,1	163,40
	2	Heure	0,081	26,3	165,16
		Traitement	0,676		
	3	Groupe contrôle : heure	0,696	17,1	168
	Groupe 5 lux : heure	0,115			
	Traitement	0,96			
Mel1c	1	Heure	0,456	0,80	127,51
	2	Heure	0,460	0,86	129,45
		Traitement	0,834		
	3	Groupe contrôle : heure	0,768	1	131,33
	Groupe 5 lux : heure	0,457			
	Traitement	0,814			

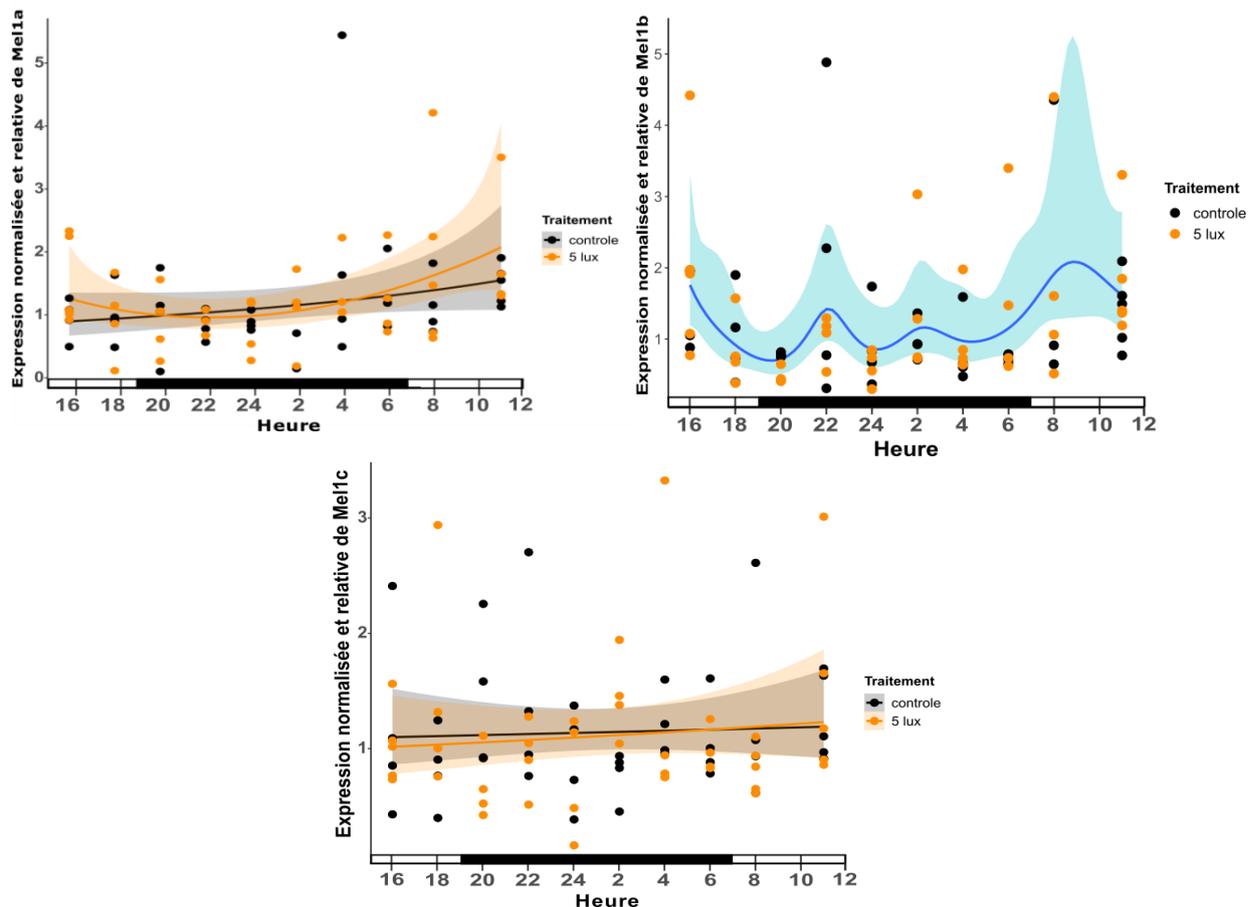


Figure 34 : Niveaux d'expression normalisés et relatifs des gènes des 3 récepteurs de la mélatonine, chez *B. bufo*, selon l'heure de prélèvement et le traitement lumineux. Chaque point représente un individu. L'axe des abscisses indique les heures de la journée ainsi que les périodes diurnes (blanches) et nocturnes (noires). Les traits pleins sont les régressions définies par les modèles additifs généralisés (GAM). Les zones colorées (orange ou grise) représentent l'intervalle de confiance à 95%. La zone colorée en bleu est l'intervalle de confiance à 95% en tenant compte uniquement de l'heure du prélèvement.

5. Discussion

Contrairement à notre hypothèse de travail, nous n'observons pas de rythme circadien de la production d'ARNm du gène AANAT avec un pic nocturne chez les 2 espèces étudiées. Dans nos résultats, seuls les têtards de *B. bufo* présente une variation journalière du nombre d'ARNm de l'AANAT, mais avec un taux plus important en journée. A contrario, *R. dalmatina* ne présente pas de rythme circadien de la synthèse d'ARNm pour le gène AANAT. Une étude avait relevé une quantité de mélatonine plus élevée pendant la journée dans la rétine de *Bufo viridis* (Serino et al. 1993). Cependant, l'AANAT était plus active la nuit. Les auteurs n'ont pas fourni d'explication à ce phénomène. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer les résultats que nous avons obtenus chez *R. dalmatina* et *B. Bufo*. Tout d'abord, l'AANAT peut être produite de manière constitutive comme chez les primates et les ongulés mais détruite la journée en absence de protection (Schomerus and Korf 2005). Cependant, même si l'enzyme est présente, elle n'est pas forcément active. Il est nécessaire qu'elle soit activée par des processus post-traductionnels, comme par exemple, en absence de lumière dans la rétine du poulet, l'AANAT phosphorylée forme un complexe avec des protéines chaperonnes 14-3-3. Au sein de ce complexe, l'AANAT est activée et protégée de la

déphosphorylation et de la dégradation (Pozdeyev et al. 2006). Ce mécanisme a également été identifié chez d'autres vertébrés. Une autre molécule, l'AMP cyclique, intervient dans la formation de ce complexe (Ganguly et al. 2005, Klein 2006). Il est possible que, pour les 2 espèces d'amphibiens testées ici, la régulation de l'AANAT ne soit pas transcriptionnelle mais qu'elle soit principalement contrôlée post-traductionnellement avec un mécanisme similaire à celui trouvé chez les mammifères, ces mécanismes étant sensibles à la lumière (Ganguly et al. 2002, Reiter et al. 2010).

Une autre explication possible de nos résultats est que la mélatonine n'est pas produite uniquement dans la rétine ou la glande pinéale chez les amphibiens. Cela pourrait avoir masqué le maximum de la production nocturne des ARNm de l'AANAT dans ces deux organes, impliqués dans la régulation des rythmes biologiques. En effet, étant donné que nous n'avons pas disséqué les yeux et la glande pinéale mais que la tête des têtards a été prélevé dans son ensemble, d'autres tissus ou organes de la tête pourraient produire de la mélatonine. Ces dernières années, la mélatonine a été découverte dans de nombreux tissus ou organes chez les mammifères. À ce jour, presque toutes les cellules, tissus et organes des mammifères contiennent de la mélatonine et possèdent les enzymes nécessaire à la synthèse de la mélatonine (Acuña-Castroviejo et al. 2014). Cela reste à être prouvé chez les amphibiens. De plus, selon Slominski et coll. (2008) et Huether (1993), les plus grandes quantités de mélatonine ne sont pas produites par la glande pinéale mais plutôt dans l'intestin et la peau. De la mélatonine, de l'ordre de quelques centaines de pg/g, dans le tractus gastro-intestinale de *R. pipiens* et *R. catesbiana* a été trouvé par Bubenik et Pang (1997). Cependant, étant donné que nous avons extrait l'ARN de la tête, il paraît peu probable que nous ayons dosé des ARNm provenant du tractus gastro-intestinale. De plus, l'origine de la mélatonine dans l'intestin est encore en discussion. Elle pourrait provenir de la nourriture, de la flore intestinale ou d'autres tissus. En ce qui concerne les différents tissus, il semble que la régulation de la synthèse de la mélatonine utilise des mécanismes différents de ceux de la glande pinéale ou de la rétine. Dans ces organes, la production de mélatonine ne répond pas au cycle lumière/obscurité mais serait régulée par les demandes des tissus. La synthèse d'ARNm de l'AANAT plus élevée chez les têtards de *B. bufo* exposés à la lumière nocturne pourrait être due à une altération d'un autre processus physiologique telle qu'une augmentation du stress oxydant, entraînant ainsi une augmentation des besoins de mélatonine comme molécule antioxydante (Navara et al. 2007, McLay et al. 2018).

En ce qui concerne, la dernière enzyme impliquée dans la synthèse de la mélatonine, l'ASMT, les processus de régulation ont été moins étudiés. L'activité de l'ASMT dans la tête de têtard de *X. laevis* a été démontrée dans les années 1960 (Baker et al. 1965). Plus tard, la protéine ASMT a été également localisée dans la rétine du *X. laevis* et de *R. pipiens* (Wiechmann and Hollyfield 1989). Une augmentation de l'activité de l'ASMT dans la glande pinéale et la rétine pendant la scotophase est observée chez plusieurs vertébrés tels que les reptiles ou les poissons (Smith and Weber 1976, Joss 1978, Velarde et al. 2010). A notre connaissance, aucune étude n'a quantifié l'activité ou l'expression de l'ASMT au cours de la journée chez les amphibiens. Nos résultats montrent que pour *B. bufo*, l'expression de l'ASMT n'est pas constante au cours de la journée avec un maximum pendant le jour et un autre pendant la nuit. Aucun effet du traitement lumineux n'a été mis en évidence pour les 2 espèces testées.

Nos résultats sur les enzymes, AANAT ou ASMT, nous permettent uniquement d'affirmer que la lumière nocturne à 5 lux, ne modifie pas la rythmicité de la transcription des gènes AANAT et ASMT.

Nous ne pouvons pas en déduire si la lumière nocturne (5 lux) modifie ou pas la quantité de mélatonine produite, pendant la nuit, chez les têtards. Au vu de ces résultats et de la littérature, le dosage direct de la mélatonine serait plus adéquat pour répondre à cette question. Cependant, nous avons également essayé de réaliser des dosages de la mélatonine par HPLC ou avec un kit ELISA mélatonine commercial (BIOTREND) sur des têtards de ces 2 espèces, élevés dans les mêmes conditions expérimentales, sans obtenir de résultats exploitables. Nous avons probablement des problèmes d'extraction de la mélatonine des tissus ou des réactions croisées avec d'autres métabolites pour le kit ELISA.

L'étude des récepteurs de la mélatonine est également nécessaire dans les projets sur la pollution lumineuse. En effet, si la mélatonine est produite même en présence de lumière nocturne, il est nécessaire que ces récepteurs soient bien synthétisés dans les divers tissus afin qu'elle puisse assurer ses fonctions physiologiques. Chez les vertébrés, les différents types de récepteurs membranaires à la mélatonine sont localisés dans de très nombreux tissus (Slominski et al. 2012). Leurs expressions varient en fonction des tissus mais présentent également une rythmicité circadienne. Nos résultats montrent que l'expression de Mel1a augmente au cours du temps pour *B. bufo*. Mel1a est trop faiblement exprimée chez *R. dalmatina* pour être quantifiable. Les profils d'expression de Mel1b entre les 2 espèces sont différents. Chez *B. bufo*, la lumière nocturne de 5 lux ne modifie pas l'expression de Mel1b alors que chez *R. dalmatina*, l'expression de Mel1b augmente chez les individus « contrôle » et reste stable chez les individus exposés à la lumière. Pour finir, chez *B. bufo*, l'expression de Mel1c est constante quelque que soit l'heure ou le traitement lumineux. En revanche, l'expression de Mel1c chez *R. dalmatina* présente un profil rythmique chez les individus contrôle avec une augmentation en fin de nuit alors que celle-ci reste constante chez les individus exposés à la lumière nocturne.

