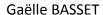
Master 1° Année Ecologie et Biologie des Populations Université de Poitiers U.F.R. Sciences Fondamentales et Appliquées 40 avenue du Recteur Pineau F-86022 Poitiers Cedex



## Rapport de stage

Etude des communautés d'insectes floricoles.

Exemple de la pollinisation du châtaignier, Castanea sativa.





Sous la direction de : M. Rémy PETIT

INRA, UMR1202 Biodiversity Genes & Communities , 69 route d'Arcachon, 33610 Cestas

Du 15 avril au 26 juillet 2019



#### Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, au bon déroulement de ce stage et m'ont aidé à la réalisation de ce mémoire.

Je souhaite tout d'abord remercier, Rémy PETIT et Clément LARUE, le duo de choc qui m'encadre et m'épaule chaque jour. Rémy est un encadrant à l'écoute qui a toujours été là pour me guider dans mon travail et m'aider lors des aléas des transports bordelais. Excellent pédagogue, il prend le temps d'expliquer avec passion et nos échanges sont très constructifs et formateurs.

Contrairement à ce que Clément laisse entendre, il ne « traumatise » pas les stagiaires ! Attentif et aux petits soins, il a su égayer mes journées galères sur R. Je suis fière de travailler avec lui et Rémy et d'apporter ma petite part à l'édifice « châtaignier ». (J'espère que j'ai gagné des châtaignes !).

Je remercie également Philipe CHAUMEIL pour la formation qu'il a offerte sur SQLite et la construction de la base de données. Il a consacré beaucoup de temps pour comprendre ce que nous souhaitions faire et pour que je puisse avoir de beaux résultats. C'est grâce à son travail et celui de François EHRENMANN que je peux utiliser une photothèque de qualité, ce qui est vraiment agréable.

Je souhaite remercier Colin FONTAINE du MNHN pour sa collaboration et de m'avoir extrait les données de la base SPIPOLL sur lesquels la quasi-totalité du rapport repose. Je remercie également Mathieu DE FLORES de l'OPIE, pour son invitation aux rencontres annuelles SPIPOLL dans les Cévennes et pour la formation sur le terrain lors de ces rencontres.

Un grand merci à tous les Spipolliens avec qui nous avons échangé lors de ces rencontres et pour leur enthousiasme envers notre projet.

Et enfin, je souhaite remercier toutes les personnes ayant contribué au projet comme Thérésa BARRENECHE, Severin JOUVEAU, Frédéric REVERS, Inge van HALDER et Alix SAUVE.

## Avant-propos

Cette étude est le résultat d'un stage effectué au sein de l'UMR Biogeco (BIOdiversité Gènes et Communauté) de L'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) de Bordeaux.

L'INRA est un organisme français de recherche foncée en 1946. C'est le premier institut de recherche agronomique en Europe. Les recherches menées à l'INRA sont orientés autour de l'environnement, la valorisation des territoires et la gestion de l'agriculture et l'agronomie pour l'alimentation humaine. Les recherches de l'INRA s'articulent autour de différents axes correspondant à différents départements de recherche. L'unité de Biogeco est rattachée au Département *Ecologie des forêts, des prairies et des milieux aquatiques*.

Le programme de recherches de l'Unité Mixte de Recherches (UMR) de Biogeco consiste à l'analyse des mécanismes évolutifs de la diversité à différents niveaux d'organisation (communautés, espèces, populations, gènes). Les recherches développées au sein des équipes thématiques de l'unité sont orientées vers une gestion durable des ressources et des milieux et ont pour vocation d'intégrer la diversité biologique dans la gestion des milieux naturels ou faiblement anthropisés, en considérant les interactions entre espèces, populations et individus.

L'étude menée ici s'inscrit dans le cadre d'une thèse CIFRE entre l'association Invenio (Station d'expérimentation de la filière fruits et légumes en Nouvelle Aquitaine) et l'UMR Biogeco. C'est l'ensemble des travaux en cours qui permettront d'apporter les éléments de réponses. Ici le stage se déroule jusqu'à fin juillet, puisque le châtaignier possède une floraison tardive (juin-juillet). Les résultats analysés et présentés seront en grande partie basés sur des données recueillies dans le cadre d'un programme de sciences participatives préalablement à ce stage.

# Table des matières

Intro	ductionduction	1
Maté	riel et méthodes	3
1.	Variation des communautés d'insectes floricoles entre plantes	3
ā	a. Le projet SPIPOLL	3
k	b. Les données SPIPOLL	3
C	c. Méthodes d'analyse des communautés	4
C	d. Analyses statistiques	5
2.	Etude expérimentale sur le châtaignier	5
ā	a. Lieu de l'étude	5
k	b. Modèle biologique	5
C	c. Méthodes d'étude	7
Résul	ltats	. 10
1.	Variation des communautés d'insectes floricoles entre plantes	. 10
ā	a. Comparaison entre châtaignier et tilleul	. 10
k	b. Comparaison entre toutes les plantes	. 10
2.	Etude expérimentale sur le châtaignier	. 14
3.	Collaborations et médiations scientifiques	. 15
Discu	ssion	. 15
1.	Interprétation des résultats obtenus	. 15
2.	Etude complémentaire et perspectives	. 18
Concl	lusion	. 18
Référ	rences	. 19
Anne	xes	. 20
Scr	ript R	. 20
Tak	bleau des correspondances	. 21
Eicl	he de terrain	22

#### Introduction

Une communauté représente un système au sein duquel les organismes vivants partagent un environnement commun dans lequel ils interagissent. En écologie des communautés, l'approche classique consiste à mesurer la composition en espèces et la richesse des communautés. Ces données permettent d'étudier les facteurs de structuration de ces communautés en fonction du milieu où elles se trouvent. L' « habitat » peut dans certains cas originaux être représenté par l'hôte, individu ou espèce hébergeant la communauté. Cet « habitat », en tant qu'entité biologique et non plus seulement physico-chimique, peut évoluer suite aux interactions avec la communauté qu'il héberge (communautés d'antagonistes, de mutualistes...) afin de les éviter (prédateurs, parasites) ou de les favoriser (proies, pollinisateurs...). Dans ce cas, il est possible d'explorer les variations de la communauté en fonction des variations de l'hôte et de voir comment le tout (hôte et communauté associée) co-évolue.

Un des exemples les plus connus de ces communautés particulières est celui représenté par le couple plante et communauté associée d'insectes pollinisateurs. L'impossibilité des plantes à se déplacer et la nécessité d'une rencontre entre les deux sexes pour se reproduire ont amené les végétaux à s'adapter. Les stratégies de reproduction végétale apparues au cours de l'évolution sont multiples mais toutes doivent prendre en compte cette problématique de la vie fixée.

Les algues et les végétaux aquatiques utilisent par exemple le clonage. Cette reproduction végétative permet à l'individu de se répliquer à l'identique à partir d'un fragment. La reproduction est asexuée et permet l'expansion du végétal (Klinerova *et al.*, 2018). La parthénocarpie est une stratégie intermédiaire entre la reproduction végétative et la reproduction sexuée dont elle suit le processus normal. Les graines se développent sans fécondation et les plantes filles ont le même génotype que leur plante mère (Yan *et al*, 2012).

La majorité des Angiospermes, les plantes à fleurs, sont bisexuées et possèdent les organes mâles et femelles sur un même individu, soit séparément, dans des inflorescences séparées sur le même individu, comme dans le cas des chênes (espèces monoïques), soit au sein d'une même structure, comme dans le cas de la marguerite ou du plantain (espèces hermaphrodites). Une minorité de plantes sont dioïques (sexes séparés, avec des individus uniquement mâles ou femelles, comme dans le cas de l'ortie ou du kiwi). Par ailleurs, une minorité de plantes (10-15%) sont anémophiles : elles utilisent le vent pour transporter le pollen des étamines aux stigmates. Les chênes, le plantain ou les orties, par exemple, sont pollinisées par le vent. Pour une majorité de plantes, cependant, la dispersion du pollen est réalisée par les animaux, notamment les insectes (cas du kiwi ou de la marguerite).

Dans cette étude les communautés étudiées sont celles des insectes floricoles et de leurs plantes hôtes. Parmi ces insectes floricoles, seulement certains sont capables de polliniser efficacement leurs plantes hôtes.

