



HAL
open science

Régulations biologiques de *Cosmopolites sordidus* dans le réseau trophique des bananeraies

Grégory Mollot

► **To cite this version:**

Grégory Mollot. Régulations biologiques de *Cosmopolites sordidus* dans le réseau trophique des bananeraies. Sciences agricoles. Université d'Avignon, 2012. Français. NNT : 2012AVIG0642. tel-00932464

HAL Id: tel-00932464

<https://theses.hal.science/tel-00932464>

Submitted on 17 Jan 2014

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.



ACADEMIE D'AIX-MARSEILLE

UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES PAYS DU VAUCLUSE

THESE

Présentée pour obtenir le grade de Docteur en Sciences et Technologies

de l'Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse

SPECIALITE : SCIENCES DE LA VIE

Régulations biologiques de *Cosmopolites sordidus* dans le réseau trophique des bananeraies

Par Grégory MOLLLOT

Soutenue publiquement le 12 Décembre 2012 devant un jury composé de

Pierre TABERLET	Directeur de recherche, CNRS, Grenoble	Rapporteur
David BOHAN	Chercheur, INRA Dijon	Rapporteur
Marie-Elodie PERGA	Chercheur, INRA Thonon-les-Bains	Examineur
François MESLEARD	Directeur de recherche, UAPV	Examineur
Françoise LESCOURET	Directrice de recherche, INRA, Avignon	Directrice de thèse
Philippe TIXIER	Chercheur, CIRAD, Martinique	Encadrant

LABORATOIRE D'ACCUEIL

UPR 26 Systèmes de culture à base de bananiers, plantains et ananas

CIRAD, Martinique

REMERCIEMENTS	1
AVANT-PROPOS.....	3
INTRODUCTION GENERALE	7
1. COMPRENDRE L'EFFET DE LA STRUCTURE DES RESEAUX TROPHIQUES SUR LA REGULATION DES ARTHROPODES.....	7
1.1. <i>Le concept de réseau trophique</i>	7
1.1.1. Les théories associées au réseau trophique	7
1.1.2. Les réseaux trophiques des agroécosystèmes.....	11
1.2. <i>La structure des réseaux trophiques</i>	11
1.2.1. Organisation des communautés en réseaux d'interactions	11
1.2.2. Indices de structures des réseaux	13
1.2.3. Modèles de structure des réseaux	14
1.3. <i>Méthodes d'études des réseaux trophiques</i>	15
1.3.1. Les outils de mesures des réseaux trophiques	15
1.3.2. Les limites des différentes méthodes de mesure des liens trophiques.....	17
1.4. <i>Les fonctions associées aux réseaux trophiques</i>	18
1.4.1. Les principales fonctions	18
1.4.2. Cas de la régulation top-down dans les agroécosystèmes.....	19
2. LE MODELE D'ETUDE : LE RESEAU TROPHIQUE DES BANANERAIES	21
2.1. <i>L'écosystème de la bananeraie</i>	21
2.1.1. La culture de bananes destinées à l'exportation	21
2.1.2. Cycle du bananier	21
2.1.3. Les bioagresseurs et maladies du bananier	21
2.2. <i>Le charançon du bananier et les voies de sa régulation</i>	22
2.2.1. Biologie du charançon et dégâts	22
2.2.2. Régulation par les pratiques culturales, les choix génotypiques et le piégeage	22
2.2.3. Les prédateurs potentiels	23
2.3. <i>Effet de la gestion des ressources primaires</i>	23
2.3.1. Principe de la couverture végétale	23
2.3.2. Effets de la couverture végétale sur les herbivores	23
2.3.3. Effets potentiels sur la régulation des bioagresseurs	24
3. OBJECTIFS ET ORGANISATION DE LA THESE.....	25
CHAPITRE I - EFFETS DE LA GESTION DES RESSOURCES PRIMAIRES SUR LA PREDATION D'UN BIOAGRESSEUR	27
ABSTRACT	30
1. INTRODUCTION	31
2. MATERIALS AND METHODS.....	32
2.1. <i>Study sites</i>	32
2.2. <i>Stable isotopes analysis</i>	32
2.3. <i>Abundance of Solenopsis geminata</i>	33
2.4. <i>Predation on weevil eggs</i>	33
2.5 <i>Statistical analyses</i>	33
3. RESULTS.....	34
3.1. <i>Stable isotope analysis</i>	34
3.2. <i>Abundance of Solenopsis geminata</i>	34
3.3. <i>Predation on weevil eggs</i>	34
4. DISCUSSION	34
4.1. <i>Solenopsis geminata uses the new primary resource pathway</i>	34
4.2. <i>Increase in abundance of Solenopsis geminata</i>	35
4.3. <i>Increased predation of Cosmopolites sordidus eggs</i>	35