Selon plusieurs études, l'expression de ces récepteurs pourrait être régulée par la mélatonine elle-même (Gauer et al. 1993, Guerrero et al. 2000, Jones et al. 2012, Venegas et al. 2013). Dans divers tissus du rat et du diamant mandarin, l'expression de Mel1a est plus élevée en fin de nuit ou en début de journée. La mélatonine agirait comme un inhibiteur de l'expression de Mel1a. Cependant, le pic de mélatonine au cours de la nuit semble être une condition préalable aux variations de l'expression de Mel1a (Guerrero et al. 2000). L'absence du pic nocturne de mélatonine plasmatique, suite à une pinéalectomie chez le rat, empêche l'augmentation de l'expression de Mel1a. Par ailleurs, Jones et coll. (2012) montrent que l'expression de Mel1b est plus élevée en début de nuit chez le diamant mandarin et suggère ainsi que l'expression rythmique des récepteurs reflèterait la mélatonine circulante pour cette espèce. Ce mécanisme pourrait être celui qui régule l'expression de Mel1c chez *R. dalmatina*, bien que la suppression du pic nocturne de la mélatonine plasmatique par la pollution lumineuse reste à être prouvée pour cette espèce.

Cette étude est une des premières s'intéressant à l'effet de la pollution lumineuse sur la production de la mélatonine chez les amphibiens et comparant 2 espèces phylogénétiquement différentes mais appartenant au même ordre. Les publications antérieures, qui s'intéressaient à l'impact de la lumière sur la production de mélatonine, étaient centrées sur la longueur de la photopériode ou étaient réalisées sous des conditions de lumière constante. Bien que nous ne puissions pas affirmer que la lumière nocturne à 5 lux soit suffisante pour altérer la production de mélatonine chez nos 2 espèces d'amphibiens, nous avons pu mettre en évidence des réponses différentes dans l'expression des

gènes, impliqués dans sa synthèse ou de ses récepteurs, entre les 2 espèces. Les effets physiologiques ou comportementaux qui en découlent pourraient être différents en fonction de l'espèce et de sa sensibilité à la lumière.

Conclusion générale et perspectives

1. Conclusion

1.1. Mesurer la pollution lumineuse

La pollution lumineuse est un phénomène d'origine anthropique associé au développement de l'urbanisation et des activités humaines qui ne cesse de s'étendre à travers le monde, impactant tous les écosystèmes. Le niveau de lumière ambiante est l'un des facteurs majeurs qui régule de nombreux phénomènes biologiques. Toute altération des cycles naturels de la lumière risque d'avoir une incidence sur les organismes. En effet, l'impact négatif de la pollution lumineuse sur la biodiversité est largement documenté. En revanche, les zones humides d'eaux douces, véritables réservoirs de la biodiversité, ont été très peu étudiées dans ce contexte de pollution lumineuse. Or, plus de 50% de la population mondiale vit dans un rayon de moins de 3 km autour d'un plan d'eau de surface (rivières ou lacs). Notre étude des niveaux de lumière artificielle à l'échelle d'une zone humide, la Dombes, est une des premières réalisées. Pour cela, nous avons opté pour 2 types de mesures. Des mesures de radiances par satellite (VIIRS DNB) et des mesures réalisées en continu au sol. Nous avons pu ainsi démontrer que l'ensemble de la Dombes est soumise à la pollution lumineuse. L'élément le plus important qui ressort de cette étude est que la présence de nuage augmente considérablement les niveaux de lumière artificielle nocturne et altère d'autant plus les patrons de variations de la luminosité naturelle. Ainsi, les cartes de simulation de pollution lumineuse réalisées uniquement avec les données satellites de radiance, réalisées par ciel clair, sous-estiment les niveaux de lumière artificielle nocturne que peuvent recevoir les organismes. En combinant, les données satellites et les mesures au sol, des cartes de simulation de pollution lumineuse peuvent être établies en fonction de différentes conditions météorologiques, comme par exemple, ciel dégagé versus ciel couvert. Dans notre étude, le ciel est 12 fois plus lumineux qu'un ciel naturel sur 4,2% du territoire de la Dombes par ciel clair. Or, ce chiffre augmente de manière impressionnante jusqu'à 73% du territoire par ciel couvert.

En outre, les conditions météorologiques fluctuent selon les saisons. En fonction des périodes de l'année, les patrons de variations de la luminosité naturelle pourraient être plus ou moins altérés. Or, certaines périodes sont primordiales pour la faune tel que le printemps dans les zones tempérées, période où la plupart des animaux se reproduisent. De surcroit, en combinant les cartes de radiances et des mesures de lumière au sol, cela peut s'avérer être extrêmement pertinent à utiliser sous certains climats. Ainsi, les régions ayant un nombre élevé de jour avec une couverture nuageuse importante (par exemple, le climat équatorial ou le climat océanique) sont plus affectées par la pollution lumineuse que les régions arides, pour une même valeur de radiance prise par les satellites. Actuellement, les conditions météorologiques ne sont pas prises en compte dans les études sur la pollution lumineuse à grande échelle. Avec le développement récent d'appareils de mesure en continu de la lumière nocturne, cette approche pourrait se généraliser.

Concernant les études sur la pollution lumineuse à visée écologique, il serait peut-être plus pertinent d'opérer avec des cartes indiquant les amplitudes ou une médiane des niveaux de lumière artificielle nocturne mesurés sur plusieurs semaines, plutôt que la valeur par temps clair. Par exemple, pour un

même niveau de pollution lumineuse sur les cartes par ciel clair, nous pouvons supposer que si nous mesurons le niveau médian de pollution lumineuse au nord et au sud de la France au cours d'une année, le nord de la France aura un niveau lumineux nocturne plus élevé qu'au sud en raison du nombre de jour couvert plus élevé.

1.2. Etude de la synthèse de mélatonine

L'étude des effets de la pollution lumineuse sur les organismes en conditions contrôlées reste essentielle pour évaluer les modifications physiologiques, et aussi préciser les mécanismes impliqués. Une molécule pléiotrope, la mélatonine dont une des fonctions principales est d'être un signal d'obscurité chez les vertébrés, retient tout particulièrement l'attention de la communauté scientifique. Or, sa synthèse est altérée par la pollution lumineuse dans de nombreux taxons (Grubisic et al. 2019). Aucune étude n'avait été menée jusqu'à présent chez les amphibiens alors que ce groupe contient un très grand nombre d'espèces nocturnes, particulièrement exposées à la pollution lumineuse.

Afin de déterminer comment la pollution lumineuse altère la production de la mélatonine chez les amphibiens, nous avons élevé des têtards de 2 espèces, *R. dalmatina* et *B. bufo*. Après éclosion, un groupe était soumis pendant 23 jours à la lumière nocturne (5lux), ce qui correspond à un éclairage péri-urbain. Nous avons opté pour le dosage des ARNm par qPCR des 2 enzymes impliquées la synthèse de mélatonine dans la tête des têtards des 2 espèces. Nous avons également dosé les taux d'expression des récepteurs de la mélatonine.

Mais contrairement à notre hypothèse de travail, nous n'avons pas pu observer d'augmentation de l'expression des enzymes AANAT et ASMT au cours de la nuit. Le traitement lumineux n'a pas eu d'effet chez *R. dalmatina*. Cependant, nous avons observé une augmentation de l'expression de l'AANAT pour *B. bufo*. Le traitement lumineux n'a pas d'effet sur le taux d'expression de l'ASMT. En ce qui concerne les récepteurs, nos résultats montrent que les profils d'expression sont différents entre les 2 espèces. Chez *B. bufo*, la lumière artificielle nocturne de 5 lux ne modifie pas l'expression de Mel1b, ni de Mel1c. En revanche, pour *R. dalmatina*, l'expression de Mel1b augmente au cours du temps et l'expression de Mel1c présente un profil rythmique chez les individus contrôle. Par contre, chez les individus exposés à la pollution lumineuse, les taux d'expression de Mel1b et Mel1c restent stables au cours de la journée. Nous émettons plusieurs hypothèses pour expliquer nos résultats. Il est possible, pour nos 2 espèces d'amphibiens, que la régulation de l'AANAT ou celle de l'ASMT ne soit pas transcriptionnelle mais qu'elle soit principalement contrôlée post-traductionnellement comme chez le singe, *Macaca mulatta* (Coon et al. 2002). L'autre explication possible de nos résultats est que la mélatonine n'est pas produite uniquement dans la rétine ou la glande pinéale chez les amphibiens, mais dans d'autres tissus ou organes de la tête des têtards. Cela pourrait avoir masqué le pic attendu de production nocturne des ARNm de l'AANAT de ces deux organes.

Nous ne pouvons pas affirmer que la lumière nocturne à 5 lux soit suffisante pour altérer la production de mélatonine pendant la nuit en raison de l'absence de rythme circadien dans l'expression d'AANAT et d'ASMT chez nos individus contrôles pour de nos 2 espèces d'amphibiens. Cependant, chez *B. Bufo*, des effets ont été montrés sur le métabolisme et la reproduction lorsque ceux-ci étaient exposés au même niveau ou à un niveau inférieur de lumière pendant la nuit (Touzot et al. 2019, Touzot et al. 2020), ce qui indique cette espèce est sensible à la pollution lumineuse.

Nous avons pu mettre en évidence des réponses différentes dans l'expression des gènes des récepteurs entre les 2 espèces lorsqu'elles sont soumises à la pollution lumineuse. Bien que les têtards de ces 2 espèces vivent dans des biotopes semblables et qu'ils ont un cycle de développement similaire, les effets physiologiques qui découlent d'une exposition à la lumière nocturne pourraient être différents entre les 2 espèces.

Le dosage direct de la mélatonine pourrait nous permettre de vérifier si les têtards de ces 2 espèces présentent une augmentation des niveaux de mélatonine pendant la nuit malgré l'absence de rythme dans l'expression des gènes AANAT et ASMT. Par la suite, nous pourrions étudier l'effet de la pollution lumineuse sur la production de la mélatonine. Cependant, nous avons essayé de réaliser des dosages de la mélatonine par HPLC ou avec un kit ELISA mélatonine commercial sur des têtards élevés dans les mêmes conditions expérimentales, sans obtenir de résultats exploitables. Le dosage de la mélatonine sur des organismes non modèles ou dans les tissus reste compliqué à l'heure actuelle, en raison des quantités de mélatonine extrêmement faibles et des problèmes liés à l'extraction.

2. Perspectives

Dans la continuité de cette étude et afin de compléter nos résultats concernant la mesure de la pollution lumineuse *in natura*, nous souhaitons renouveler la campagne de mesure de la lumière nocturne sur la Dombes sur plusieurs mois afin de couvrir toutes les conditions météorologiques et lunaires. Par exemple, dans notre étude, nous n'avons pas les conditions pleine lune et un ciel dégagé réunies. De plus, nous pouvons nous attendre à des niveaux d'altération différents des patrons naturels de luminosité du ciel en fonction des saisons. Posch et al. (2018) ont mis en évidence que les mois d'hiver étaient plus lumineux que les mois d'été. Pour améliorer la compréhension de l'influence de la météo locale sur l'intensité de la pollution lumineuse, certains sites pourraient être équipés d'un radiomètre infrarouge afin d'obtenir des informations sur la couverture nuageuse en continu. Actuellement, les données en libre accès sur le site de météo France ne sont pas assez précises pour étudier en détails l'impact de la couverture nuageuse sur l'ensemble du territoire. Les stations météorologiques ne sont pas assez nombreuses. En effet, les données météorologiques utilisées dans cette étude proviennent d'une seule station météorologique se situant à une distance comprise entre 18 et 47 km selon les sites. De surcroît, les données sur les nuages ne sont prises que toutes les 3h. Ce qui fait que nous avons uniquement 3 mesures au cours de la nuit. En équipant certains sites de radiomètres infrarouges autonomes, avec différents niveaux de pollution lumineuse, cela nous permettrait de réaliser une étude beaucoup plus précise sur la manière dont la couverture nuageuse, plus ou moins dense, modifie la luminosité nocturne qu'elle soit d'origine naturelle ou artificielle. Un suivi sur du moyen ou du long terme pourrait être également envisagé afin de suivre l'évolution de la pollution lumineuse sur cette partie de territoire.