Les premiers cas de pollinisation par le vent sont apparus à l'époque du Carbonifère avec les Spermatophytes, il y a 350 millions d'années (Proctor et al., 1996). Ce n'est qu'à partir du Trias que certains insectes ont commencé à jouer un rôle dans la pollinisation. Cependant, les interactions entre plante et insecte seraient apparue trois fois de manière indépendante pendant l'ère secondaire. Une première fois avec les cycas il y a 220 millions d'années, une deuxième à la fin du Jurassique il y a 160 millions d'années avec les Gnétales et une troisième fois il y a 120 millions d'années avec les Angiospermes, les plantes les plus représentées aujourd'hui. Les espèces éteintes à

la fin de l'ère secondaire telles que les Bénitales étaient entomophiles également. Les diptères et les coléoptères sont les premiers insectes pollinisateurs fossiles connus. Les premières traces d'hyménoptères datent de 100 millions d'année contre 120 millions d'années pour les papillons et les thrips. Au fil des générations « chacun acquiert une certaine spécialisation pour trouver sa place » (Albouy, 2018). La spécialisation correspond à une adaptation morphologique, biologique et/ou comportementale à un sous-ensemble de partenaires végétaux. C'est le cas de la collète du lierre possédant les caractéristiques nécessaires à la collecte du nectar et du pollen sur les fleurs de lierre grimpant. La langue de cette abeille sauvage est courte pour récupérer le nectar et les poils des pattes arrière permettent la récolte et le stockage du pollen (Proctor et al., 1996). Ces « outils » sont adaptés pour la pollinisation d'autres plantes et sont communs chez les hyménoptères. Toutefois, la majeure partie des insectes floricoles sont généralistes et interagissent avec un grand groupe de plantes. C'est le cas du bourdon terrestre, un insecte pollinisateur généraliste commun en France.

De même, les plantes hôtes sont plus ou moins spécialisées en matière de pollinisation. La convergence de traits floraux afin d'améliorer l'attractivité pour la pollinisation est appelé syndrome de pollinisation. Pendant longtemps, ces syndromes été vus comme l'adaptation précise d'une plante à une espèce ou du moins à une catégorie d'insectes. Mais la spécialisation étroite entre une espèce végétale et une espèce animale est un phénomène extrêmement rare et le concept de syndrome de pollinisation est aujourd'hui considéré comme largement périmé (Ollerton et al. 2009). Toutefois une certaine spécialisation par adaptation à un groupe fonctionnel d'insectes est possible. Les insectes à trompe aspirante longue comme les lépidoptères et certains bombyles peuvent assurer la même fonction dans le réseau de pollinisation. On dit alors qu'ils appartiennent à un même groupe fonctionnel pour la pollinisation. Si une espèce vient à disparaître, le service de pollinisation sera très peu impacté grâce au maintien de ce service par les autres espèces du groupe fonctionnel (Fontaine et al., 2006). Ces groupes expliquent la capacité de résilience des réseaux de pollinisation. Les syndromes de pollinisation ne sont pas à envisager à l'échelle de l'espèce mais bien à celle des groupes fonctionnels de pollinisateurs. Les insectes floricoles se répartissent en groupes fonctionnels bien adapté à certaines plantes. De même, les fleurs attirant un groupe fonctionnel d'insectes similaire développent les mêmes syndromes de pollinisation.

Afin d'étudier les communautés d'insectes floricoles les plantes peuvent être considérées selon différents niveaux d'organisation emboités, notamment les espèces et les individus d'une même espèce. L'objectif de ce travail est de décrire et interpréter les variations de la richesse spécifique et de la composition des communautés d'insectes à ces deux échelles.

Les données analysées sont issues d'un protocole conçu par le Muséum d'Histoire Naturel de Paris. Ce protocole repose sur des sciences participatives et s'intitule « SPIPOLL » (Suivi Photographique des Insectes POLLinisateur). Le participant observe une espèce de fleurs et photographie tous les insectes venant s'y poser pendant un temps donné. Les insectes sont identifiés aussi précisément que possible à partir de ces photographies. Ces données permettent de mesurer la diversité des insectes selon les plantes et de décrire et quantifier la structure des réseaux de pollinisation. Elles peuvent aussi être utilisées pour traiter l'effet de la plante hôte sur la communauté des insectes floricoles.

Pour l'étude des communautés d'insectes floricoles à l'échelle intraspécifique, l'espèce choisie est le châtaignier européen, *Castanea sativa*, et ses hybrides avec le châtaignier japonais, *Castanea crenata*. Il sert d'étude de cas. C'est un bon modèle du fait de l'existence d'une très forte variabilité individuelle, exacerbée par la domestication par l'homme pour la production de fruits. Cette diversité entre individus concerne des traits susceptibles de modifier la communauté d'insectes associés, puisque certains individus ont des fleurs mâles normales produisant du pollen alors que d'autres ne

produisent pas du tout de pollen (individus astaminés, appelés mâles-stériles). De plus, cet arbre cultivé est souvent greffé pour la production de fruits. Cela permet de disposer de réplicats ayant le même génotype et des caractéristiques morphologiques proches. La pollinisation par les insectes est peu étudiée chez cette espèce, qui est souvent considérée comme étant principalement pollinisée par le vent, à l'instar des chênes ou du hêtre, qui appartiennent à la même famille des Fagacées (Deguines et al. 2014).

#### Matériel et méthodes

#### 1. Variation des communautés d'insectes floricoles entre plantes

#### a. Le projet SPIPOLL

Le Suivi Photographique des Insectes POLLinisateurs (SPIPOLL) est un protocole créé par le Muséum d'Histoire Naturel de Paris en 2010. Il fait appel aux citoyens (sciences participatives) et a pour but d'obtenir des données quantitatives sur les insectes floricoles en Europe, et principalement en France. Il permet d'évaluer la diversité des insectes floricoles et la structure des réseaux d'interaction plantes-pollinisateurs. Le protocole est accessible à tous les volontaires et permet d'obtenir des données sur un grand nombre de sites. Le principe est de photographier pendant 20 minutes un maximum d'individus appartenant à des espèces d'insectes et d'arthropodes différentes sur une espèce de plante définie. L'ensemble des photographies forme une collection. L'observateur identifie aussi précisément que possible les taxons puis dépose sa collection sur un album en ligne. Les plantes et les insectes sont identifiés à l'aide de clés d'identification proposées par la plateforme. Le SPIPOLL permet aussi des échanges très riches entre chercheurs et naturalistes amateurs soutenant la recherche sur les pollinisateurs.

#### b. Les données SPIPOLL

Le jeu de données utilisé dans cette étude est géré par le Muséum d'Histoire Naturel de Paris. Colin FONTAINE du MNHN (Chercheur CNRS, responsable scientifique du programme SPIPOLL), a extrait ces données à notre demande. Ce jeu de données, issu de sciences participatives entre 2010 et 2018, représente 204 342 photographies regroupées en 27 921 collections. Chaque photographie représente une interaction entre la fleur et l'insecte visiteur. L'insecte photographié est identifié par une clé conçue spécialement pour le projet SPIPOLL puis vérifié par un expert. L'utilisateur renseigne l'abondance de chaque insecte identifié au mieux en fonction de l'expérience de l'observateur et de la qualité de la photo. L'ensemble des interactions observées au cours d'une session constitue une collection et doit porter sur un seul taxon végétal identifié selon une clé SPIPOLL également. Les facteurs abiotiques de la session comme la nébulosité, la température et les caractéristiques du vent (faible, fort, irrégulier ou continu) sont renseignés pour chaque collection. Une session photographique dure 20min et est appelée protocole « flash ». Certaines plantes ou certains insectes ne peuvent être identifiés jusqu'au niveau de l'espèce sur photographie. C'est pourquoi la clé d'identification de SPIPOLL réunit les données sous forme de taxons correspondant, selon les cas, à une espèce ou un groupe d'espèces. Entre 2010 et 2018, les données recueillies portaient sur 359 taxons de plantes et 583 taxons d'insectes.

Un travail de structuration et d'épuration des données à dû être effectué à partir de l'extraction reçue du Muséum. Une base de données relationnelle a été construite à l'aide des logiciels SQLite et DB Browser. Nous avons retenu pour les analyses uniquement les communautés d'insectes floricoles des taxons végétaux suffisamment répliqués (30 collections ou plus par taxon végétal, sauf pour quelques cas d'intérêt comme le châtaignier ou le tilleul). Les collections pour lesquelles l'abondance des insectes n'était pas renseignée ont été éliminées. Les taxons d'insectes mal identifiés (incertitude

entre deux ou plusieurs taxons) ont aussi été supprimés. Au total, cela représente 16 098 collections impliquant 117 taxons végétaux et 525 taxons d'insectes différents.

Le châtaignier et un autre taxon végétal d'intérêt ont été choisis afin d'étudier les communautés d'insectes floricoles à une échelle plus fine. Comme le châtaignier, les espèces de tilleul (genre *Tillia*) sont des arbres à floraison tardive (juin-juillet). Leurs fleurs sont hermaphrodites et forment des grappes, à la différence des châtaigniers. Les tilleuls sont connus pour leur pollinisation entomophile, et présentent une forte odeur et une production abondante de nectar. Il existe neuf collections sur châtaignier avec 119 photographies et seize collections sur tilleul avec 126 photographies. L'ensemble de ces informations nous ont permis de comparer plus précisément les communautés associées à ces deux taxons.

#### c. Méthodes d'analyse des communautés

La richesse spécifique moyenne des communautés associées chaque taxon végétal est calculée à partir des richesses de chaque collection. La richesse d'une collection est estimée par le nombre de photographies, une seule photographie par type d'insecte devant être fournie par l'observateur. Parfois, plusieurs photographies sont prises pour un même taxon composite (par exemple : plusieurs photographies intitulées « mouches difficiles à déterminer ») : après discussion avec les gestionnaires de la base de données SPIPOLL, il a été considéré que cela reflétait une plus grande richesse en taxons, qu'il convenait de prendre en compte.