4.4. Importance of primary resources for biological control by natural enemies.....	36
ACKNOWLEDGEMENTS	37
REFERENCES	38
CHAPITRE II - CARACTERISATION DU RESEAU TROPHIQUE D'UN AGROECOSYSTEME	45
ABSTRACT	48
1. INTRODUCTION	49
1.1. Ecosystems services	49
1.2. How food webs are studied.....	49
1.3. Methodological aspects	49
1.4. The banana agroecosystem.....	50
1.5. Description of the study.....	50
2. MATERIALS AND METHODS	50
2.1. Ethics statement	50
2.2. Overview of the procedure	51
2.3. Field sampling.....	51
2.4. Construction of the trnL bank of sequences.....	52
2.5. Construction of the mini-CO1 bank of sequences.....	52
2.6. Preparation of the trnL samples for 454 pyrosequencing.....	52
2.7. Preparation of the mini-CO1 samples for 454 pyrosequencing	53
2.8. 454 pyrosequencing of PCR products from gut contents	53
2.9. Bioinformatic processing of raw sequences obtained with 454 pyrosequencing	53
2.10. Resource identification via DNA barcoding and taxonomic resolution.....	53
2.11. Relationship between quantity of resource consumed and number of sequences detected	54
2.12. Construction of the quantitative food web	54
2.13. Food-web metrics	55
3. RESULTS	55
3.1. Processing raw sequences	55
3.2. Topology and metrics of the food web	55
4. DISCUSSION	56
4.1. Topology of the food web	56
4.2. DNA contamination and pyrosequencing error	57
4.3. Positive controls.....	57
4.4. Efficiency of the pyrosequencing.....	57
ACKNOWLEDGEMENTS	58
REFERENCES	59
SUPPLEMENTARY MATERIALS	68
CHAPITRE III - DETECTION DES ELEMENTS STRUCTURAUX D'UN RESEAU TROPHIQUE ET INFERENCE SUR SON FONCTIONNEMENT	75
ABSTRACT	78
1. INTRODUCTION	79
2. MATERIALS AND METHODS	80
2.1. Datasets	80
2.2. Comparisons of network metrics.....	80
2.3. Motifs detection and significance.....	81
2.4. Motif analysis	81
3. RESULTS	81
3.1. Food web structure changes with plant management.....	81
3.2. Significant motifs are detected only in the cover crop food web	82