Un autre aspect de la pollution lumineuse que nous aimerions développer également est la mesure de la lumière directe émise par le trafic routier qui, sur une partie du territoire se cumule avec l'effet du halo. Le réseau routier français représente plus d'un million de km de route, soit en moyenne 2 km de route par km². Or, les phares des véhicules, voitures et camions, projettent la lumière à l'horizontale sur plusieurs centaines de mètres. La lumière émise par le trafic routier est donc dépendante du type de route et de l'importance du trafic. Cependant, aucune étude n'a encore été

réalisée afin de déterminer les niveaux de lumière émis par les véhicules, ni jusqu'à quelle distance elle est perceptible par les organismes. De plus, il n'est pas nécessaire que le flux de véhicule soit continu pour impacter les organismes. Par exemple, il a été montré que chez les hommes, une exposition à des flashes de 2 ms par minute pendant 1 heure suffit à altérer la production de mélatonine (Zeitzer et al. 2011). Chez les amphibiens, à l'approche d'un véhicule, ceux-ci s'immobilisent, augmentant à la fois la durée d'exposition à la lumière ainsi que le risque de collision (Mazerolle et al. 2005). En réalisant des mesures de lumière à différentes distances d'axes routiers variés (autoroute, route nationale ou départementale) tout en mesurant le flux de véhicules, cela permettrait de simuler des cartes de pollution lumineuse liée au trafic routier, en complément des cartes sur le halo lumineux.

Enfin, il apparaît important d'étudier la composition spectrale de la lumière artificielle nocturne. Au cours des 2 dernières décennies, les progrès dans la technologie d'éclairage public ont conduit à l'adoption croissante de sources lumineuses à spectre plus large telles que les lampes à sodium à haute pression (Fig. 35), les LED ou les lampes aux halogénures métalliques (Elvidge et al. 2010). Ces signatures spectrales diffèrent de celles de la lumière naturelle du soleil, du crépuscule, du clair de lune et des étoiles. Cela peut entraîner des effets sur la biodiversité. De fait, les lampes à large spectre telles que les LED affectent potentiellement plus d'espèces ou de fonctions biologiques que les lampes à spectre étroit (Davies et al. 2013). Par ailleurs, la voie de synthèse la mélatonine présente une sensibilité maximale dans les ondes du bleu

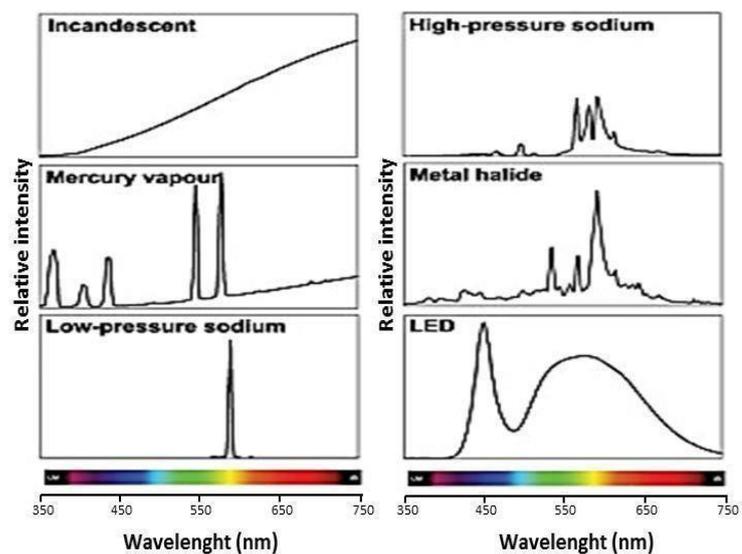


Figure 35 : Tableau comparatif des domaines d'émission de différents types de lampes. Source : Gaston et al. (2013)

(Grubisic et al. 2019). Du fait de leur forte proportion en bleu, les LED présentent donc un potentiel de suppression de la mélatonine plus élevé que les lampes à sodium basse pression. L'utilisation croissante d'une technologie d'éclairage riche en lumière de longueur d'onde courte pose donc des problèmes écologiques importants pour la faune et des problèmes de santé chez les humains. En outre, la faible consommation électrique associée à l'utilisation des LEDs conduit de nombreuses communes à augmenter le nombre de point lumineux, et *in fine* la pollution lumineuse. Étant donné que les capteurs Jasondark sont sensibles à l'extrémité bleue du spectre, nous pouvons équiper les capteurs de filtres photométriques standards (rouge, vert, bleu). Une telle configuration nous permettrait d'étudier la variabilité temporelle et spatiale de la luminosité du ciel et d'enregistrer en même temps d'éventuels changements de couleur du ciel nocturne.

En ce qui concerne la suite du projet sur les effets de la pollution lumineuse chez les amphibiens, et bien que les résultats obtenus ne nous permettent pas de conclure à l'existence d'un rythme marqué de la synthèse de la mélatonine, grâce à la mise au point des méthodes utilisées dans cette étude,

nous prévoyons d'étudier l'expression des gènes de l'horloge circadienne (BMAL1, CLOCK, Per1, Per2 et CRY) sur les mêmes échantillons. Chez les vertébrés, l'horloge circadienne centrale est principalement régulée par les cycles de lumière/obscurité. La perturbation de l'expression diurne des gènes d'horloge par la lumière artificielle nocturne peut ainsi entraîner une désynchronisation des horloges centrales et périphériques, contribuant à une désynchronisation des autres rythmes biologiques qui en dépendent, tels que le métabolisme ou la synthèse d'hormone et, *in fine*, altérer la fitness des individus. Par exemple, chez les hamsters de Sibérie exposés à 5 lux pendant la nuit, Bedrosian et al. (2013) ont montré que les profils d'expression des gènes horloge dans le NSC et l'hippocampe ont été modifiés.

Au sein du programme de recherche sur la pollution lumineuse mené au LEHNA, nous avons déjà pu mettre en évidence des effets de la pollution lumineuse sur l'activité, le métabolisme, le comportement de la reproduction et le succès de fertilisation des œufs chez *B. bufo* (Touzot et al. 2019, Touzot et al. 2020). Nous souhaitons également réaliser d'autres études sur d'autres fonctions physiologiques telles que l'immunité ou le stress oxydant chez les têtards d'amphibiens ou chez des adultes. Il nous paraît également important de développer des études avec une intensité lumineuse nocturne correspondant à celle résultant du halo lumineux (environ 0,1 lux). En effet, très peu d'étude ont été menées avec des valeurs aussi basses alors que les espaces naturels sont principalement soumis au halo lumineux de cette intensité plutôt qu'à la lumière directe émise par l'éclairage public.

Les 2 parties de ce rapport sont 2 types de données distincts nécessaires pour mettre en place des stratégies de conservation de la biodiversité. Dans la première partie, nous mesurons un facteur d'origine anthropique, la lumière nocturne artificielle, qui a des conséquences sur la biodiversité. Dans la 2^{ème} partie, nous cherchons à mettre en évidence un effet physiologique de ce facteur sur des espèces protégées. En combinant les cartes de pollution lumineuse avec des études sur la sensibilité de différents organismes à ce type de pollution ou des cartes de répartition des espèces, nous pourrions estimer les risques liés à la pollution lumineuse au niveau d'un paysage sur différents groupes taxonomiques. Par la suite, cela permettrait de mettre en place des stratégies afin de limiter son impact (Fig. 36). Ce type d'étude peut se réaliser à différentes échelles (locale, régionale ou nationale). Ainsi, en utilisant des cartes de radiance par satellite et des données de répartition de 4 espèces de chauves-souris sur le territoire français, Azam et al. (2016) ont pu mettre en évidence que la pollution lumineuse a un effet négatif sur la

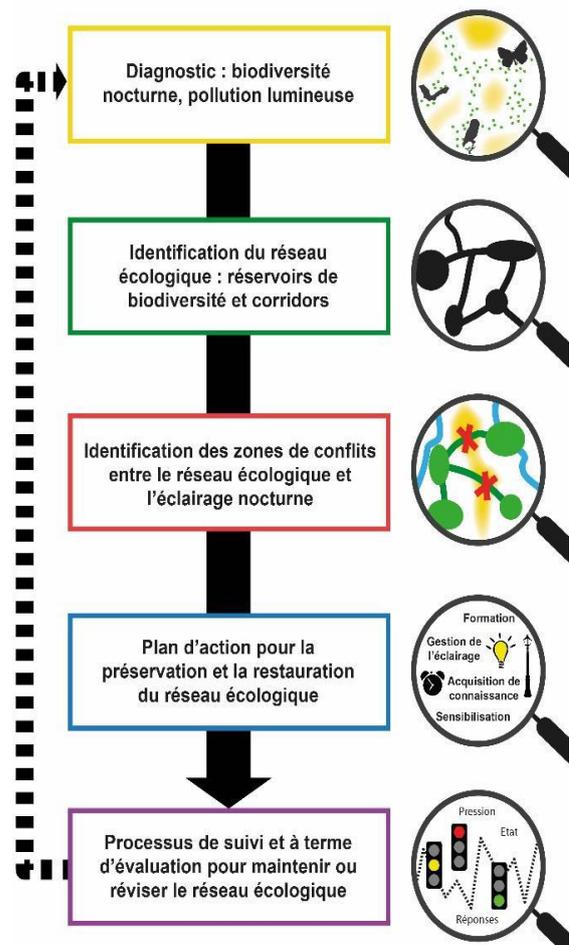


Figure 36 : Différentes possibilités de prendre en compte la pollution lumineuse dans une démarche de Trame verte et bleue. Source : Sordello et al. (2018)

répartition des chauves-souris plus faible que l'agriculture intensive mais qu'elle a un effet négatif plus fort que la proportion de surfaces imperméables.

Grace aux avancées technologiques et au nombre croissant d'études sur le sujet, il est aujourd'hui d'une importance capitale de caractériser la contribution de la pollution lumineuse sur la perte de biodiversité au même titre que d'autres facteurs anthropiques tels que la perte et la fragmentation de l'habitat ou les changements climatiques.

Bibliographie

1. Acuña-Castroviejo, D., G. Escames, J. León, A. Carazo, and H. Khaldy. 2003. Mitochondrial regulation by melatonin and its metabolites. Pages 549-557 *Developments in Tryptophan and Serotonin Metabolism*. Springer.
2. Acuña-Castroviejo, D., G. Escames, C. Venegas, M. E. Díaz-Casado, E. Lima-Cabello, L. C. López, S. Rosales-Corral, D.-X. Tan, and R. J. Reiter. 2014. Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cellular and molecular life sciences* **71**:2997-3025.
3. Acuña-Castroviejo, D., M. Martín, M. Macías, G. Escames, J. León, H. Khaldy, and R. J. Reiter. 2001. Melatonin, mitochondria, and cellular bioenergetics. *J Pineal Res* **30**:65-74.
4. Albarran, M., S. Lopez-Burillo, M. Pablos, R. J. Reiter, and M. T. Agapito. 2001. Endogenous rhythms of melatonin, total antioxidant status and superoxide dismutase activity in several tissues of chick and their inhibition by light. *J Pineal Res* **30**:227-233.
5. Alonzo-Gómez, A., N. De Pedro, B. Gancedo, M. Alonso-Bedate, A. Valenciano, and M. Delgado. 1994. Ontogeny of ocular serotonin N-acetyltransferase activity daily rhythm in four anuran species. *Gen Comp Endocrinol* **94**:357-365.
6. Arendt, J. 1998. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Rev Reprod* **3**:13-22.
7. Aschoff, J. 1960. Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. Pages 11-28 *in Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
8. Aubrecht, C., C. Elvidge, T. Longcore, C. Rich, J. Safran, A. Strong, C. Eakin, K. Baugh, B. Tuttle, and A. Howard. 2008. A global inventory of coral reef stressors based on satellite observed nighttime lights. *Geocarto International* **23**:467-479.
9. Aubrecht, T. G., Z. M. Weil, and R. J. Nelson. 2014. Dim light at night interferes with the development of the short-day phenotype and impairs cell-mediated immunity in Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol* **321**:450-456.
10. Azam, C., I. Le Viol, J.-F. Julien, Y. Bas, and C. Kerbiriou. 2016. Disentangling the relative effect of light pollution, impervious surfaces and intensive agriculture on bat activity with a national-scale monitoring program. *Landscape Ecology* **31**:2471-2483.
11. Back, K., D. X. Tan, and R. J. Reiter. 2016. Melatonin biosynthesis in plants: multiple pathways catalyze tryptophan to melatonin in the cytoplasm or chloroplasts. *J Pineal Res* **61**:426-437.
12. Baker, P. C., W. B. Quay, and J. Axelrod. 1965. Development of hydroxyindole-O-methyl transferase activity in eye and brain of the amphibian, *Xenopus laevis*. *Life Sci* **4**:1981-1987.
13. Balian, E. V., H. Segers, K. Martens, and C. Lévêque. 2007. The freshwater animal diversity assessment: an overview of the results. Pages 627-637 *Freshwater animal diversity assessment*. Springer.
14. Bará, S. 2016. Anthropogenic disruption of the night sky darkness in urban and rural areas. *Royal Society Open Science* **3**:160541.
15. Barlow-Walden, L., R. Reiter, M. Abe, M. Pablos, A. Menendez-Pelaez, L.-D. Chen, and B. Poeggeler. 1995. Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. *Neurochemistry International* **26**:497-502.
16. Bayarri, M., J. Madrid, and F. Sánchez-Vázquez. 2002. Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. *J Pineal Res* **32**:34-40.