Les abondances de chaque taxon d'insectes sont calculées en transformant l'échelle semiquantitative utilisée dans le protocole SPIPOLL en nombres : 0, 1, 2-5, >5 transformés en 0, 1, 3, 7. Les valeurs d'abondances moyennes par collection ont été calculées dans SQLite pour chaque taxon végétal. Ces moyennes sont donc issues de l'agrégation des différentes collections pour un taxon végétal donné. Les données ont été représentées graphiquement sous R à l'aide de la bibliothèque « ggplot2 ».

Une matrice de similarité des communautés d'insectes entre plantes est calculée sous Microsoft Excel. La mesure utilisée est l'indice de Steinhaus. Le coefficient de Steinhaus est un indice de similarité quantitatif asymétrique bien adapté à l'écologie des communautés où de nombreux taxons sont absents dans une communauté donnée. En particulier, il prend en compte l'abondance moyenne et minimale de chaque taxon d'insecte dans chaque site. Noté S17 il est calculé ainsi :

$$S17 = 2W/(A+B)$$

Avec

W: la somme des abondances minima de tous les taxons dans les sites A et B,

A: la somme des abondances de tous les taxons dans le site A,

B: la somme des abondances de tous les taxons dans le site B.

Le coefficient de Bray-Curtis est un indice de dissemblance noté  $BC_{AB}$ . Il est obtenu à partir de l'indice de Steinhaus (S17) :

$$BC_{AB} = 1 - S17$$

#### d. Analyses statistiques

Les richesses spécifiques des communautés associées au châtaignier et aux tilleuls sont comparées à l'aide d'un test non paramétrique de Wilcoxon. Ce test ne suppose pas une distribution normale des richesses des différentes collections de chaque espèce.

Les résultats de la matrice de distance sont visualisés avec une analyse multivariable, le Multidimensional Scaling (MDS), à l'aide du logiciel R. Cette analyse permet de transformer une matrice de proximité (ici de dissimilarité) dans un espace réduit à p dimensions, les dimensions correspondant aux axes principaux de structuration des données. Cette approche permet de réduire la complexité des données en quelques axes majeurs expliquant la majeure partie de la variation observée. Les taxons végétaux sont ainsi classés les uns par rapport aux autres grâce à la similarité de leur communauté d'insectes floricoles.

Pour obtenir un premier aperçu des différences qui structurent les premiers axes de l'analyse multivariable, et en attendant une analyse plus poussée, les taxons de plantes situés aux extrémités de chaque axe de variation sont identifiés et leur composition en insectes déterminée sous Excel, à partir du tableau complet plantes-insectes, en se focalisant sur les espèces d'insectes les plus abondants et les plus diagnostiques de chaque axe.

#### 2. Etude expérimentale sur le châtaignier

#### a. Lieu de l'étude

Le site expérimental de l'INRA de la Grande Ferrade situé à Villenave d'Ornon (33140) est composé d'un verger de collection abritant près de 300 châtaigniers. Ce verger constitué de trois espèces de châtaigniers et de leurs hybrides est divisé en deux parcelles notées A et E. Le génotype de chaque arbre est connu et permet d'identifier l'espèce et les variétés issues de greffage (chaque variété ayant un génotype unique).

#### b. Modèle biologique

Le châtaignier était nommé autrefois « arbre à pain » car cet arbre nourricier subvenait aux besoins de populations humaines entières là où il était cultivé. Cet arbre fruitier-forestier est même à l'origine de civilisations rurales dans de nombreuses régions (Cévennes, Corse, Galice etc.). Le déclin de la châtaigneraie européenne a été considérable, de nombreux vergers ayant été abandonnés, mais un certain renouveau est en cours grâce aux nouvelles attentes de la société pour des produits plus sains et naturels. Le châtaignier européen, *Castanea sativa*, est une espèce majeure en Europe du sud : environ 1 700 000 ha de forêt et 200 000 ha de vergers (IFN, 2019). En France, il est la 3ème essence de feuillue après le chêne et le hêtre.

Il appartient à la famille des Fagacées, comme les chênes ou les hêtres, et est cultivé pour la production de ses graines comestibles : les châtaignes. Il fleurit tardivement au mois de juin et de juillet après que le feuilles se soient développées. Les fleurs mâles forment de longs chatons blancs pouvant atteindre 40 cm de long (C. Larue, communication personnelle). Cet arbre est andromonoïque. Sur une branche, les rameaux les plus internes sont unisexués et portent des inflorescences uniquement mâles. A l'extrémité de la branche, les rameaux sont bisexués. Les fleurs femelles situées à la base du rameau sont vertes avec de nombreux stigmates blancs, et un chaton mâle plus tardif est situé à l'extrémité de ce rameau (Fig. 1).

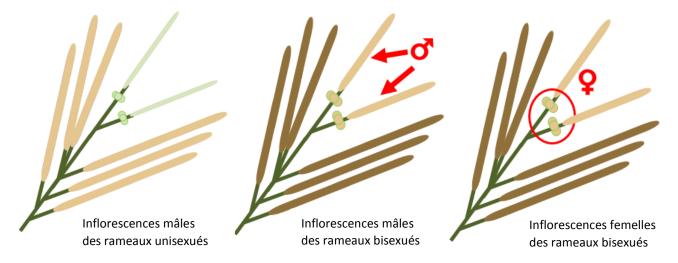


Figure 1 : Schéma des différents types d'inflorescences chez le châtaignier, *C. sativa*.



Figure 2 : Photographie d'une branche de châtaignier longistaminé en fleur.

Seuls les chatons mâles des rameaux unisexués et les fleurs femelles sont matures sur cette illustration.

Les inflorescences mâles produisent du nectar et de longues étamines blanches (longistaminés). Le croisement des variétés et la sélection par l'Homme a favorisé le développement de certaines variétés de châtaignier caractérisés par des chatons mâles sans étamines (astaminés). Un tel individu femelle, dit « mâle stérile », est dépendant du pollen d'un autre arbre donneur de pollen, tout autant que les individus hermaphrodites longistaminés, car le châtaignier est auto-incompatible (pas d'autofécondation possible). Ces variétés particulières produisent des fruits plus nombreux et plus gros (T. Barreneche, communication personnelle).



Figure 3 : Bourdon des champs sur fleurs longistaminés et reproduction de téléphore fauve sur fleurs astaminés.

#### c. Méthodes d'étude

#### i. Site d'étude et arbres photographiés

L'étude expérimentale des communautés d'insectes floricoles du châtaignier porte sur 16 châtaigniers distribués dans deux parcelles proches (Fig. 4). Les arbres appartiennent à deux espèces différentes. La première est une espèce commune en Europe, *Castanea sativa*, la seconde est un hybride issu du croisement de *C. sativa* et d'une espèce japonaise *C. crenata*. Les arbres sont choisis selon leur emplacement dans les parcelles, leur génotype et la disposition des branches. En effet, seuls les arbres présentant des branches fleuries suffisamment basses permettent un recensement satisfaisant de la communauté d'insectes floricoles.



Figure 4 : Répartition des châtaigniers du site de la Grande Ferrade et des deux espèces étudiées sur les parcelles A (en bas) et E (en haut).

Tableau I : Caractéristiques générales des arbres suivis.

Espèce	Variété	Numéro de	Type de chaton	Numéro de	Numéro de
		variété	mâle	l'arbre 1	l'arbre 2
Hybride	Marigoule	15	Longistaminé	A44Q	E49K
Hybride	Marlhac	118	Astaminé	A66Q	E73D
Hybride	Maridonne	124	Longistaminé	A60Q	E50P
Hybride	Bouche de Bétizac	125	Astaminé	A580	E40E
sativa	Dauphine	105	Astaminé	A64C	E76I
sativa	Précoce des vans	135	Astaminé	E40R	E72S
sativa	NA	381	Longistaminé	E430	E52J
sativa	Despont n°3	501	Longistaminé	A65F	E78E

Chaque espèce est représentée par huit arbres de quatre variétés dont deux longistaminées et deux astaminées (Tab. I). Les deux arbres choisis pour chaque variété sont éloignés, soit situés dans chacune des parcelles, soit à distance sur la même parcelle, pour éviter au maximum de confondre l'effet d'une variété avec celui de l'environnement local.

Ainsi, chaque variété est répliquée deux fois, chaque type de chaton quatre fois et chaque espèce huit fois.

Le suivi des 16 arbres est réalisé deux jours par semaines sur deux mois (juin et juillet). Les mois précédents du stage ont été mis à profit pour réaliser l'étude portant sur la base de données SPIPOLL, élaborer le protocole de l'étude sur châtaignier sur le site de l'INRA et effectuer une communication auprès des utilisateurs de la plateforme SPIPOLL afin d'augmenter le jeu de données français sur châtaignier. Les résultats de l'étude sur le terrain ne seront donc pas présentés dans ce rapport. Cependant, les données obtenues et leurs analyses feront l'objet d'un nouveau compte rendu à la fin du mois de juillet 2019.