3.3. <i>Herbivory is highly involved in key size-4 motifs</i>	82
3.4. <i>Distribution of interaction strengths within key size-4 motifs</i>	82
4. DISCUSSION	82
ACKNOWLEDGEMENTS	84
REFERENCES	85
SUPPLEMENTARY MATERIALS	93
CHAPITRE IV - DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION	97
1. LES APPORTS DE LA THESE	97
1.1. <i>Relations entre gestion des ressources primaires et la régulation de C. sordidus</i>	97
1.1.1. Synthèse des résultats.....	97
1.1.2. Implications pour la régulation de <i>C. sordidus</i>	98
1.1.3. Portée générale des résultats	98
1.2. <i>Applications du pyroséquençage pour l'étude des réseaux trophiques</i>	98
1.2.1. Synthèse des résultats.....	98
1.2.3. Portée générale des résultats	100
1.3. <i>Analyses structurales quantitatives et fonctionnement</i>	101
1.3.1. Synthèse des résultats.....	101
1.3.2. Implications pour la régulation du <i>C. sordidus</i>	102
1.3.3. Portée générale des résultats	102
1.4. <i>Vers une approche intégrée de la régulation des ravageurs par les prédateurs</i>	103
2. RETOUR SUR LES CHOIX METHODOLOGIQUES	103
2.1. <i>Mesures d'abondance et de prédation</i>	103
2.1.1. Importance et difficultés des mesures d'abondance.....	103
2.1.2. Limites des mesures des taux de prédation.....	104
2.2. <i>Pyroséquençage</i>	105
2.2.1. Les sources d'incertitude	105
Tableau 3. Le tableau reprend les différentes sources d'erreurs issues de l'utilisation du metabarcoding à ADN, la description de ces erreurs et leur origine, ainsi que les précautions à prendre pour les éviter.....	106
2.2.2. Suggestions pour les échantillonnages destinés au pyroséquençage	105
2.3. <i>Analyse structurale</i>	107
3. PERSPECTIVES GENERALES : VERS L'UTILISATION DE LA MODELISATION DES RESEAUX TROPHIQUES POUR DEFINIR DES MODES DE GESTION DES RAVAGEURS	107
4. CONCLUSION GENERALE	108
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	109
SUMMARY	119
RESUME	120

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier mes deux encadrants en Martinique : Pierre-François Duyck et Philippe Tixier, qui se sont montrés disponibles et très enthousiastes tout au long de ces trois dernières années. Ils ont également tout mis en œuvre pour que ma formation soit complète, en approuvant ma participation aux écoles thématiques et en m'encourageant à présenter mon travail lors de différentes communications orales. Ils sont toujours présents pour m'accompagner dans mon « après thèse ». Un grand merci à Françoise Lescourret, ma directrice de thèse, qui a su m'aider aux bons moments, grâce à son expertise sans failles et sa bonne humeur. Je la remercie aussi d'être venue régulièrement en Martinique pour assurer un suivi concret du bon déroulement de ma thèse. Je remercie aussi Raphaël Achard, pour avoir mis à disposition certaines parcelles expérimentales de bananiers qui ont servi au cours de cette thèse. Je remercie aussi Elsa Canard pour avoir largement contribué à l'analyse structurale sur les réseaux et pour sa gentillesse.

Je remercie la direction du CIRAD Martinique, Christian Chabrier, et du PRAM, Patrick Quénéhervé, pour m'avoir accueilli et pour avoir mis à disposition les laboratoires pendant les grandes phases de 'manip'. Je remercie aussi toutes les personnes du PRAM qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ma thèse. Un merci particulier à Philippe Ryckewaert, Christian Lavigne, Magalie Jannoyer, Peninna Deberdt, Jean-Claude Gertrude et la team des techniciens, et les personnes indispensables au PRAM : Myriam Valette, François Roch, Régine Coranson-Beaudu, et Jacqueline Legendry. Je remercie les partenaires locaux, et les gérants de l'Habitation Leyritz à Basse-Pointe, pour nous avoir autorisés à mener des expérimentations dans leurs parcelles.