17. Bedrosian, T., A. Galan, C. Vaughn, Z. M. Weil, and R. J. Nelson. 2013. Light at night alters daily patterns of cortisol and clock proteins in female Siberian hamsters. *J Neuroendocrinol* **25**:590-596.
18. Bedrosian, T. A., L. K. Fonken, J. C. Walton, and R. J. Nelson. 2011. Chronic exposure to dim light at night suppresses immune responses in Siberian hamsters. *Biol Lett* **7**:468-471.
19. Bell-Pedersen, D., V. M. Cassone, D. J. Earnest, S. S. Golden, P. E. Hardin, T. L. Thomas, and M. J. Zoran. 2005. Circadian rhythms from multiple oscillators: lessons from diverse organisms. *Nature Reviews Genetics* **6**:544-556.
20. Bennie, J., T. W. Davies, D. Cruse, and K. J. Gaston. 2016. Ecological effects of artificial light at night on wild plants. *Journal of Ecology* **104**:611-620.
21. Bennie, J., T. W. Davies, J. P. Duffy, R. Inger, and K. J. Gaston. 2014. Contrasting trends in light pollution across Europe based on satellite observed night time lights. *Sci Rep* **4**:3789.
22. Bennie, J., J. P. Duffy, T. W. Davies, M. E. Correa-Cano, and K. J. Gaston. 2015. Global Trends in Exposure to Light Pollution in Natural Terrestrial Ecosystems. *Remote Sensing* **7**:2715-2730.
23. Berson, D. M., F. A. Dunn, and M. Takao. 2002. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science* **295**:1070-1073.
24. Bertolo, A., R. Binotto, S. Ortolani, and S. Sapienza. 2019. Measurements of Night Sky Brightness in the Veneto Region of Italy: Sky Quality Meter Network Results and Differential Photometry by Digital Single Lens Reflex. *Journal of Imaging* **5**.
25. Brainard, G. C., B. A. Richardson, L. J. Petterborg, and R. J. Reiter. 1982. The effect of different light intensities on pineal melatonin content. *Brain Res* **233**:75-81.
26. Brüning, A., F. Hölker, S. Franke, W. Kleiner, and W. Kloas. 2016. Impact of different colours of artificial light at night on melatonin rhythm and gene expression of gonadotropins in European perch. *Science of the Total Environment* **543**:214-222.
27. Bruning, A., F. Holker, S. Franke, T. Preuer, and W. Kloas. 2015. Spotlight on fish: light pollution affects circadian rhythms of European perch but does not cause stress. *Sci Total Environ* **511**:516-522.
28. Brüning, A., F. Hölker, and C. Wolter. 2011. Artificial light at night: implications for early life stages development in four temperate freshwater fish species. *Aquatic Sciences* **73**:143-152.
29. Brüning, A., W. Kloas, T. Preuer, and F. Hölker. 2018. Influence of artificially induced light pollution on the hormone system of two common fish species, perch and roach, in a rural habitat. *Conserv Physiol* **6**:coy016.
30. Bubenik, G., G. Brown, I. Uhlir, and L. Grotta. 1974. Immunohistological localization of N-acetyldolealkylamines in pineal gland, retina and cerebellum. *Brain Res* **81**:233-242.
31. Bubenik, G. A. and S. F. Pang. 1997. Melatonin levels in the gastrointestinal tissues of fish, amphibians, and a reptile. *Gen Comp Endocrinol* **106**:415-419.
32. Buchanan, B. W. 2006. Observed and potential effects of artificial night lighting on anuran amphibians. *Ecological consequences of artificial night lighting*:192-220.
33. Cardinali, D. P. and J. M. Rosner. 1971. Retinal localization of the hydroxyindole-O-methyl transferase (HIOMT) in the rat. *Endocrinology* **89**:301-303.
34. Carrillo-Vico, A., J. M. Guerrero, P. J. Lardone, and R. J. Reiter. 2005. A review of the multiple actions of melatonin on the immune system. *Endocrine* **27**:189-200.

35. Carrillo-Vico, A., P. J. Lardone, N. Alvarez-Sanchez, A. Rodriguez-Rodriguez, and J. M. Guerrero. 2013. Melatonin: buffering the immune system. *Int J Mol Sci* **14**:8638-8683.
36. Ceola, S., F. Laio, and A. Montanari. 2015. Human-impacted waters: New perspectives from global high-resolution monitoring. *Water Resources Research* **51**:7064-7079.
37. Cinzano, P., F. Falchi, and C. D. Elvidge. 2001. The first world atlas of the artificial night sky brightness. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society* **328**:689-707.
38. Cipolla-Neto, J., F. Amaral, S. Afeche, D. Tan, and R. J. Reiter. 2014. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *J Pineal Res* **56**:371-381.
39. Clarke, J. A. 1983. Moonlight's influence on predator/prey interactions between short-eared owls (*Asio flammeus*) and deermice (*Peromyscus maniculatus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*:205-209.
40. Colman, L. P., P. H. Lara, J. Bennie, A. C. Broderick, J. R. de Freitas, A. Marcondes, M. J. Witt, and B. J. Godley. 2020. Assessing coastal artificial light and potential exposure of wildlife at a national scale: the case of marine turtles in Brazil. *Biodiversity and Conservation*.
41. Confente, F., M. C. Rendón, L. Besseau, J. Falcón, and J. A. Muñoz-Cueto. 2010. Melatonin receptors in a pleuronectiform species, *Solea senegalensis*: Cloning, tissue expression, day-night and seasonal variations. *Gen Comp Endocrinol* **167**:202-214.
42. Coon, S. L., E. del Olmo, W. S. Young III, and D. C. Klein. 2002. Melatonin synthesis enzymes in *Macaca mulatta*: focus on arylalkylamine N-acetyltransferase (EC 2.3. 1.87). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **87**:4699-4706.
43. d'Istria, M., P. Monteleone, I. Serino, and G. Chieffi. 1994. Seasonal variations in the daily rhythm of melatonin and NAT activity in the Harderian gland, retina, pineal gland, and serum of the green frog, *Rana esculenta*. *Gen Comp Endocrinol* **96**:6-11.
44. Da Silva, A. and B. Kempnaers. 2017. Singing from North to South: Latitudinal variation in timing of dawn singing under natural and artificial light conditions. *Journal of Animal Ecology* **86**:1286-1297.
45. Daly, M., P. R. Behrends, M. I. Wilson, and L. F. Jacobs. 1992. Behavioural modulation of predation risk: moonlight avoidance and crepuscular compensation in a nocturnal desert rodent, *Dipodomys merriami*. *Animal behaviour* **44**:1-9.
46. Danilevskii, A. S. 1965. Photoperiodism and seasonal development of insects. *Photoperiodism and seasonal development of insects*.
47. Davies, T. W., J. Bennie, and K. J. Gaston. 2012. Street lighting changes the composition of invertebrate communities. *Biol Lett* **8**:764-767.
48. Davies, T. W., J. Bennie, R. Inger, N. H. De Ibarra, and K. J. Gaston. 2013. Artificial light pollution: are shifting spectral signatures changing the balance of species interactions? *Glob Chang Biol* **19**:1417-1423.
49. Davies, T. W., J. P. Duffy, J. Bennie, and K. J. Gaston. 2014. The nature, extent, and ecological implications of marine light pollution. *Frontiers in Ecology and the Environment* **12**:347-355.
50. Davies, T. W., J. P. Duffy, J. Bennie, and K. J. Gaston. 2016. Stemming the tide of light pollution encroaching into marine protected areas. *Conservation Letters* **9**:164-171.
51. Dawson, A., V. M. King, G. E. Bentley, and G. F. Ball. 2001. Photoperiodic control of seasonality in birds. *J Biol Rhythms* **16**:365-380.

52. De Almeida, E. A., P. Di Mascio, T. Harumi, D. W. Spence, A. Moscovitch, R. Hardeland, D. P. Cardinali, G. M. Brown, and S. Pandi-Perumal. 2011. Measurement of melatonin in body fluids: standards, protocols and procedures. *Child's Nervous System* **27**:879-891.
53. de Jong, M., L. Jeninga, J. Q. Ouyang, K. van Oers, K. Spoelstra, and M. E. Visser. 2016. Dose-dependent responses of avian daily rhythms to artificial light at night. *Physiol Behav* **155**:172-179.
54. De Jong, M., J. Q. Ouyang, A. Da Silva, R. H. van Grunsven, B. Kempenaers, M. E. Visser, and K. Spoelstra. 2015. Effects of nocturnal illumination on life-history decisions and fitness in two wild songbird species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **370**:20140128.
55. Delgado, M. and B. Vivien-Roels. 1989. Effect of environmental temperature and photoperiod on the melatonin levels in the pineal, lateral eye, and plasma of the frog, *Rana perezi*: importance of ocular melatonin. *Gen Comp Endocrinol* **75**:46-53.
56. Desouhant, E., E. Gomes, N. Mondy, and I. Amat. 2019. Mechanistic, ecological, and evolutionary consequences of artificial light at night for insects: review and prospective. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* **167**:37-58.
57. Dhorne-Pollet, S., A. Thelie, and N. Pollet. 2013. Validation of novel reference genes for RT-qPCR studies of gene expression in *Xenopus tropicalis* during embryonic and post-embryonic development. *Developmental Dynamics* **242**:709-717.
58. Dodt, E. 1973. The parietal eye (pineal and parietal organs) of lower vertebrates. Pages 113-140 *Visual Centers in the Brain*. Springer.
59. Dodt, E. and H. Meissl. 1982. The pineal and parietal organs of lower vertebrates. *Experientia* **38**:996-1000.
60. Dominoni, D., M. Quetting, and J. Partecke. 2013a. Artificial light at night advances avian reproductive physiology. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **280**:20123017.
61. Dominoni, D. M., W. Goymann, B. Helm, and J. Partecke. 2013b. Urban-like night illumination reduces melatonin release in European blackbirds (*Turdus merula*): implications of city life for biological time-keeping of songbirds. *Front Zool* **10**:60.
62. Dominoni, D. M., J. Kjellberg Jensen, M. de Jong, M. E. Visser, and K. Spoelstra. 2019. Artificial light at night, in interaction with spring temperature, modulates timing of reproduction in a passerine bird. *Ecological applications*.
63. Dominoni, D. M. and R. J. Nelson. 2018. Artificial light at night as an environmental pollutant: An integrative approach across taxa, biological functions, and scientific disciplines. *J Exp Zool A Ecol Integr Physiol* **329**:387.
64. Doyle, S. and M. Menaker. 2007. Circadian photoreception in vertebrates. Pages 499-508 *in* Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
65. Dubocovich, M. L. and M. Markowska. 2005. Functional MT 1 and MT 2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine* **27**:101-110.
66. Dudgeon, D., A. H. Arthington, M. O. Gessner, Z.-I. Kawabata, D. J. Knowler, C. Lévêque, R. J. Naiman, A.-H. Prieur-Richard, D. Soto, and M. L. Stiassny. 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological reviews* **81**:163-182.
67. Dunlap, J. C. 1999. Molecular bases for circadian clocks. *Cell* **96**:271-290.