#### ii. Elaboration du protocole sur le terrain

Le protocole est inspiré de celui appliqué pour le SPIPOLL. Le relevé des facteurs abiotiques reste identique ainsi que le temps d'observation. En revanche, les relevés d'abondance sont plus précis et l'observateur note la phénologie des fleurs. Au début, l'observateur note la phénologie de la reproduction de l'arbre, en se déplaçant autour de l'arbre, permettant aux insectes de s'habituer à la présence de celui-ci. L'observateur indique sur la fiche de terrain les taxons observés et leur abondance (cf. annexe 3). Chaque jour, les 16 arbres sont suivis. Les relevés commencent vers 10h et finissent le plus souvent vers 15h. Le circuit n'est jamais identique afin que les arbres ne soient pas toujours suivis à la même heure. Deux observateurs effectuent le suivi en même temps, chacun faisant le relevé pour huit arbres. Afin d'éviter les biais d'observateur des fiches insectes détaillant les critères d'identification ont été réalisées et l'identification finale des insectes est toujours effectuée d'après photo sur ordinateur par la même personne. Les photographies sont prises avec un Nikon D7200 objectif AF-S VR Micro-Nikkor 105mm f/2.8G IF-ED. Elles sont ensuite recadrées et retouchées à l'aide du logiciel Adobe Lightroom.

Lors des suivis photographiques sur le site INRA, la phénologie des fleurs est relevée à l'aide d'une échelle standardisée universelle. Chaque inflorescence est notée séparément : les chatons mâles des rameaux unisexués, les fleurs femelles et les chatons mâles des rameaux bisexués (Fig 1). Cette notation permet de connaître l'évolution des fleurs au cours du temps et de déterminer précisément les dates de maturités des fleurs. La table de notation a été créée en 2018 par Clément LARUE, Doctorant CIFRE à l'INRA.

#### iii. Stockage des données

Les données sont collectées sous formes de photographies et sont stockées sur une photothèque récemment développée à l'INRA de Pierroton. La description de chaque photographie renseigne l'identification ainsi que l'abondance de l'insecte observé. Les facteurs abiotiques sont affichés dans les métadonnées de la photographie (Fig. 5). Parallèlement, une base de données est construite et reprend l'ensemble de ces paramètres.

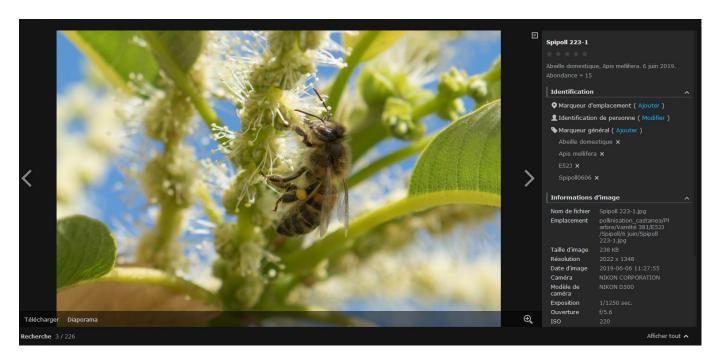


Figure 5 : Interface de la photothèque.

#### Résultats

#### 1. Variation des communautés d'insectes floricoles entre plantes

#### a. Comparaison entre châtaignier et tilleul

Le nombre de taxons d'insectes associés aux fleurs de châtaignier et de tilleul a été estimé avec le protocole Flash. A ce jour, seulement neuf collections ont été effectuée sur le châtaignier et 16 sur les tilleuls, ces deux arbres n'ayant pas particulièrement attiré les contributeurs habituels de ce programme de recherche participative. Chez le châtaignier, la richesses moyenne est de 13,3 contre 7,9 chez le tilleul. La comparaison des distributions de richesse entre ces deux espèces d'arbres pour toutes les collections est évaluée à l'aide d'un test non-paramétrique de Wilcoxon. Le niveau de signification pour l'ensemble des tests est alpha = 0,05. Le test montre une différence significative entre les deux taxons (V = 325, p-value  $< 10^{-4}$ ).

#### b. Comparaison entre toutes les plantes

Les analyses ont porté sur les communautés d'insectes floricoles de 117 plantes. Au total, cela représente 16 098 collections impliquant 525 taxons d'insectes différents.

Le nombre de taxons d'insectes différents observés en moyenne par séance de 20 minutes a été calculé pour chaque plante. Il donne une indication standardisée sur la richesse en taxons d'insectes floricoles associés à une plante. Les richesses moyennes sont calculées en fonction du nombre de collection pour chaque taxon végétal. En moyenne, 6,24 taxons d'insectes sont observés par collection. La richesse des communautés d'insectes floricoles varie selon les plantes de 14,1 (matricaire discoïde, représentée par 77 collections) à 1,4 (Les noisetiers, représentée par 13 collections) (Fig. 6).

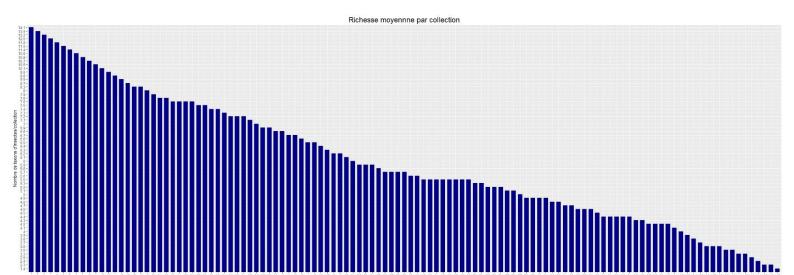


Figure 6 : Nombre moyen de taxons d'insectes observés par collection pour chaque taxon végétal entre 2010 et 2018.

Une richesse moyenne élevée de la communauté d'insectes floricoles signifie qu'une fleur attire directement ou indirectement une grande diversité d'insectes. Cette diversité diffère selon le taxon végétal. Depuis 2010, le nombre de collections par plantes est également variable. Le taxon des composées à fleurs jaunes appartenant à la famille des Astéracées possède près de 1400 collections tandis qu'il existe seulement 9 collections sur châtaignier. L'effort d'échantillonnage pour chaque taxon végétal est donc très variable. La richesse spécifique moyenne par collection « flash » (durée standardisée de 20 minutes) est donc calculée pour rendre les résultats comparables.

Tableau II : Richesses moyennes les plus élevées.

Numéro ID	Nom vernaculaire	Nom scientifique	Richesse moyenne (R)
1	La matricaire discoïde	Matricaria discoidea	14,1
2	Les berces	Heracleum sp.	13,9
3	Le châtaignier	Castanea sativa	13,2
4	Les angéliques	Angelica sp.	12,6
5	Le solidage du canada	Solidago canadensis	11,8
6	Les cerfeuils	Anthriscus sp., Chaerophyllum sp.	11,5
7	Les carottes	Daucus sp.	11,4
8	Le fenouil commun	Foeniculum vulgare	10,9
9	Le sureau yèble	Sambucus ebulus	10,8
10	Les marguerites	Leucanthemum sp.	10,7
20	Les tilleuls	Tillia sp.	7,9

Les 10 richesses moyennes les plus élevées sont comprises entre 14,1 et 10,7. Le châtaigner est en troisième position. Les tilleuls sont à la 20ème position sur 117 avec une richesse moyenne de 7,9.

Un indice de similarité entre communautés prenant en compte les abondances moyennes de chaque taxon d'insecte a été utilisé (indice de Steinhaus). Dans un premier temps, la similarité entre les communautés associées au châtaignier et les communautés associées à chacune des 116 autres plantes a été calculée, pour identifier les espèces ayant les communautés les plus semblables à celle observée sur châtaignier (Tab. III).

Tableau III : Communautés d'insecte les plus similaires à celle sur Castanea sativa.

Numéro ID	Nom vernaculaire	Nom scientifique	Coefficient de Steinhaus (S <sub>17</sub> )
9	Le sureau yèble	Sambucus ebulus	0,41
20	Les tilleuls	Tilia sp.	0,41
15	Les ronces à fleurs roses	Rubus sp.	0,40
37	Les pommiers	Malus sp.	0,37
7	Les carottes	Daucus sp.	0,35
17	Les troënes	Ligustrum sp.	0,35
2	Les berces	Heracleum sp.	0,34
40	Les saules	Salix sp.	0,33
32	Les ronces à fleurs blanches	Rubus sp.	0,32
95	Le robinier faux-acacia	Robinia pseudoacacia	0,32

L'indice de similarité est calculé à l'aide du coefficient de Steinhaus ( $S_{17}$ ). Les valeurs d'indice varient entre les dix premiers taxons végétaux de 0,41 à 0,32.

Un indice de similarité élevé signifie que les insectes observés et leur abondance sont proches de ceux obtenus sur le châtaignier. Cet indice varie selon les taxons végétaux.

La demi-matrice des dissemblances entre les 117 taxons végétaux pris deux à deux (6786 valeurs) a été calculée et a servi de base à une analyse multivariable, permettant de représenter les communautés d'insectes floricoles dans un espace de faible dimension avec des axes optimaux en termes de variabilité représentée (Fig. 7).