Je remercie les membres des comités de thèse, pour avoir guidé mes travaux et donné les impulsions scientifiques décisives à l'orientation de la thèse : Serge Quilici, Sébastien Barot, Jean-Loup Notteghem, Manuel Plantegenest et Jean-François Martin. Je remercie tout particulièrement Jean-François Martin, Sylvain Piry et Maxime Galan pour m'avoir accueilli au sein du CBGP, pour avoir développé le logiciel d'analyse de séquences 454 et pour m'avoir donné des consignes précieuses pour le bon déroulement des expériences de biologie moléculaire. Je remercie aussi Florian Bardou, doctorant au CNRS de Gif-sur-Yvette pour toutes les discussions techniques et philosophiques autour de la biologie moléculaire. Je remercie Alain Ratnadass et Eric Malézieux pour m'avoir invité à présenter mes travaux lors de la réunion annuelle de l'unité de recherche Hortsys en Ardèche..

Je remercie les membres du jury et les rapporteurs pour avoir accepté avec enthousiasme d'évaluer mon travail.

Je remercie tous les stagiaires et VCAT qui se sont succédé au PRAM et avec qui j'ai partagé de bons moments, scientifiques ou amicaux. Je remercie Fabrice Vinatier pour m'avoir accueilli dans les règles de l'art à mon arrivée en Martinique, et pour m'avoir prêté sa maison. Je remercie particulièrement Jean-Emmanuel Duyck pour sa faculté à résoudre les problèmes informatiques en un temps record. Je remercie aussi Safia Guénifi que j'ai pu encadrer pendant un stage de Master 2, et qui a fortement contribué à la réalisation des expériences en laboratoire. Je remercie aussi Candice Deschamps, en souvenir de nos campagnes d'échantillonnages interminables.

Je remercie ma famille, ma mère, mon père, ma sœur et ma belle-famille pour leurs soutiens pendant ces longues années d'études. Je remercie d'une manière générale la Martinique, pour ses magnifiques paysages, et les martiniquais, pour leur sympathie et leur accueil. Et enfin, je dédie cette thèse à ma compagne Célie, qui m'a apporté un soutien sans faille, et à notre fils Matis, né sous le soleil des tropiques.

AVANT-PROPOS

Les systèmes de monoculture intensive visent à produire en grande quantité et rapidement, afin de nourrir une population mondiale croissante à moindre coût. Le déploiement d'une unique espèce végétale sur une exploitation agricole nécessite l'utilisation de pesticides pour contrôler les bioagresseurs, qui sont souvent favorisés par la présence de leur hôte préféré. Les plantes d'intérêt agronomique peuvent permettre aux bioagresseurs de se développer (hôte obligatoire pour leur cycle de développement), et de se nourrir (ressource). Les herbicides sont utilisés pour réduire l'abondance des adventices, qui sont souvent en compétition au niveau des racines avec la plante d'intérêt agronomique. L'utilisation de ces produits synthétiques, qui peuvent persister très longtemps dans l'environnement, a des effets indésirables sur les organismes vivants. Au-delà des aspects environnementaux, l'utilisation massive de ces produits durant plusieurs décennies a entraîné la sélection des individus résistants, réduisant considérablement leur efficacité.

Les systèmes de culture devront remettre la biodiversité au centre du concept de production agricole afin de réduire, voire de supprimer, l'utilisation d'intrants chimiques. L'augmentation des régulations naturelles constitue un aspect important des systèmes de culture plus durables. La gestion de la diversité des espèces vivantes présentes au sein de l'agroécosystème (notamment les plantes) représente un des leviers les plus importants pour favoriser ces régulations. La prise en compte de l'ensemble des interactions trophiques qui ont lieu entre les espèces de l'agroécosystème est d'une importance majeure pour comprendre les processus de régulations. Par exemple, les populations de bioagresseurs peuvent être régulées, par les effets « bottom-up » (régulation ascendante) et par les effets « top-down » (régulation descendante). Au sein des agroécosystèmes, la régulation ascendante est la conséquence de la gestion des ressources basales (par exemple, les plantes de couverture), qui peuvent défavoriser les bioagresseurs. La régulation descendante provient des prédateurs qui vont directement impacter les populations de bioagresseurs en les consommant.