68. Elvidge, C., K. Baugh, V. Hobson, E. Kihn, H. Kroehl, E. Davis, and D. Cocero. 1997. Satellite inventory of human settlements using nocturnal radiation emissions: a contribution for the global toolchest. *Glob Chang Biol* **3**:387-395.
69. Elvidge, C. D., K. E. Baugh, J. B. Dietz, T. Bland, P. C. Sutton, and H. W. Kroehl. 1999. Radiance calibration of DMSP-OLS low-light imaging data of human settlements. *Remote Sensing of Environment* **68**:77-88.
70. Elvidge, C. D., M. L. Imhoff, K. E. Baugh, V. R. Hobson, I. Nelson, J. Safran, J. B. Dietz, and B. T. Tuttle. 2001. Night-time lights of the world: 1994–1995. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing* **56**:81-99.
71. Elvidge, C. D., D. M. Keith, B. T. Tuttle, and K. E. Baugh. 2010. Spectral identification of lighting type and character. *Sensors* **10**:3961-3988.
72. Falchi, F. and P. Cinzano. 1998. Maps of artificial sky brightness and upward emission in Italy from DMSP satellite measurements. arXiv preprint astro-ph/9811234.
73. Falchi, F., P. Cinzano, D. Duriscoe, C. C. M. Kyba, C. D. Elvidge, K. Baugh, B. A. Portnov, N. A. Rybnikova, and R. Furgoni. 2016. The new world atlas of artificial night sky brightness. *Science Advances* **2**.
74. Falcón, J., L. Besseau, M. Fuentès, S. Sauzet, E. Magnanou, and G. Boeuf. 2009. Structural and functional evolution of the pineal melatonin system in vertebrates. *Ann N Y Acad Sci* **1163**:101-111.
75. Fischer, T. W., A. Slominski, M. A. Zmijewski, R. J. Reiter, and R. Paus. 2008. Melatonin as a major skin protectant: from free radical scavenging to DNA damage repair. *Experimental dermatology* **17**:713-730.
76. Fonken, L. K., T. G. Aubrecht, O. H. Meléndez-Fernández, Z. M. Weil, and R. J. Nelson. 2013a. Dim light at night disrupts molecular circadian rhythms and increases body weight. *J Biol Rhythms* **28**:262-271.
77. Fonken, L. K., A. Haim, and R. J. Nelson. 2012. Dim light at night increases immune function in Nile grass rats, a diurnal rodent. *Chronobiol Int* **29**:26-34.
78. Fonken, L. K., R. A. Lieberman, Z. M. Weil, and R. J. Nelson. 2013b. Dim light at night exaggerates weight gain and inflammation associated with a high-fat diet in male mice. *Endocrinology* **154**:3817-3825.
79. Fonken, L. K. and R. J. Nelson. 2014. The effects of light at night on circadian clocks and metabolism. *Endocr Rev* **35**:648-670.
80. Fonken, L. K., Z. M. Weil, and R. J. Nelson. 2013c. Mice exposed to dim light at night exaggerate inflammatory responses to lipopolysaccharide. *Brain Behav Immun* **34**:159-163.
81. Fonken, L. K., J. L. Workman, J. C. Walton, Z. M. Weil, J. S. Morris, A. Haim, and R. J. Nelson. 2010. Light at night increases body mass by shifting the time of food intake. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**:18664-18669.
82. Foster, J. G., D. A. Algora, J. W. Brownscombe, A. J. Zolderdo, and S. J. Cooke. 2016. Consequences of different types of littoral zone light pollution on the parental care behaviour of a freshwater teleost fish. *Water, Air, & Soil Pollution* **227**:404.
83. Foster, R. G. and B. G. Soni. 1998. Extraretinal photoreceptors and their regulation of temporal physiology. *Reviews of Reproduction* **3**:145-150.
84. Galano, A., D. X. Tan, and R. J. Reiter. 2011. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *J Pineal Res* **51**:1-16.

85. Ganguly, S., S. L. Coon, and D. C. Klein. 2002. Control of melatonin synthesis in the mammalian pineal gland: the critical role of serotonin acetylation. *Cell Tissue Res* **309**:127-137.
86. Ganguly, S., J. L. Weller, A. Ho, P. Chemineau, B. Malpaux, and D. C. Klein. 2005. Melatonin synthesis: 14-3-3-dependent activation and inhibition of arylalkylamine N-acetyltransferase mediated by phosphoserine-205. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102**:1222-1227.
87. Ganong, W., M. Shepherd, J. Wall, E. Van Brunt, and M. v. Clegg. 1963. Penetration of light into the brain of mammals. *Endocrinology* **72**:962-963.
88. Garstang, R. 1986. MODEL FOR ARTIFICIAL NIGHT-SKY ILLUMINATION. *Publications of the Astronomical Society of the Pacific* **98**:364.
89. Garstang, R. 1989. Night sky brightness at observatories and sites. *Publications of the Astronomical Society of the Pacific* **101**:306.
90. Gaston, K. J., J. Bennie, T. W. Davies, and J. Hopkins. 2013. The ecological impacts of nighttime light pollution: a mechanistic appraisal. *Biological reviews* **88**:912-927.
91. Gaston, K. J., T. W. Davies, S. L. Nedelec, and L. A. Holt. 2017. Impacts of artificial light at night on biological timings. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **48**:49-68.
92. Gaston, K. J., J. P. Duffy, S. Gaston, J. Bennie, and T. W. Davies. 2014. Human alteration of natural light cycles: causes and ecological consequences. *Oecologia* **176**:917-931.
93. Gaudreau, N. and D. Boisclair. 2000. Influence of moon phase on acoustic estimates of the abundance of fish performing daily horizontal migration in a small oligotrophic lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **57**:581-590.
94. Gauer, F., M. Masson-Pevet, and P. Pevet. 1993. Melatonin receptor density is regulated in rat pars tuberalis and suprachiasmatic nuclei by melatonin itself. *Brain Res* **602**:153-156.
95. Gauer, F., M. Masson-Pevet, J. Stehle, and P. Pevet. 1994. Daily variations in melatonin receptor density of rat pars tuberalis and suprachiasmatic nuclei are distinctly regulated. *Brain Res* **641**:92-98.
96. Geronimo, R. C., E. C. Franklin, R. E. Brainard, C. D. Elvidge, M. D. Santos, R. Venegas, and C. Mora. 2018. Mapping fishing activities and suitable fishing grounds using nighttime satellite images and maximum entropy modelling. *Remote Sensing* **10**:1604.
97. Gerrish, G. A., J. G. Morin, T. J. Rivers, and Z. Patrawala. 2009. Darkness as an ecological resource: the role of light in partitioning the nocturnal niche. *Oecologia* **160**:525-536.
98. Gillespie, T. W., K. S. Willis, S. Ostermann-Kelm, T. Longcore, F. Federico, L. Lee, and G. M. MacDonald. 2017. Inventorying and monitoring nighttime light distribution and dynamics in the Mediterranean coast network of Southern California. *Natural Areas Journal* **37**:350-360.
99. Goldman, B. D. 2001. Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. *J Biol Rhythms* **16**:283-301.
100. Gosner, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* **16**:183-190.
101. Green, C. B., M.-Y. Liang, B. M. Steenhard, and J. C. Besharse. 1999. Ontogeny of circadian and light regulation of melatonin release in *Xenopus laevis* embryos. *Developmental brain research* **117**:109-116.

102. Grubisic, M., A. Haim, P. Bhusal, D. M. Dominoni, K. Gabriel, A. Jechow, F. Kupprat, A. Lerner, P. Marchant, and W. Riley. 2019. Light Pollution, Circadian Photoreception, and Melatonin in Vertebrates. *Sustainability* **11**:6400.
103. Grubisic, M., G. Singer, M. C. Bruno, R. H. van Grunsven, A. Manfrin, M. T. Monaghan, and F. Hölker. 2017. Artificial light at night decreases biomass and alters community composition of benthic primary producers in a sub-alpine stream. *Limnology and Oceanography* **62**:2799-2810.
104. Grubisic, M., G. Singer, M. C. Bruno, R. H. van Grunsven, A. Manfrin, M. T. Monaghan, and F. Hölker. 2018a. A pigment composition analysis reveals community changes in pre-established stream periphyton under low-level artificial light at night. *Limnologica* **69**:55-58.
105. Grubisic, M., R. H. van Grunsven, C. C. Kyba, A. Manfrin, and F. Hölker. 2018b. Insect declines and agroecosystems: does light pollution matter? *Annals of applied biology* **173**:180-189.
106. Guerrero, H. Y., F. Gauer, C. Schuster, P. Pevet, and M. Masson-Pevet. 2000. Melatonin regulates the mRNA expression of the mt(1) melatonin receptor in the rat Pars tuberalis. *Neuroendocrinology* **71**:163-169.
107. Han, P., J. Huang, R. Li, L. Wang, Y. Hu, J. Wang, and W. Huang. 2014. Monitoring trends in light pollution in China based on nighttime satellite imagery. *Remote Sensing* **6**:5541-5558.
108. Hanel, A., T. Posch, S. J. Ribas, M. Aube, D. Duriscoe, A. Jechow, Z. Kollath, D. E. Lolkema, C. Moore, N. Schmidt, H. Spoelstra, G. Wuchterl, and C. C. M. Kyba. 2018. Measuring night sky brightness: methods and challenges. *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer* **205**:278-290.
109. Hardeland, R. 2008. Melatonin, hormone of darkness and more—occurrence, control mechanisms, actions and bioactive metabolites. *Cellular and molecular life sciences* **65**:2001-2018.
110. Hardeland, R. 2009. Melatonin: signaling mechanisms of a pleiotropic agent. *Biofactors* **35**:183-192.
111. Hartwig, H. and T. Van Veen. 1979. Spectral characteristics of visible radiation penetrating into the brain and stimulating extraretinal photoreceptors. *Journal of comparative physiology* **130**:277-282.
112. Hellemans, J., G. Mortier, A. De Paepe, F. Speleman, and J. Vandesompele. 2007. qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome biology* **8**:1-14.
113. Hill, D. A. 1992. The impact of noise and artificial light on waterfowl behaviour: a review and synthesis of available literature. British Trust for Ornithology.
114. Hölker, F., C. Wolter, E. K. Perkin, and K. Tockner. 2010. Light pollution as a biodiversity threat. *Trends Ecol Evol* **25**:681-682.
115. Hölker, F., C. Wurzbacher, C. Weißenborn, M. T. Monaghan, S. I. Holzauer, and K. Premke. 2015. Microbial diversity and community respiration in freshwater sediments influenced by artificial light at night. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **370**:20140130.
116. Horning, M. and F. Trillmich. 1999. Lunar cycles in diel prey migrations exert a stronger effect on the diving of juveniles than adult Galapagos fur seals. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **266**:1127-1132.

117. Huether, G. 1993. The contribution of extrapineal sites of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates. *Experientia* **49**:665-670.
118. Ikeno, T., Z. M. Weil, and R. J. Nelson. 2014. Dim light at night disrupts the short-day response in Siberian hamsters. *Gen Comp Endocrinol* **197**:56-64.
119. Isorna, E., A. Guijarro, M. J. Delgado, M. Alonso-Bedate, and A. L. Alonso-Gomez. 2004. Characterization of melatonin binding sites in the brain and retina of the frog *Rana perezi*. *Gen Comp Endocrinol* **135**:259-267.
120. Jechow, A. and F. Holker. 2019. Snowglow-The Amplification of Skyglow by Snow and Clouds Can Exceed Full Moon Illuminance in Suburban Areas. *Journal of Imaging* **5**.
121. Jechow, A., F. Holker, Z. Kollath, M. O. Gessner, and C. C. M. Kyba. 2016. Evaluating the summer night sky brightness at a research field site on Lake Stechlin in northeastern Germany. *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer* **181**:24-32.
122. Jechow, A., Z. Kollath, S. J. Ribas, H. Spoelstra, F. Holker, and C. C. M. Kyba. 2017. Imaging and mapping the impact of clouds on skyglow with all-sky photometry. *Sci Rep* **7**.
123. Jechow, A., S. J. Ribas, R. C. Domingo, F. Holker, Z. Kollath, and C. C. M. Kyba. 2018. Tracking the dynamics of skyglow with differential photometry using a digital camera with fisheye lens. *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer* **209**:212-223.
124. Jiang, J., Y. He, H. Kou, Z. Ju, X. Gao, and H. Zhao. 2020. The effects of artificial light at night on Eurasian tree sparrow (*Passer montanus*): Behavioral rhythm disruption, melatonin suppression and intestinal microbiota alterations. *Ecological Indicators* **108**:105702.
125. Jones, C., G. Helfer, and R. Brandstaetter. 2012. Melatonin receptor expression in the zebra finch brain and peripheral tissues. *Chronobiol Int* **29**:189-202.
126. Jones, T. M., J. Durrant, E. B. Michaelides, and M. P. Green. 2015. Melatonin: a possible link between the presence of artificial light at night and reductions in biological fitness. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **370**.
127. Joss, J. M. 1978. A rhythm in hydroxyindole-O-methyltransferase (HIOMT) activity in the scincid lizard, *Lampropholas guichenoti*. *Gen Comp Endocrinol* **36**:521-525.
128. Kamphuis, W., C. Cailotto, F. Dijk, A. Bergen, and R. M. Buijs. 2005. Circadian expression of clock genes and clock-controlled genes in the rat retina. *Biochem Biophys Res Commun* **330**:18-26.
129. Kempnaers, B., P. Borgström, P. Loës, E. Schlicht, and M. Valcu. 2010. Artificial night lighting affects dawn song, extra-pair siring success, and lay date in songbirds. *Current biology* **20**:1735-1739.
130. Klein, D. C. 2006. Evolution of the vertebrate pineal gland: the AANAT hypothesis. *Chronobiol Int* **23**:5-20.
131. Klein, D. C., S. L. Coon, P. H. Roseboom, J. Weller, M. Bernard, J. A. Gastel, M. Zatz, P. M. Iuvone, I. R. Rodriguez, and V. Bégay. 1997. The melatonin rhythm-generating enzyme: molecular regulation of serotonin N-acetyltransferase in the pineal gland. *Recent progress in hormone research* **52**:307-357; discussion 357-308.
132. Kocifaj, M., T. Posch, and H. Solano Lamphar. 2015. On the relation between zenith sky brightness and horizontal illuminance. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society* **446**:2895-2901.
133. Kollath, Z. 2010. Measuring and modelling light pollution at the Zselic Starry Sky Park. 5th Workshop of Young Researchers in Astronomy & Astrophysics **218**.