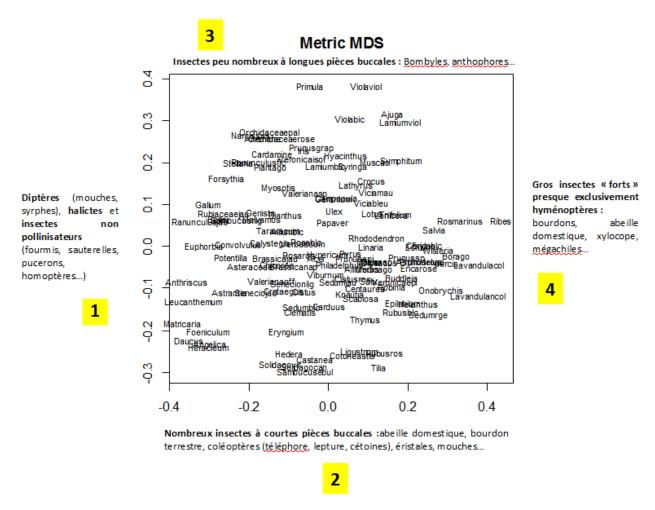


Figure 7 : Groupement des taxons végétaux en fonction de leur communauté d'insectes floricoles.

La communauté associée au châtaignier est positionnée au milieu du premier axe, qui n'est donc pas discriminant pour cette espèce. Par contre, cette communauté du châtaignier est positionnée tout en bas de l'axe 2. Les autres communautés floricoles qui apparaissent également sur cet axe à proximité du de celle du châtaignier sont celles du sureau yèble (*Sambulus ebulus*), du lierre (*Hedera helix*) et du tilleul, notamment. Elles sont situées à l'opposé des communautés des violettes, de la primevère ou encore du bugle rampant.

La signification des axes a été déterminée a posteriori. Les compositions des communautés d'insectes associés aux quatre groupes de plantes situées aux extrémités des axes 1 et 2 de l'analyse multivariable ont été comparées entre elles. L'axe 1 explique 14% de la variation des communautés. Sur la partie positive de l'axe 1, on trouve des plantes telles la bourrache, la glycine, le groseiller, le romarin, la sauge ou les lavandes. Les insectes caractéristiques de ces plantes sont des insectes de grande taille et de forte corpulence (abeille domestique, bourdons de plusieurs types, mégachiles, xylocopes). A l'autre extrémité de l'axe 1, on trouve des plantes telles les renoncules, gaillets, genêts, euphorbes ou liserons. Les insectes les plus fréquents et caractéristiques de ces plantes sont les fourmis, moustiques et tipules, pucerons, homoptères, sauterelles (dont certains sont probablement peu impliqués dans la pollinisation) soit des mouches et syrphes et halictes (petits hyménoptères). Sur l'axe 2, qui explique 10% de la variabilité totale, on trouve en haut du graphique aux valeurs positives les plus grandes des plantes comme les bugles, lamiers, pensées, et primevères. Les espèces d'insectes caractéristiques de ce groupe de plantes sont les bombyles, anthophores, rhingies, et osmies, insectes caractérisés par de longues pièces buccales leur permettant d'accéder

au nectar stocké à l'extrémité d'un tube floral. Enfin, de l'autre côté de l'axe 2, aux valeurs négatives, on trouve le châtaignier ainsi que les tilleuls, cotoneaster, sureau yèble, lierre et solidages. Les insectes caractéristiques sont de nombreux diptères (mouches diverses, éristales, mais aussi des coléoptères tels les téléphores fauves, les cétoines métalliques, le lepture fauve) et des hyménoptères telle l'abeille domestique mais aussi les andrènes rayées et les halictes. La plupart de ces insectes sont caractérisés par de courtes pièces buccales.

De façon plus détaillée, chez le châtaignier, 59 taxons d'insectes différents ont été observés sur 9 collections. Les plus fréquents sont listés sur la Table 4.

Tableau 4 : Taxons les plus représentés dans la communauté d'insecte floricole du châtaignier.

Nom vernaculaire de l'insecte	Nom scientifique de l'insecte	Nombre d'apparition sur 9 collections	Abondance moyenne par collection
L'abeille mellifère	Apis mellifera	9	4,28
Le Téléphore fauve	Rhagonycha fulva	6	3,11
Les Fourmis à pétiole simple	Formicinae sp.	5	2,33
Les Mouches difficiles à			,
déterminer	Diptère sp.	8	1,39
Le Myrtil <maniola jurtina=""></maniola>	Maniola jurtina	4	2,33
Les Leptures fauves	Paracorymbia fulva	5	1,78
Le clairon des ruches	Trichodes alverius	4	1,56
Les Lépidoptères difficiles			
à déterminer	Lepidoptera sp.	3	1,56
Les andrènes rayées			
difficiles à déterminer	Andrenidae sp.	3	1,17
Les Mordelles	Mordellidae sp.	3	1,17

#### 2. Etude expérimentale sur le châtaignier

Le suivi des 16 arbres destiné à étudier la composition des communautés entre individus de châtaignier est en cours. Le protocole a été mis en place et a permis de collecter efficacement des données lors des quatre premières journées de suivi. La clé d'identification et la photothèque sont adaptées à l'étude. La base de données est en construction et permettra d'analyser les facteurs de structurations des communautés à une échelle plus fine entre espèces proches ou entre individus d'une même espèce.

Les chatons mâles chez *C. sativa* sont les seuls à produire du nectar, or la fécondation est possible seulement si la pollinisation a lieu sur la fleur femelle. Le passage d'un insecte sur les stigmates des fleurs femelle est a priori un événement rare. Lors des quatre prospections cet évènement a été observé et documenté neuf fois, impliquant six espèces différentes : *Apis mellifera, Rhagonycha fulva, Coccinellidae sp., Sarcophaga sp., Formicinae sp.* et *Synema globossum* (Fig. 8).





Figure 8 : Photographies d'insectes sur les stigmates avec une abeille domestique, *Apis mellifera* à gauche et un téléphore fauve, *Rhagonycha fulva* à droite.

#### 3. Collaborations et médiations scientifiques

L'ensemble des données utilisées pour l'étude rétrospective ont été obtenues grâce aux sciences participatives du SPIPOLL (cf Matériel et méthodes 1.b.ii.). Ce jeu de données n'aurait pu être obtenu sans la collaboration avec le MNHN et la participation des « Spipolliens ». Tout le crédit leur revient et leur contribution essentielle sera mentionnée lors de la publication de ce travail. Un compte rendu de toutes nos recherches sera effectué à leur intention. Notre équipe a été invitée à participer aux rencontres annuelles du SPIPOLL un week-end de mai 2019. Pendant ces rencontres, une première présentation des résultats a pu être effectuée à l'occasion d'une conférence ouverte au public dans les Cévennes. Lors de ces rencontres, M. Jocelyn FONDERFLICK, chercheur pour le Parc national des Cévennes, a fait part de son intérêt pour le projet. Un compte rendu lui sera également partagé.

Depuis, un projet SPIPOLL nommée MissionChataignier a été créé pour sensibiliser les Spipolliens. Ce projet permettra d'augmenter le nombre de collections sur châtaigner afin d'avoir une meilleure représentation des communautés d'insectes à l'échelle nationale. Le forum actif du SPIPOLL permet d'échanger régulièrement avec les participants et de répondre à leurs questions. En exemple, des fiches d'aides d'identification du châtaignier ont été créées suite aux demandes reçues.

#### Discussion

#### 1. Interprétation des résultats obtenus

Les espèces du genre *Tillia* et le châtaignier sont deux taxons d'arbres à floraison tardive. Les espèces de tilleuls sont connues pour leur caractère entomophile alors que pour le châtaignier la plupart des auteurs, du moins en Europe, insistent sur son caractère à la fois anémophile et entomophile (Deguines *et al.*, 2014). Il semble donc pertinent de comparer la richesse moyenne de ces deux taxons qui ont par ailleurs de nombreuses similarités. Les valeurs observées sur les tilleuls servent de référentiel afin de déterminer comment se situe le châtaignier par rapport à des plantes entomophiles. L'hypothèse étant que des plantes entomophiles comme les tilleuls attirent nécessairement une plus grande diversité d'insectes que des espèces anémophiles.

Or le châtaignier attire un plus grand nombre d'espèces que le tilleul. La richesse moyenne des communautés sur tilleul est de 7,9, valeur significativement inférieure à celle trouvée sur châtaignier, qui s'élève à 13,2 (V= 325 ; p-value < 10<sup>-4</sup>). L'hypothèse que le châtaignier, parfois présenté comme espèce surtout anémophile (Deguines *et al.*, 2014), attire moins les insectes que le tilleul est donc rejetée. Cependant, il est difficile de déterminer si les insectes photographiés sont visiteurs ou pollinisateur des châtaigniers. D'autres expériences, utilisant le taux de remplissage des bogues de 2019 et la mise en place de filets empêchant l'accès des insectes pollinisateurs, sont actuellement en cours pour étudier le mode de pollinisation du châtaignier.

D'autre part, même si la clé SPIPOLL propose une identification des insectes nocturnes, la majeure partie des relevés a lieu durant la journée. L'odorat des insectes est précieux pour détecter les sources de nectar et de pollen (Albouy, 2018). Cependant, la production de parfum et de nectar par les plantes n'est pas continue et suit des pics à des moments précis du jour ou de la nuit voire au crépuscule. Les espèces de tilleuls émettent de puissantes odeurs à la tombée de la nuit et une partie de leur pollinisation est liée aux insectes nocturnes (Albouy, 2018). Cette pollinisation est mal représentée ici et la diversité d'insectes floricole recensée à ce jour est sans doute incomplète pour ce taxon. Chez le châtaignier, l'odeur est émise la journée et les pics de production de nectar sont diurnes : sa richesse spécifique serait donc mieux représentée ici malgré le faible nombre de relevés disponibles à ce jour

Le châtaignier fait partie des plantes ayant les richesses moyennes les plus élevées (R=13,2). Les dix plantes ayant les communautés associées les plus riches utilisent des stratégies de pollinisation similaires. La plupart de ces plantes à inflorescence utilisent la stratégie dite de « la vitrine florale » (Albouy, 2018). Cette stratégie consiste à épanouir les fleurs massivement et spontanément. Elle permet d'attirer les insectes sur de longues distances à l'aide de l'émission de parfum. Une large vitrine florale favorise le nombre de visites d'insectes floricoles car elle permet de rentabiliser les coûts pour les insectes grâce à la proximité des fleurs (Fontaine et al, 2006). Cette stratégie de vitrine florale consiste en des inflorescences disposées en ombelles, ou en longs chatons pour le châtaignier, permettant aux insectes d'atterrir et de se déplacer rapidement. Le regroupement en ombelles, en épi ou en capitule permet d'augmenter l'effet de taille des fleurs et de concentrer les odeurs (Albouy, 2018). Il permet de faciliter la détection des fleurs par les insectes via la vue et l'odorat. Ainsi, les fleurs dégagent une odeur forte et sont le plus souvent de couleur blanche ou jaune. Ces couleurs claires tranchent avec la couleur du feuillage permettant d'attirer un plus grand nombre d'insectes diurnes (Proctor et al., 1996). En effet, les couleurs blanche et jaune reflètent un grand spectre d'ondes lumineuses telles que les ondes ultraviolettes captées par les hyménoptères (Becker et al., 2019). Le châtaignier utilise des stratégies supplémentaires pour améliorer la pollinisation : la floraison est tardive et massive, à une époque où l'offre en fleurs est limitée (juin-juillet).

Les noisetiers, les pensées et les orchidées possèdent une diversité faible en taxons d'insectes. Ces résultats sont cohérents avec la stratégie de reproduction de ces végétaux. Les noisetiers sont anémophiles tandis que les pensées et les orchidées sont adaptées à un petit nombre d'espèces d'insectes pollinisateurs.

Cependant, la richesse spécifique n'est pas suffisante pour caractériser une communauté : en effet deux communautés ayant la même richesse peuvent n'avoir aucun taxon d'insectes en commun. Le calcul de la similarité des compositions des communautés permet de regrouper les plantes entre elles selon leur communauté associée d'insectes floricoles.

Les communautés les plus similaires à celles du châtaignier sont observées sur Sambucus ebulus ou sur des tilleuls. Le châtaignier ne possède pas une communauté d'insectes floricoles unique. Le nombre de relevés sur le châtaignier étant faible, les résultats sont à interpréter avec prudence. Néanmoins, il apparait clairement que plusieurs plantes non apparentées au châtaignier ont des communautés d'insectes très proches, compte tenu des nombreux facteurs de fluctuation. Des plantes appartenant à d'autres familles que le châtaignier (Fagacées) ont des communautés proches, notamment des Astéracées, des Apiacées et des Araliacées. Ces plantes ont développé indépendamment des stratégies similaires pour assurer leur pollinisation. Ces convergences évolutives attirent plus ou moins les mêmes insectes floricoles. Leurs similitudes résident dans les mécanismes de pollinisation utilisés et les communautés d'insectes floricoles qui les détectent.

Comme vu précédemment, la disposition des inflorescences, la couleur et l'odeur sont des facteurs de structuration des communautés d'insectes floricoles. Les taxons végétaux opposés au groupe du châtaignier utilisent des stratégies de pollinisation inverses. Le calice des espèces du genre *Viola* (violettes et pensées) forme une coupe profonde. Cette disposition diminue l'accès au nectar produit à sa base. Les insectes aux langues longues sont favorisés et composent une grande partie des communautés observées sur ce groupe (*Bombylius sp., Systoechus sp.* et *Anthophora sp.*). Chez le châtaignier les inflorescences mâles sont les seuls à produire du nectar. Ce dernier, plus accessible, attire des insectes floricoles à langues courtes tels que les coléoptères (*Oxythyrea funesta, Rhagonycha fulva ou Paracorymbia fulva*). L'ordre des coléoptères est, effectivement, celui qui est le plus diversifié sur le châtaignier. Toutefois, les hyménoptères restent les plus abondants en individus sur châtaignier (outre l'abeille domestique, on trouve *Andrena sp.* et *Apis mellifera*, notamment).

Les diptères jouent un rôle important dans la pollinisation de diverses fleurs cultivées. Les éristales et les syrphes sont connus comme de bons pollinisateurs (Albouy, 2018). Les fleurs plates et peu profondes sont adaptées à leurs trompes courtes. Ils sont attirés par les inflorescences en forme d'ombelle ou de capitules telles que celles des marguerites, *Leucanthemum sp.*, des cerfeuils, *Anthriscus sp.* ou encore *C. sativa*. La production massive de nectar, de pollen et de parfum de ces fleurs attire et fournit de la nourriture pour les insectes visiteurs. La communauté en insectes de la plante est alors composée d'insectes peu ou non pollinisateurs (sauterelles, pucerons, fourmis). Dans chaque communauté d'insecte floricole les prédateurs telles certaines araignées sont également identifiés puisque la présence d'une proie induit celle de son prédateur.

Les fleurs telles que les sauges utilisent la pollinisation « active » ou « en mouvement ». Chez les sauges, les étamines sont plaquées sur le plafond de la corolle et sont reliées par un appendice pour former une palette. Lorsque l'insecte pollinisateur entre dans la corolle à la recherche de nectar sa tête appuie sur la palette des étamines. Elles basculent vers le bas et déposent le pollen sur le dos de l'insecte (Proctor *et al.*, 1996). Les gros insectes couverts de poils (bourdon, *Bombus sp.* ou abeille charpentière, *Xylocopes sp.*) sont alors les plus adaptés pour disséminer le pollen de ces fleurs.

Les espèces de tilleul présentent des communautés d'insectes similaires à celle du châtaignier malgré des richesses spécifiques significativement différentes. La diversité en insectes n'est pas un facteur majeur de la structuration des communautés.

Dans ce travail, l'abondance de chaque taxon a été prise en compte et permet d'aller au-delà d'une comparaison basée sur les seules occurrences (présence/absence). L'abondance reflète le fonctionnement (plus un insecte est abondant, plus il a de chance de polliniser une plante) et apporte ainsi des informations supplémentaires permettant de mieux comprendre et interpréter la structuration des communautés.

Cette structuration dépend de la morphologie des plantes et des insectes. Certains taxons végétaux attirent à la fois une grande richesse spécifique d'insectes et une forte abondance de ces insectes. Ces plantes, dont fait partie le châtaignier, sont des espèces généralistes avec un fort pouvoir d'attractivité.

Le suivi actuellement en cours de 16 arbres permettra d'étudier la composition des communautés entre espèces et variétés de châtaignier. Le protocole a été mis en place et a permis de collecter des données lors de quatre journées, et ceci dès le début de la floraison du châtaignier (fin mai). La clé d'identification et la photothèque sont bien adaptées à l'étude. La base de données est en construction et permettra d'analyser les facteurs de structuration des communautés à d'autres échelles d'organisation plus fines.

#### 2. Etude complémentaire et perspectives

Un deuxième protocole pourrait être mis en place afin d'observer plus précisément la visite des fleurs femelles par les insectes et connaître la fréquence de l'événement. L'élaboration d'un catalogue comportemental des espèces d'insectes les plus abondantes permettrait d'étudier les réactions des insectes floricoles confrontés à des arbres différents, notamment mâles fertiles (longistaminés) et stériles (astaminés). Enfin, l'étude de la base de données SPIPOLL pourra être actualisée avec les données nouvelles acquises notamment sur châtaignier par les « Spipolliens » pendant l'année 2019.

Des expériences menées en parallèle dans l'équipe permettront de manipuler certaines caractéristiques des plantes pour vérifier leur effet sur les pollinisateurs. Par exemple, des expériences sont actuellement menées en entourant les rameaux de châtaigniers d'un pochon pour faire « barrière » aux insectes. Les mailles du sac sont par contre assez larges pour une pollinisation anémophile. Dans une autre expérience, les arbres sont émasculés partiellement ou totalement avant la floraison.