134. Kronfeld-Schor, N., D. Dominoni, H. De la Iglesia, O. Levy, E. D. Herzog, T. Dayan, and C. Helfrich-Forster. 2013. Chronobiology by moonlight. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **280**:20123088.
135. Kummu, M., H. De Moel, P. J. Ward, and O. Varis. 2011. How close do we live to water? A global analysis of population distance to freshwater bodies. *PLoS One* **6**.
136. Kyba, C., A. Mohar, and T. Posch. 2017a. How bright is moonlight? *Astronomy & Geophysics* **58**.
137. Kyba, C. C. M., T. Kuester, A. S. de Miguel, K. Baugh, A. Jechow, F. Holker, J. Bennie, C. D. Elvidge, K. J. Gaston, and L. Guanter. 2017b. Artificially lit surface of Earth at night increasing in radiance and extent. *Science Advances* **3**.
138. Kyba, C. C. M., T. Ruhtz, J. Fischer, and F. Holker. 2011. Cloud Coverage Acts as an Amplifier for Ecological Light Pollution in Urban Ecosystems. *PLoS One* **6**.
139. Kyba, C. C. M., K. P. Tong, J. Bennie, I. Birriel, J. J. Birriel, A. Cool, A. Danielsen, T. W. Davies, P. N. den Outer, W. Edwards, R. Ehlert, F. Falchi, J. Fischer, A. Giacomelli, F. Giubbinini, M. Haaïma, C. Hesse, G. Heygster, F. Holker, R. Inger, L. J. Jensen, H. U. Kuechly, J. Kuehn, P. Langill, D. E. Lolkema, M. Nagy, M. Nievas, N. Ochi, E. Popow, T. Posch, J. Puschnig, T. Ruhtz, W. Schmidt, R. Schwarz, A. Schwoppe, H. Spoelstra, A. Tekatch, M. Trueblood, C. E. Walker, M. Weber, D. L. Welch, J. Zamorano, and K. J. Gaston. 2015. Worldwide variations in artificial skyglow. *Sci Rep* **5**.
140. Lacoëuilhe, A., N. Machon, J.-F. Julien, A. Le Bocq, and C. Kerbiriou. 2014. The influence of low intensities of light pollution on bat communities in a semi-natural context. *PLoS One* **9**.
141. Le Tallec, T., M. Théry, and M. Perret. 2016. Melatonin concentrations and timing of seasonal reproduction in male mouse lemurs (*Microcebus murinus*) exposed to light pollution. *Journal of Mammalogy* **97**:753-760.
142. Lerner, A. B., J. D. Case, Y. Takahashi, T. H. Lee, and W. Mori. 1958. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyteS1. *J Am Chem Soc* **80**:2587-2587.
143. Li, D. Y., D. G. Smith, R. Hardeland, M. Y. Yang, H. L. Xu, L. Zhang, H. D. Yin, and Q. Zhu. 2013. Melatonin receptor genes in vertebrates. *Int J Mol Sci* **14**:11208-11223.
144. Liu, C., D. R. Weaver, X. Jin, L. P. Shearman, R. L. Pieschl, V. K. Gribkoff, and S. M. Reppert. 1997. Molecular dissection of two distinct actions of melatonin on the suprachiasmatic circadian clock. *Neuron* **19**:91-102.
145. Liu, F. and T. Ng. 2000. Effect of pineal indoles on activities of the antioxidant defense enzymes superoxide dismutase, catalase, and glutathione reductase, and levels of reduced and oxidized glutathione in rat tissues. *Biochemistry and Cell Biology* **78**:447-453.
146. Liu, T. and J. Borjigin. 2005. N-acetyltransferase is not the rate-limiting enzyme of melatonin synthesis at night. *J Pineal Res* **39**:91-96.
147. Longcore, T. and C. Rich. 2004. Ecological light pollution. *Frontiers in Ecology and the Environment* **2**:191-198.
148. Lou, Q. Q., S. Cao, W. Xu, Y. F. Zhang, Z. F. Qin, and W. J. Wei. 2014. Molecular characterization and mRNA expression of ribosomal protein L8 in *Rana nigromaculata* during development and under exposure to hormones. *Journal of Environmental Sciences* **26**:2331-2339.
149. Manchester, L. C., A. Coto-Montes, J. A. Boga, L. P. H. Andersen, Z. Zhou, A. Galano, J. Vriend, D. X. Tan, and R. J. Reiter. 2015. Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. *J Pineal Res* **59**:403-419.

150. Manfrin, A., G. Singer, S. Larsen, N. Weiß, R. H. van Grunsven, N.-S. Weiß, S. Wohlfahrt, M. T. Monaghan, and F. Hölker. 2017. Artificial light at night affects organism flux across ecosystem boundaries and drives community structure in the recipient ecosystem. *Frontiers in Environmental Science* **5**:61.
151. Mauriz, J. L., P. S. Collado, C. Veneroso, R. J. Reiter, and J. Gonzalez-Gallego. 2013. A review of the molecular aspects of melatonin's anti-inflammatory actions: recent insights and new perspectives. *J Pineal Res* **54**:1-14.
152. Mazerolle, M. J., M. Huot, and M. Gravel. 2005. Behavior of amphibians on the road in response to car traffic. *Herpetologica* **61**:380-388.
153. McLay, L. K., V. Nagarajan-Radha, M. P. Green, and T. M. Jones. 2018. Dim artificial light at night affects mating, reproductive output, and reactive oxygen species in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology* **329**:419-428.
154. Menaker, M., L. Moreira, and G. Tosini. 1997. Evolution of circadian organization in vertebrates. *Brazilian journal of medical and biological research* **30**:305-313.
155. Meyer, L. A. and S. M. P. Sullivan. 2013. Bright lights, big city: influences of ecological light pollution on reciprocal stream–riparian invertebrate fluxes. *Ecological applications* **23**:1322-1330.
156. Miller, M. W. 2006. Apparent effects of light pollution on singing behavior of American robins. *The Condor* **108**:130-139.
157. Moore, C. B. and T. D. Siopes. 2000. Effects of lighting conditions and melatonin supplementation on the cellular and humoral immune responses in Japanese quail *Coturnix coturnix japonica*. *Gen Comp Endocrinol* **119**:95-104.
158. Mougeot, F. and V. Bretagnolle. 2000. Predation risk and moonlight avoidance in nocturnal seabirds. *Journal of Avian Biology* **31**:376-386.
159. Navara, K. J., B. C. Trainor, and R. J. Nelson. 2007. Photoperiod alters macrophage responsiveness, but not expression of Toll-like receptors in Siberian hamsters. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology* **148**:354-359.
160. Ouyang, J. Q., S. Davies, and D. Dominoni. 2018. Hormonally mediated effects of artificial light at night on behavior and fitness: linking endocrine mechanisms with function. *Journal of Experimental Biology* **221**.
161. Öztürk, G., Ş. Coşkun, D. Erbaş, and E. Hasanoglu. 2000. The effect of melatonin on liver superoxide dismutase activity, serum nitrate and thyroid hormone levels. *The Japanese journal of physiology* **50**:149-153.
162. Pablos, M. I., M. T. Agapito, R. Gutierrez, J. M. Recio, R. J. Reiter, L. Barlow-Walden, D. Acuña-Castroviejo, and A. Menendez-Pelaez. 1995. Melatonin stimulates the activity of the detoxifying enzyme glutathione peroxidase in several tissues of chicks. *J Pineal Res* **19**:111-115.
163. Pablos, M. I., R. J. Reiter, G. G. Ortiz, J. M. Guerrero, M. T. Agapito, J.-I. Chuang, and E. Sewerynek. 1998. Rhythms of glutathione peroxidase and glutathione reductase in brain of chick and their inhibition by light. *Neurochemistry International* **32**:69-75.
164. Pandi-Perumal, S. R., I. Trakht, V. Srinivasan, D. W. Spence, G. J. Maestroni, N. Zisapel, and D. P. Cardinali. 2008. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol* **85**:335-353.

165. Pang, S., S. Shiu, and S. Tse. 1985. Effect of photic manipulation on the level of melatonin in the retinas of frogs (*Rana tigrina regulosa*). *Gen Comp Endocrinol* **58**:464-470.
166. Park, Y.-J., J.-G. Park, H.-B. Jeong, Y. Takeuchi, S.-J. Kim, Y.-D. Lee, and A. Takemura. 2007. Expression of the melatonin receptor Mel1c in neural tissues of the reef fish *Siganus guttatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **147**:103-111.
167. Pérez, J. H., E. Tolla, I. C. Dunn, S. L. Meddle, and T. J. Stevenson. 2019. A comparative perspective on extra-retinal photoreception. *Trends in Endocrinology & Metabolism* **30**:39-53.
168. Perkin, E. K., F. Hölker, S. Heller, and R. Berghahn. 2014a. Artificial light and nocturnal activity in gammarids. *Peerj* **2**:e279.
169. Perkin, E. K., F. Hölker, J. S. Richardson, J. P. Sadler, C. Wolter, and K. Tockner. 2011. The influence of artificial light on stream and riparian ecosystems: questions, challenges, and perspectives. *Ecosphere* **2**:1-16.
170. Perkin, E. K., F. Hölker, and K. Tockner. 2014b. The effects of artificial lighting on adult aquatic and terrestrial insects. *Freshwater Biology* **59**:368-377.
171. Pevet, P. and E. Challet. 2011. Melatonin: both master clock output and internal time-giver in the circadian clocks network. *J Physiol Paris* **105**:170-182.
172. Posch, T., F. Binder, and J. Puschnig. 2018. Systematic measurements of the night sky brightness at 26 locations in Eastern Austria. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* **211**:144-165.
173. Poulin, C., F. Bruyant, M.-H. Laprise, A. M. Cockshutt, J. Marie-Rose Vandenhecke, and Y. Huot. 2014. The impact of light pollution on diel changes in the photophysiology of *Microcystis aeruginosa*. *Journal of plankton research* **36**:286-291.
174. Pozdeyev, N., C. Taylor, R. Haque, S. S. Chaurasia, A. Visser, A. Thazyeen, Y. Du, H. Fu, J. Weller, and D. C. Klein. 2006. Photic regulation of arylalkylamine N-acetyltransferase binding to 14-3-3 proteins in retinal photoreceptor cells. *Journal of Neuroscience* **26**:9153-9161.
175. Puschnig, J., T. Posch, and S. Uttenthaler. 2014. Night sky photometry and spectroscopy performed at the Vienna University Observatory. *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer* **139**:64-75.
176. Puschnig, J., S. Wallner, and T. Posch. 2020. Circalunar variations of the night sky brightness - an FFT perspective on the impact of light pollution. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society* **492**:2622-2637.
177. Raap, T., G. Casasole, R. Pinxten, and M. Eens. 2016. Early life exposure to artificial light at night affects the physiological condition: An experimental study on the ecophysiology of free-living nestling songbirds. *Environ Pollut* **218**:909-914.
178. Radogna, F., M. Diederich, and L. Ghibelli. 2010. Melatonin: a pleiotropic molecule regulating inflammation. *Biochem Pharmacol* **80**:1844-1852.
179. Rand, A. S., M. E. Bridarolli, L. Dries, and M. J. Ryan. 1997. Light levels influence female choice in Tungara frogs: Predation risk assessment? *Copeia*:447-450.
180. Reiter, R. J. 1973. Pineal control of a seasonal reproductive rhythm in male golden hamsters exposed to natural daylight and temperature. *Endocrinology* **92**:423-430.
181. Reiter, R. J. 1991. Melatonin: the chemical expression of darkness. *Mol Cell Endocrinol* **79**:C153-158.

182. Reiter, R. J. 1993. The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia* **49**:654-664.
183. Reiter, R. J., D. Blask, L. Johnson, P. Rudeen, M. Vaughan, and P. Waring. 1976. Melatonin inhibition of reproduction in the male hamster: its dependency on time of day of administration and on an intact and sympathetically innervated pineal gland. *Neuroendocrinology* **22**:107-116.
184. Reiter, R. J., S. D. Paredes, L. C. Manchester, and D. X. Tan. 2009a. Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Crit Rev Biochem Mol Biol* **44**:175-200.
185. Reiter, R. J., D.-X. Tan, L. C. Manchester, S. D. Paredes, J. C. Mayo, and R. M. Sainz. 2009b. Melatonin and reproduction revisited. *Biol Reprod* **81**:445-456.
186. Reiter, R. J., D. X. Tan, S. Burkhardt, and L. C. Manchester. 2001. Melatonin in plants. *Nutrition Reviews* **59**:286-290.
187. Reiter, R. J., D. X. Tan, and L. Fuentes-Broto. 2010. Melatonin: a multitasking molecule. *Prog Brain Res* **181**:127-151.
188. Reppert, S. and S. M. Sagar. 1983. Characterization of the day-night variation of retinal melatonin content in the chick. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **24**:294-300.
189. Reppert, S. M., C. Godson, C. D. Mahle, D. R. Weaver, S. A. Slaugenhaupt, and J. F. Gusella. 1995. Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel1b melatonin receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **92**:8734-8738.
190. Ribas, S. J., J. Torra, S. Paricio, and R. Canal-Domingo. 2016. How clouds are amplifying (or not) the effects of ALAN. *International Journal of Sustainable Lighting* **18**:32-39.
191. Ribelayga, C., F. Gauer, C. Calgari, P. Pevet, and V. Simonneaux. 1999. Photoneural regulation of rat pineal hydroxyindole-O-methyltransferase (HIOMT) messenger ribonucleic acid expression: An analysis of its complex relationship with HIOMT activity. *Endocrinology* **140**:1375-1384.
192. Rich, C. and T. Longcore. 2013. *Ecological consequences of artificial night lighting*. Island Press.
193. Riegel, K. W. 1973. Light Pollution. *Science* **179**:1285-1291.
194. Riley, W., B. Bendall, M. Ives, N. Edmonds, and D. Maxwell. 2012. Street lighting disrupts the diel migratory pattern of wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L., smolts leaving their natal stream. *Aquaculture* **330**:74-81.
195. Riley, W., P. Davison, D. Maxwell, R. Newman, and M. Ives. 2015. A laboratory experiment to determine the dispersal response of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry to street light intensity. *Freshwater Biology* **60**:1016-1028.
196. Robert, K. A., J. A. Lesku, J. Partecke, and B. Chambers. 2015. Artificial light at night desynchronizes strictly seasonal reproduction in a wild mammal. *Proc Biol Sci* **282**:20151745.
197. Rodriguez, C., J. C. Mayo, R. M. Sainz, I. Antolín, F. Herrera, V. Martín, and R. J. Reiter. 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res* **36**:1-9.
198. Sainz, R., J. Mayo, C. Rodriguez, D. Tan, S. Lopez-Burillo, and R. Reiter. 2003. Melatonin and cell death: differential actions on apoptosis in normal and cancer cells. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* **60**:1407-1426.

199. Schomerus, C. and H. W. Korf. 2005. Mechanisms regulating melatonin synthesis in the mammalian pineal organ. *Reversal of Aging: Resetting the Pineal Clock* **1057**:372-383.
200. Schwartz, A. and R. W. Henderson. 1991. *Amphibians and reptiles of the West Indies: descriptions, distributions, and natural history*. University Press of Florida.
201. Secondi, J., V. Dupont, A. Davranche, N. Mondy, T. Lengagne, and M. They. 2017. Variability of surface and underwater nocturnal spectral irradiance with the presence of clouds in urban and peri-urban wetlands. *PLoS One* **12**.
202. Serino, I., M. d'Istria, and P. Monteleone. 1993. A comparative study of melatonin production in the retina, pineal gland and harderian gland of *Bufo viridis* and *Rana esculenta*. *Comp Biochem Physiol C* **106**:189-193.
203. Shier, D., A. K. Bird, and T. B. Wang. 2020. Effects of artificial light at night on the foraging behavior of an endangered nocturnal mammal. *Environmental Pollution*:114566.
204. Shuboni, D. and L. Yan. 2010. Nighttime dim light exposure alters the responses of the circadian system. *Neuroscience* **170**:1172-1178.
205. Slominski, A., T. W. Fischer, M. A. Zmijewski, J. Wortsman, I. Semak, B. Zbytek, R. M. Slominski, and D. J. Tobin. 2005. On the role of melatonin in skin physiology and pathology. *Endocrine* **27**:137-147.
206. Slominski, A., D. J. Tobin, M. A. Zmijewski, J. Wortsman, and R. Paus. 2008. Melatonin in the skin: synthesis, metabolism and functions. *Trends in Endocrinology & Metabolism* **19**:17-24.
207. Slominski, R. M., R. J. Reiter, N. Schlabritz-Loutsevitch, R. S. Ostrom, and A. T. Slominski. 2012. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. *Mol Cell Endocrinol* **351**:152-166.
208. Smith, J. R. and L. J. Weber. 1976. The regulation of day–night changes in hydroxyindole-O-methyltransferase activity in the pineal gland of steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Zoology* **54**:1530-1534.
209. Sordello, R., C. Azam, J. Amsallem, Y. Bas, L. Billon, S. Busson, S. Challéat, C. Kerbiriou, I. Le Viol, B. Nguyen Duy - Bardakji, S. Vauclair, and P. Verny. 2018. Construire des indicateurs nationaux sur la pollution lumineuse - Réflexion préliminaire.
210. Stone, E. L., G. Jones, and S. Harris. 2009. Street lighting disturbs commuting bats. *Current biology* **19**:1123-1127.
211. SULLIVAN III, W. T. 1989. A 10 km resolution image of the entire night-time Earth based on cloud-free satellite photographs in the 400–1100 nm band. *Remote Sensing* **10**:1-5.
212. Sullivan, S. M. P., K. Hossler, and L. A. Meyer. 2019. Artificial lighting at night alters aquatic-riparian invertebrate food webs. *Ecological applications* **29**:e01821.
213. Tamarkin, L., C. J. Baird, and O. Almeida. 1985. Melatonin: a coordinating signal for mammalian reproduction? *Science* **227**:714-720.
214. Tamarkin, L., W. Westrom, A. Hamill, and B. Goldman. 1976. Effect of melatonin on the reproductive systems of male and female Syrian hamsters: a diurnal rhythm in sensitivity to melatonin. *Endocrinology* **99**:1534-1541.
215. Tan, D.-X., L. C. Manchester, R. J. Reiter, B. F. Plummer, L. J. Hardies, S. T. Weintraub, and A. M. Shepherd. 1998. A Novel Melatonin Metabolite, Cyclic 3-Hydroxymelatonin: A Biomarker of *Vivo* Hydroxyl Radical Generation. *Biochem Biophys Res Commun* **253**:614-620.

216. Tan, D.-X., L. C. Manchester, R. J. Reiter, B. F. Plummer, J. Limson, S. T. Weintraub, and W. Qi. 2000. Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation. *Free Radical Biology and Medicine* **29**:1177-1185.
217. Tan, D., R. J. Reiter, L. C. Manchester, M. Yan, M. El-Sawi, R. M. Sainz, J. C. Mayo, R. Kohen, M. Allegra, and R. Hardeland. 2002. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Current topics in medicinal chemistry* **2**:181-197.
218. Tan, D. X., R. Hardeland, K. Back, L. C. Manchester, M. A. Alatorre-Jimenez, and R. J. Reiter. 2016. On the significance of an alternate pathway of melatonin synthesis via 5-methoxytryptamine: comparisons across species. *J Pineal Res* **61**:27-40.
219. Tan, D. X., R. Hardeland, L. C. Manchester, S. D. Paredes, A. Korkmaz, R. M. Sainz, J. C. Mayo, L. Fuentes-Broto, and R. J. Reiter. 2010. The changing biological roles of melatonin during evolution: from an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and fitness. *Biological reviews* **85**:607-623.
220. Tan, D. X., L. C. Manchester, E. Esteban-Zubero, Z. Zhou, and R. J. Reiter. 2015. Melatonin as a Potent and Inducible Endogenous Antioxidant: Synthesis and Metabolism. *Molecules* **20**:18886-18906.
221. Thums, M., S. D. Whiting, J. Reisser, K. L. Pendoley, C. B. Pattiaratchi, M. Proietti, Y. Hetzel, R. Fisher, and M. G. Meekan. 2016. Artificial light on water attracts turtle hatchlings during their near shore transit. *Royal Society Open Science* **3**.
222. Tomás-Zapico, C., A. Coto-Montes, J. Martínez-Fraga, M. J. Rodríguez-Colunga, and D. Tolvía. 2003. Effects of continuous light exposure on antioxidant enzymes, porphyrin enzymes and cellular damage in the Harderian gland of the Syrian hamster. *J Pineal Res* **34**:60-68.
223. Touzot, M., T. Lengagne, J. Secondi, E. Desouhant, M. They, A. Dumet, C. Duchamp, and N. Mondy. 2020. Artificial light at night alters the sexual behaviour and fertilisation success of the common toad. *Environ Pollut* **259**:113883.
224. Touzot, M., L. Teulier, T. Lengagne, J. Secondi, M. They, P. A. Libourel, L. Guillard, and N. Mondy. 2019. Artificial light at night disturbs the activity and energy allocation of the common toad during the breeding period. *Conserv Physiol* **7**.
225. Treanor, P. J. 1973. Simple Propagation Law for Artificial Night-Sky Illumination. *Observatory* **93**:117-120.
226. Túnez, I., M. del Carmen Muñoz, M. Feijoo, M. E. Valdelvira, J. Rafael Muñoz-Castañeda, and P. Montilla. 2003. Melatonin effect on renal oxidative stress under constant light exposure. *Cell biochemistry and function* **21**:35-40.
227. Underwood, H., S. Binkley, T. Siopes, and K. Mosher. 1984. Melatonin rhythms in the eyes, pineal bodies, and blood of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Gen Comp Endocrinol* **56**:70-81.
228. Van Doren, B. M., K. G. Horton, A. M. Dokter, H. Klinck, S. B. Elbin, and A. Farnsworth. 2017. High-intensity urban light installation dramatically alters nocturnal bird migration. *Proc Natl Acad Sci U S A* **114**:11175-11180.
229. Vanecek, J. 1998. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiological reviews* **78**:687-721.
230. Velarde, E., J. M. Cerda-Reverter, A. L. Alonso-Gomez, E. Sanchez, E. Isorna, and M. J. Delgado. 2010. Melatonin-Synthesizing Enzymes in Pineal, Retina, Liver, and Gut of the