L'efficacité de reproduction chez les châtaigniers se traduit par le taux de remplissage des bogues. L'inflorescence femelle est formée de trois fleurs. Après fécondation, cette inflorescence forme la future bogue. Chaque bogue contient potentiellement trois fruits. Parfois, seulement un ou deux fruits se développent. Ce taux de remplissage est alors réduit. Ce taux sera relevé en automne 2019 sur les arbres suivis ce printemps. Les conditions de pollinisation pourront donc être reliées à l'efficacité de la pollinisation estimée au travers de ce taux de remplissage.

#### Conclusion

Le suivi photographique d'insectes floricoles ne permet pas toujours d'identifier l'insecte jusqu'à l'espèce mais ce n'est pas un frein à l'étude des communautés. Cette méthode non destructrice permet la mesure des variations de diversité d'insectes et celles de la structure des réseaux de pollinisation. La pollinisation du châtaignier n'avait jusqu'à présent été que très peu étudiée. Les premiers résultats obtenus indiquent que c'est une espèce de plante généraliste attirant une communauté d'insectes diversifiée et abondante. Cette étude préliminaire constitue une avancée à la fois scientifique et pratique. Une meilleure connaissance de la reproduction des châtaigniers permet de sensibiliser les castanéiculteurs à la problématique des insectes pollinisateurs et permet de faire évoluer la conduite des vergers. Pour le moment, les techniques de culture n'intègrent pas la problématique de la pollinisation du châtaignier par les insectes, comme c'est le cas pour d'autres cultures fruitières. Au-delà de la prise en compte du service écosystémique de pollinisation, il est important de comprendre le fonctionnement de l'écosystème dans sa globalité afin d'appliquer une castanéiculture responsable et durable.

#### Références

Abrol Dharam P., 2015. Polliniation biology, Vol. 1 Pests ans pollinators of fruits crops, Springer International Publishing, Basel, Suisse, 452 p.

Albouy V. 2018. Pollinisation Le genie de la nature. Editions Quae, Versailles, 183 p.

Becker MC., Rossler W., Strube-Bloss MF., 2019. UV light perception is modulated by the odour element of an olfactory-visual compound in restrained honeybees. Journal of Experimental Biology , 222 (10), Article n° UNSP jeb201483.

Deguines N., Jono C., Baude M., Henry M., Julliard R., Fontaine C., 2014. Large-scale trade-off between agricultural intensification and crop pollination services. Frontiers in Ecology and the Environment, 12 (4): 212-217.

Fernandez-Lopez J., 2011. Identification of the genealogy of interspecific hybrids between *Castanea* sativa, Castanea crenata and Castanea mollissima. Forest systems. 20 (1): 65-80

Fontaine C., Dajoz I., Meriguet J., Loreau M., 2006. Functional diversity of plant-pollinator interaction webs enhances the persistence of plant communities. PloS Biol, 4 (1), e1.

Garibaldi L.A. *et al.*, 2013 Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. Science, 339 (6127): 1608-1611

Giovanetti M., Aronne G.,2011. Honey bee interest in flowers with anemophilous characteristics: first notes on handling time and routine on Fraxinus ornus and Castanea sativa. *Bulletin of Insectology*, 64(1), 77-82

Klinerova T., Tasevova K., Dostal P., 2018. Large generative and vegetative reproduction independently increases global success of perennial plants from Central Europe. Journal of biogeography. 45 (7): 1550-1559.

Ollerton J., Alarcón R., Waser N.M., Price M.V., Watts S., Cranmer L., Hingston A. Peter, Rotenberry J., 2009. "A global test of the pollination syndrome hypothesis". Annals of Botany. 103 (9): 1471–1480

Pouvreau A., 1996. Les Coléoptères et les fleurs. INRA, URA 1190. 101: 23-27.

Pouvreau A., 2004, Insectes pollinisateurs, Delachaux et nestlié, Lonay, Suisse 192p.

Proctor, M.; Yeo, P.; Lack, A., 1996. The natural history of pollination, Harper Collins Publishers, New York, 479 p.

Yan LY. *et al*, 2012. Identification of an AFLP Molecular Marker Linked to Parthenocarpy Gene in Monoecious Cucumber. Acta Horticulturae. 929: 283-286.

#### **Annexes**

#### Script R

```
##Wilcoxon pour comparaison entre tilleul et châtaignier##
Data<-read.table("Comp_Tillia_Castanea.csv",sep=";", dec=",", h=T)
Data
library(Rcmdr)
normalityTest(Nb_espece ~ Plantes, test="shapiro.test", data=Data)
with(Data, median(Nb_photo, na.rm=TRUE))
with(Data, mean(Nb_photo, na.rm=TRUE))
with(Data, wilcox.test(Nb_photo, alternative='two.sided', mu=0.0))
##Etude des richesses moyennes##
tab<-read.table("Flower_taxon_select_all.csv",sep=";", dec=",", h=T)
head(tab)
library(ggplot2)
##Histogramme présentant la diversité d'insectes##
Richness <-as.factor(tab$sp.coll)
Richness
Flower <-as.factor(tab$Flower id)
Flower
plot_div<-ggplot(tab, aes(width = .7, x=Flower, y=Richness)) +
geom_bar(stat="identity", fill="darkblue")+ ggtitle("Richesse moyennne par collection") +
xlab("Taxons végétaux") + ylab("Nombre de taxons d'insectes/collection")
plot_div + theme(plot.title = element_text(color="black", size=18,hjust=0.5))
##Matrice de similarité##
DATA1<-read.table("Matrice_Distances.csv", header=T, row.names=1, dec=",", sep=";")
View(DATA1)
###Convertion des données en matrice
#Conversion
DATA1<-as.matrix(DATA1)
#Inspection
DATA1[1:5, 1:5]
### 1) MDS 'cmdscale'
mds1<-cmdscale(DATA1, k = 2)
mds1
```