- Goldfish (*Carassius*): Mrna Expression Pattern and Regulation of Daily Rhythms by Lighting Conditions. *Chronobiol Int* **27**:1178-1201.
231. Venegas, C., J. A. García, C. Doerrier, H. Volt, G. Escames, L. C. López, R. J. Reiter, and D. Acuña-Castroviejo. 2013. Analysis of the daily changes of melatonin receptors in the rat liver. *J Pineal Res* **54**:313-321.
232. Vince-Prue, D. 1975. Photoperiodism in plants.
233. Vivien-Roels, B. and P. Pévet. 1993. Melatonin: presence and formation in invertebrates. *Experientia* **49**:642-647.
234. Walker, M. F. 1970. California Site Survey. Publications of the Astronomical Society of the Pacific **82**:672-&.
235. Welbers, A. A., N. E. van Dis, A. M. Kolvoort, J. Ouyang, M. E. Visser, K. Spoelstra, and D. M. Dominoni. 2017. Artificial light at night reduces daily energy expenditure in breeding great tits (*Parus major*). *Frontiers in Ecology and Evolution* **5**:55.
236. Wiechmann, A. F. 2003. Differential distribution of Mel1a and Mel1c melatonin receptors in *Xenopus laevis* retina. *Experimental eye research* **76**:99-106.
237. Wiechmann, A. F. and J. G. Hollyfield. 1989. HIOMT-like immunoreactivity in the vertebrate retina: a species comparison. *Experimental eye research* **49**:1079-1095.
238. Wise, S. 2007. Studying the ecological impacts of light pollution on wildlife: amphibians as models. *StarLight: a Common Heritage*, C. Marin and J. Jafari, eds. (Canary Islands, Spain: StarLight Initiative La Palma Biosphere Reserve, Instituto De Astrofísica De Canarias, Government of The Canary Islands, Spanish Ministry of The Environment, UNESCO-MaB.):107-116.
239. Witherington, B. E. and R. E. Martin. 2000. Understanding, assessing, and resolving light-pollution problems on sea turtle nesting beaches.
240. Witt-Enderby, P. A., J. Bennett, M. J. Jarzynka, S. Firestine, and M. A. Melan. 2003. Melatonin receptors and their regulation: biochemical and structural mechanisms. *Life Sci* **72**:2183-2198.
241. Woodfill, C. J., N. L. Wayne, S. M. Moenter, and F. J. Karsch. 1994. Photoperiodic synchronization of a circannual reproductive rhythm in sheep: identification of season-specific time cues. *Biol Reprod* **50**:965-976.
242. Wright, M. L., L. L. Francisco, J. L. Scott, S. E. Richardson, J. A. Carr, A. B. King, A. G. Noyes, and R. F. Visconti. 2006. Effects of bilateral and unilateral ophthalmectomy on plasma melatonin in *Rana* tadpoles and froglets under various experimental conditions. *Gen Comp Endocrinol* **147**:158-166.
243. Young, M. W. and S. A. Kay. 2001. Time zones: a comparative genetics of circadian clocks. *Nature Reviews Genetics* **2**:702-715.
244. Zeitzer, J. M., N. F. Ruby, R. A. Fiscaro, and H. C. Heller. 2011. Response of the human circadian system to millisecond flashes of light. *PLoS One* **6**:e22078.
245. Zhao, D., Y. Yu, Y. Shen, Q. Liu, Z. Zhao, R. Sharma, and R. J. Reiter. 2019. Melatonin synthesis and function: evolutionary history in animals and plants. *Front Endocrinol (Lausanne)* **10**.
246. Zhao, X., D. Li, X. Li, L. Zhao, and C. Wu. 2018. Spatial and seasonal patterns of night-time lights in global ocean derived from VIIRS DNB images. *International journal of remote sensing* **39**:8151-8181.

247. Zhdanova, I. V., D. A. Geiger, A. L. Schwagerl, O. U. Leclair, R. Killiany, J. A. Taylor, D. L. Rosene, M. B. Moss, and B. K. Madras. 2002. Melatonin promotes sleep in three species of diurnal nonhuman primates. *Physiol Behav* **75**:523-529.
248. Zhdanova, I. V., S. Y. Wang, O. U. Leclair, and N. P. Danilova. 2001. Melatonin promotes sleep-like state in zebrafish. *Brain Res* **903**:263-268.

Annexes

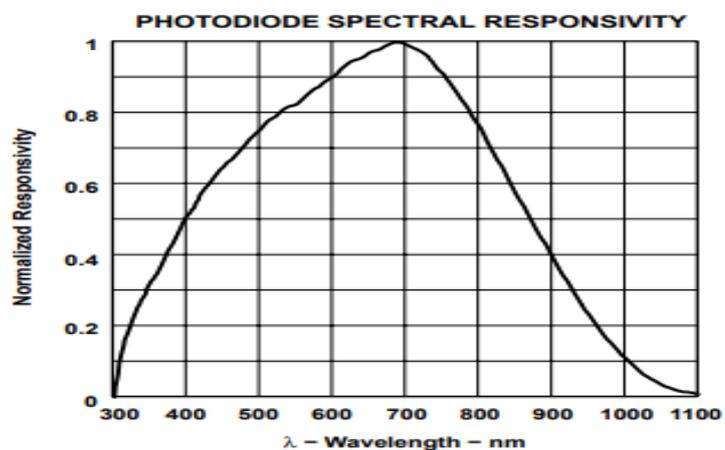


Figure 37 : Spectre de réponse du capteur TAOS TSL237

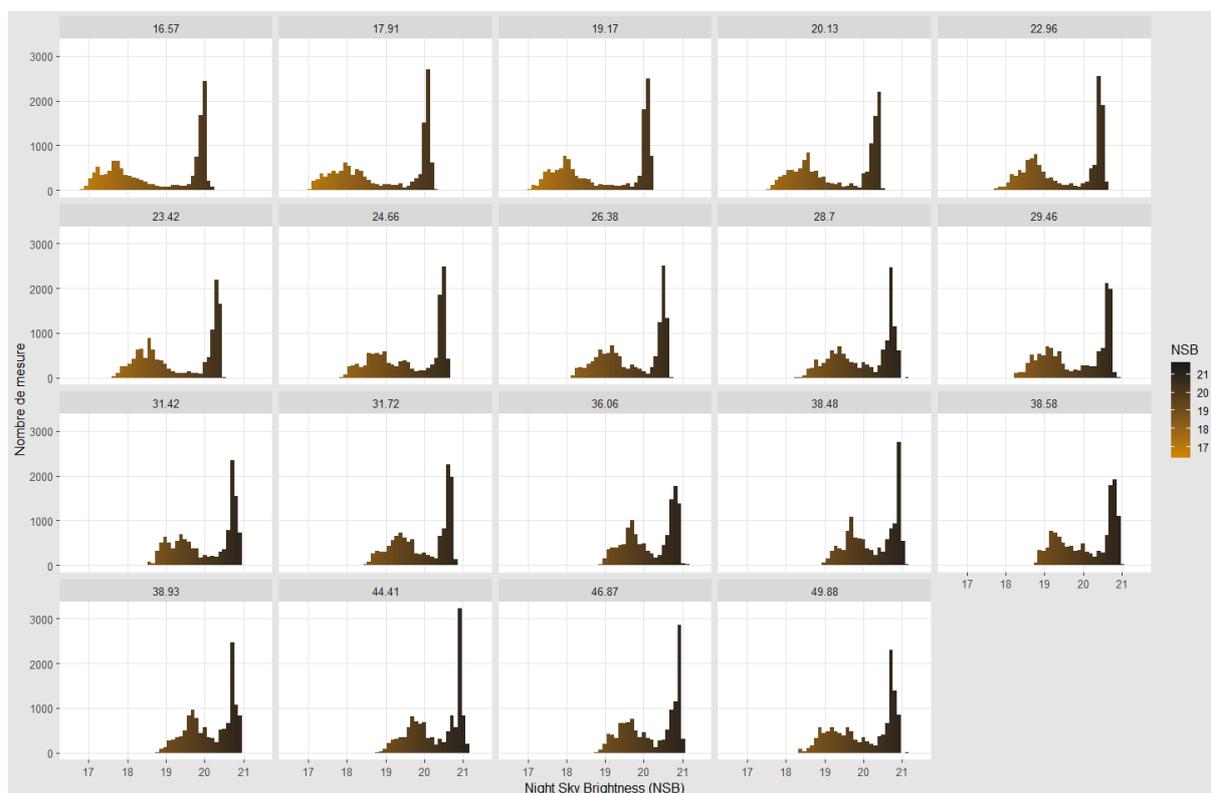


Figure 38 : Histogrammes des valeurs de luminosité du ciel (NSB) à distance croissante de la métropole lyonnaise en absence de lune (n par site entre 12 569 et 12 585)

Tableau 9 : Valeurs moyennes de luminance zénithale pour les 3 conditions sur les différents sites et les différents rapports de luminance

Distance (km)	Luminance zénithale moyenne ($\mu\text{cd}/\text{m}^2$)			Rapport de luminance		
	Ciel clair	Ciel nuageux	ciel nuageux et pleine lune	Ciel clair/référence	Ciel nuageux/référence	Ciel nuageux/ciel clair
16,6	1154	8588	16591	4,6	34,4	7,4
17,9	1021	6738	14496	4,1	27,0	6,6
19,2	1022	7049	22020	4,1	28,2	6,9
20,1	828	4466	16464	3,3	17,9	5,4
23	723	3655	15754	2,9	14,6	5,1
23,4	832	4201	15315	3,3	16,8	5,0
24,7	725	3093	12192	2,9	12,4	4,3
26,4	680	2592	11383	2,7	10,4	3,8
28,7	548	2070	9866	2,2	8,3	3,8
29,5	599	2582	14813	2,4	10,3	4,3
31,4	539	2077	13281	2,2	8,3	3,9
31,7	604	2085	10670	2,4	8,3	3,5
36,1	531	1618	9768	2,1	6,5	3,0
38,5	487	1534	9473	1,9	6,1	3,2
38,6	535	1910	8901	2,1	7,6	3,6
38,9	537	1611	9204	2,1	6,4	3,0
44,4	486	1526	6427	1,9	6,1	3,1
46,9	496	1740	7038	2,0	7,0	3,5
49,9	541	2183	10247	2,2	8,7	4,0

ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES

SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

Mesure de la pollution lumineuse nocturne in natura et étude du rythme circadien de la sécrétion de mélatonine chez des têtards d'amphibiens soumis à la pollution lumineuse

DUMET Adeline

Date de soutenance

RÉSUMÉ

La pollution lumineuse est un phénomène d'origine anthropique associé au développement de l'urbanisation et des activités humaines qui ne cesse de s'étendre à travers le monde, impactant tous les écosystèmes terrestres et aquatiques. La pollution lumineuse est actuellement reconnue comme une pollution environnementale majeure menaçant la biodiversité. En effet, le niveau de lumière ambiante est l'un des facteurs majeurs qui régule de nombreux phénomènes biologiques. Toute altération des cycles naturels de la lumière va avoir un effet sur les mécanismes physiologiques ou comportementaux, et ainsi sur la *fitness* (valeur sélective) des individus. A plus long terme, la dynamique des populations pourrait être modifiée. Plusieurs études ont été menées afin d'évaluer les niveaux de pollution lumineuse à l'échelle planétaire ou sur certains écosystèmes terrestres ou marins. En revanche, les zones humides d'eaux douces, véritables réservoirs de la biodiversité, ont été très peu étudiées dans ce contexte de pollution lumineuse. Grâce à des capteurs de lumière autonomes « Jasondark » et des cartes de radiance satellites, nous avons réalisé une étude à la fois spatiale et temporelle sur une zone humide majeure, la Dombes, à proximité de la métropole lyonnaise. Nous avons ainsi montré que l'ensemble du territoire de la Dombes est soumis à la pollution lumineuse. La présence de nuages augmente considérablement les niveaux de pollution lumineuse et altère d'autant plus les patrons de variations de la luminosité naturelle. Pour les études sur la pollution lumineuse à visée écologique, il nous paraît donc important de ne pas se baser uniquement sur les cartes de pollution lumineuse réalisée à partir des données satellites mais également de réaliser un suivi temporel des niveaux de luminosité nocturne au niveau du sol afin de préciser les risques. Par ailleurs, nous avons également choisi d'étudier un mécanisme physiologique altéré par la pollution lumineuse chez de nombreux taxons, la synthèse de la mélatonine. La mélatonine, sécrétée uniquement la nuit en l'absence de lumière, est l'un des principaux régulateurs des rythmes circadiens. Cette neurohormone régule également de nombreuses fonctions physiologiques telles que l'immunité, le stress oxydant et la reproduction. Les amphibiens appartiennent au 2^{ème} groupe qui contient le plus grand nombre d'espèces nocturnes chez les vertébrés (93%), ce qui rend ce groupe potentiellement très vulnérable à la pollution lumineuse. Nous avons étudié l'expression des 2 enzymes majeures impliquées dans la voie de synthèse de la mélatonine, AANAT et ASMT, ainsi que ces 3 récepteurs chez les têtards de 2 espèces, *R. dalmatina* et *B. bufo*, sur 24h. Le groupe exposé à la pollution lumineuse était soumis à une lumière nocturne de 5 lux pendant 23 jours. La rythmicité de l'expression des gènes AANAT et ASMT n'est pas modifiée par une exposition à une lumière nocturne. Pour les récepteurs, nous avons observé une altération de l'expression des récepteurs de la mélatonine chez *R. dalmatina* mais pas chez *B. bufo*. L'ensemble de ces résultats montrent l'importance des études expérimentales en écologie de la conservation

MOTS-CLÉS : pollution lumineuse, capteurs de lumière, conditions météorologique, amphibiens, têtards, mélatonine, expression génique