# Tableau des correspondances

1 Matricaria_discoidea	60 Les_Gaillets_jaunes_famille_des_Rubiaceae
2 Heracleum_sp	61 Les_Pissenlits_Taraxacum_sp
3 Castanea_sativa	62 Asphodelus
4 Angelica_sp	63 Les_Lavandes_avec_une_houppe
5 Solidago_canadensis	64 Les_Mauves_a_feuilles_entieres_des_especes_du_genre_Malva
6 Anthriscus_et_Chaerophyllum	65 Les_Orpins_rougesroses_des_especes_du_genre_Sedum
7 Daucus_sp	66 Le_Liseron_des_haies_Calystegia_sepium_L_R_de_Breuil
8 Foeniculum_vulgare	67 La_Cardamine_des_pres_Cardamine_pratensis_L
9 Sambucus_ebulus	68 Les_Forsythias_Forsythia_sp
10 Leucanthemum	69 Les_Lotiers_a_fleurs_jaunes_et_groupees_des_especes_du_genre_Lotus
11 Eryngium_a_fleurs_blanches	70 Les_Sauges_herbacees_a_fleurs_bleues_des_especes_du_genre_Salvia
12 Hedera_helix	71 Les_Myosotis_Myosotis_sp
13 Crataegus_sp	72 Les_Viornes_a_fleurs_semblables_des_especes_du_genre_Viburnum
14 Solidago_virgaurea	73 Les_Gesses_a_fleurs_violettes_ou_mauves_des_especes_du_genre_Lathyrus
L5 Rubus_a_fleurs_roses	74 Le_Lilas_commun_Syringa_vulgaris_L
16 Cirsium_et_Carduus	75 Prunus_a_fleurs_blanches_en_grappes
17 Ligustrum_sp	76 Le Sureau noir Sambucus nigra L
18 Knautia_sp	77 Les_Poiriers_Pyrus_sp
19 Scabiosa_sp	78 Les_Trefles_a_fleurs_blanches_ou_roses_en_boule_des_especes_du_genre_Trifolium
20 Tilia_sp	79 Les Geraniums des especes du genre Genanium
21 Clematis_a_fleurs_blanches	80 La_Ficaire_fausse_renoncule_Ranunculus_ficaria_L
22 Senecio_jacobaea	81 Les_Narcisses_a_fleur_jaune_en_trompette_des_especes_du_genre_Narcissus
23 Medicago_sativa_subsp_sativa_L	82 Les_Bruyeres_a_fleurs_roses_en_grappes_des_especes_du_genre_Erica
24 Brassicaceae jaunes	83 Les Oeillets Dianthus sp
25 Centaurea_a_fleurs_violettes	84 Les Coquelicots des especes du genre Papaver
26 Convolvulus_arvensis	85 Les_Stellaires_a_feuilles_etroites_des_especes_du_genre_Stellaria
27 Genista_a_feuilles_simples	86 Les_Rhododendrons_des_especes_du_genre_Rhododendron
28 Acer_a_inflorescences_en_corymbe	87 Les_Consoudes_Symphitum_sp
29 Brassica_napus	88 Les_Paquerettes_Bellis_sp
00 Linaria_a_fleurs_jaunes	89 Les_Abricotiers,_Pruniers_et_Amandiers_a_fleurs_blanches_geminees_des_especes_du_genre_Pru
21 Dipsacus a fleurs roses	90 Les_Vesces_a_fleurs_mauves_ou_violettes_groupees_sur_la_tige_des_especes_du_genre_Vicia
32 Rubus a_fleurs_blanches	91 L_Arbre_de_Judee_Cercis_siliquastrum_L
33 Cistus_roses	92 Les_Lamiers_a_fleurs_blanches_des_especes_du_genre_Lamium
4 Les_Composees_a_fleurs_jaunes_a_port_dresse_famille_des_Asteraceae	93 Le_Groseillier_sanguin_Ribes_sanguineum_Pursh
S Les Euphorbes_a_feuilles_disposees_irregulierement_des_especes_du_genre_Euphorbia	94 Les_Valerianes_basses_des_especes_du_genre_Valeriana
36 Les Potentilles jaunes des especes du genre Potentilla	95 Le_Robinier_fauxAcacia_Robinia_pseudoacacia_L
77 Malus sp	96 La_Glycine_Wisteria_sinensis_Sims_Sweet
88 Les_Renoncules_jaunes_terrestres_des_especes_du_genre_Ranunculus	97 Les_Veroniques_a_fleurs_en_epi_des_especes_du_genre_Veronica
9 Buddleja davidii	98 La_Bourrache_officinale_Borago_officinalis_L
10 Les Saules_arbres_des_especes_du_genre_Salix	99 Les_Chevrefeuilles_a_fleurs_blanchesjaunes_des_especes_du_genre_Lonicera
1 Les_Orpins_jaunes_des_especes_du_genre_Sedum	100 Les_Bugles_a_fleurs_bleues_des_especes_du_genre_Ajuga
	101 Les_Campanules_a_port_dresse_des_especes_du_genre_Campanula
12 Les_Ajoncs_des_especes_du_genre_Ulex 13 Les_Thyms_Thymus_sp	102 Les_Bruyeres_a_fleurs_blanches_des_especes_du_genre_Erica
4 Les_Seneçons_sans_fleurs_ligulees_des_especes_du_genre_Senecio	103 Les_Iris_bleusviolets_des_especes_du_genre_Iris
	104 Les_Pechers_et_Cerisiers_a_fleurs_roses_en_grappes_des_especes_du_genre_Prunus
5 Les_Chicorees_et_Laitues_a_fleurs_bleues_famille_des_Asteraceae	105 Les_Jacinthes_a_fleurs_bleues_des_especes_des_genres_Hyacinthus_et_Hyacynthoides
6 Lavandula_sans_houppe	106 Le_Romarin_Rosmarinus_officinalis_L 107 Les_Lamiers_a_fleurs_pourpres_des_especes_du_genre_Lamium
7 Les_Viperines_a_fleurs_bleuesviolacees_des_especes_du_genre_Echium	107 Les_Lamiers_a_fieurs_pourpres_des_especes_du_genre_Lamium  108 Les_Veroniques_a_fleurs_isolees_le_long_de_la_tige_des_especes_du_genre_Veronica
8 Le_Prunier_epineux_Prunus_spinosa_L	108 Les_Veroniques_a_fleurs_isolees_le_long_de_la_tige_des_especes_du_genre_veronica  109 Les_Muscaris_a_fleurs_toutes_semblables_des_especes_du_genre_Muscari
9 Les_Rosiers_et_Eglantiers_a_fleurs_roses_des_especes_du_genre_Rosa	110 Les_Plantains_a_feuilles_en_rosette_des_especes_du_genre_Plantago
Les_Molenes_des_especes_du_genre_Verbascum	111 Les_Primeveres_jaunes_des_especes_du_genre_Primula
1 Les_Gaillets_blancs_des_especes_du_genre_Galium	112 Les_Safrans_precoces_des_especes_du_genre_Crocus
2 Les_Epilobes_a_petales_egaux_des_especes_du_genre_Epilobium	113 Les_Orchidees_a_fleurs_blanches, jaunes_ou_verdatres_plantes_de_la_famille_des_Orchidaceae
3 Les_Vesces_a_fleurs_bleues_ou_violettes_en_grappe_longue_des_especes_du_genre_Vi	114 Les_Orchidees_a_fleurs_roses_ou_pourpres_en_epi_plantes_de_la_famille_des_Orchidaceae
4 La_Mauve_musquee_Malva_moschata_L	115 Les_Pensees_violettes_des_especes_du_genre_Viola
5 Les_Millepertuis_Hypericum_sp	116 Les_Pensees_bi_ou_tricolores_des_especes_du_genre_Viola
6 Les_Orpins_blancs_des_especes_du_genre_Sedum	117 Les_Noisetiers_Corylus_sp
7 Le_Tournesol_Helianthus_annuus_L	
8 Les_Ails_a_inflorescences_rosesviolettes_en_tete_des_especes_du_genre_Allium	

# Fiche de terrain

Nom de l'observateur					
Ciel : couverture nuageuse	□ 0-25%	□ 0-25% □ 25-50%		□ 50-75%	□75-100%
Vent	□ Nul	□ Faible	□Fort	□ irrégulier	□ continu
Température	□<10°C	□ 10-20°C		□ 20-30°C	□ >30°C

$\sim$				
· (	$\sim$ c	CI	n	
	es	<b>5</b> 1		

Position arbre	Date	Heure de début	Exposition fleur
Note phénologie	♂ unisexués :	♀:	♂ bisexués :

Insecte	Abondance approximative
#1	
#2	
#3	
#4	
#5	
#6	
#7	
#8	
#9	
#10	
#11	
#12	
#13	
#14	

# Session 2

Position arbre	Date	Heure de début	Exposition fleur
Note phénologie	♂ unisexués :	♀:	♂ bisexués :

Insecte	Abondance approximative
#1	
#2	
#3	
#4	
#5	
#6	
#7	
#8	
#9	
#10	
#11	
#12	
#13	
#14	

### Résumé

La vie fixée des plantes exerce des pressions sur leur reproduction. La pollinisation par les insectes est l'une des nombreuses stratégies de reproduction utilisée par les végétaux. L'étude des communautés des insectes floricoles consiste à caractériser ces communautés (nombre et abondance des espèces) et à comprendre leurs interactions entre eux et avec la plante hôte. L'étude de ces communautés peut être réalisée à trois niveaux, en comparant les communautés d'insectes floricoles entre espèces végétales hôtes, entre espèces d'un même genre, et entre individus d'une même espèce de plante. Chacun est pris en compte dans ce travail exploratoire. Les analyses ont porté sur un jeu de données important produit par des amateurs et géré par le Muséum d'Histoire Naturelle de Paris (programme de sciences participatives SPIPOLL : Suivi Photographique d'Insectes POLLinisateurs). L'espèce choisie pour l'étude des communautés d'insectes floricoles entre espèces proches et entre individus est le châtaignier, *Castanea sativa*. Le suivi photographique de châtaigniers pour cette deuxième partie est en cours sur un verger expérimental de l'INRA.

L'étude a permis de grouper les taxons végétaux selon leur communauté en insectes et de montrer le caractère entomophile du châtaignier, une espèce souvent considéré comme anémophile. Tels que le les marguerites et le lierre, le châtaignier attire une grande diversité et abondance d'insectes et est considéré comme généraliste pour sa pollinisation. Le châtaignier attire une communauté d'insectes floricoles plus riche que le tilleul, une plante entomophile. Cette étude préliminaire constitue une avancée à la fois scientifique et pratique pour la culture du châtaignier. Une meilleure connaissance de la reproduction des châtaigniers permet de sensibiliser les producteurs et de faire évoluer la conduite des vergers.

#### **Abstract**

The sessile habit of plants generates pressures on their reproduction. Insect pollination is one of many reproductive strategies used by plants. The study of insect communities associated with flowers involves measuring insect species diversity and studying the composition of these communities to better understand their interactions with the flowering plant. It can be carried out on several scales, such as across all species of a flora, across closely related (i.e. congeneric) plant species, or across individuals of the same plant species. All three levels are considered here. The analyses across an entire flora were carried out with data provided by the "Museum d'Histoire Naturelle de Paris", obtained in the frame of a citizen science program called SPIPOLL (photographic monitoring of pollinating Insects). The plant species chosen for the follow-up study of flower insect communities at the species and individual level is the chestnut tree, *Castanea sativa*. This part of the project is not completed: the photographic monitoring of visiting insects in an orchard managed by INRA near Bordeaux is still ongoing.

The study so far has clearly established the entomophilous characteristics of chestnut tree pollination. Such as daisies or common ivy, chestnut attracts a high diversity and abundance of insects and is considered generalist. In line with this finding, The chestnut tree attracts a richer community of flower insects than the lime tree, an entomophilic plant. This exploratory study marks a significant step in our understanding of chestnut pollination, with both fundamental and applied consequences. A better knowledge of the reproduction of chestnut trees will help raise awareness and develop sustainable management of orchards.