Ce travail de thèse vise à comprendre les processus de régulations impliqués dans le contrôle des organismes phytophages dans les agroécosystèmes. Pour cela, l'étude des interactions entre les espèces du réseau trophique est nécessaire pour évaluer leurs influences, directes ou indirectes, sur les bioagresseurs. Nous étudions l'effet de pratiques culturales (manipulation des ressources basales) sur la structure et le fonctionnement du réseau trophique. Le cas d'étude choisi est le charançon du bananier *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera, Curculionidae) et sa régulation potentielle par les prédateurs généralistes de l'agroécosystème « bananeraie », en lien avec les pratiques culturales.

Cette thèse est organisée en trois parties, visant à (i) estimer le potentiel de régulation de *C. sordidus* du bananier par les prédateurs généralistes, (ii) identifier le réseau trophique de la bananeraie, et (iii) analyser la structure et le fonctionnement de ce réseau en fonction des pratiques culturales.

Ce travail a donné lieu à trois publications (1 publiée, 1 soumise, et 1 à soumettre), ainsi qu'à 2 présentations orales à un congrès international :

PUBLICATIONS

- **Mollot, G.**, Tixier, P., Lescourret, F., Quilici, S., Duyck, P.-F. 2012. New primary resource increases predation on a pest in a banana agroecosystem. **Agricultural and Forest Entomology**. 14 (3), pp. 317-323.

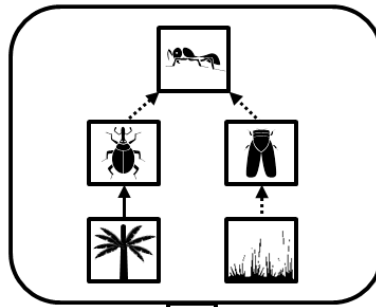
- **Mollot, G.**, Duyck, P.-F., Canard, E., Lescourret, F., Martin, J.-F., Piry, S., Tixier, P. Metabarcoding on arthropods' guts: technical issues and the food web of banana agroecosystems. **Soumis à PLoS One.**
- **Mollot, G.**, Tixier, P., Lescourret, F., Duyck, P.-F., Canard, E. Unequal distribution of strengths within key motifs shapes the structure of an agroecosystem food web. **À soumettre à Functional Ecology.**

COMMUNICATIONS

- **Mollot, G.**, Tixier, P., Lescourret, F., Guénifi, S., Martin, J.-F., and Duyck, P.-F. 2011. Combining stable isotopes analyses with next generation sequencing to disentangle trophic links in banana agroecosystem. International Congress of Entomology (ESA). Reno, NV, USA.
- Duyck, P.-F, Lavigne, A., **Mollot, G.**, Vinatier, F., Achard, R., N Okolle, J., Tixier, P., and Lescourret, F. 2011. A cover crop alters the trophic position of generalist predator in the litter of a banana agroecosystem. International Congress of Entomology (ESA). San Diego, CA, USA.

Comment la connaissance du réseau trophique d'un bioagresseur peut-elle permettre d'augmenter sa régulation?

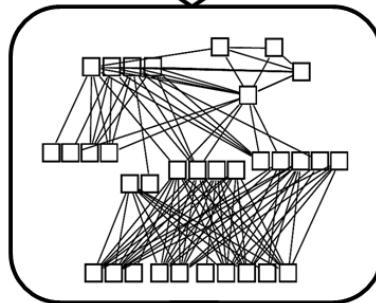
Prédation



Mesurer

les taux de prédation en fonction des pratiques culturales

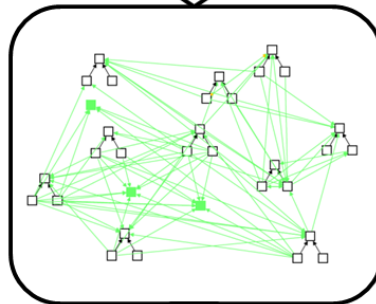
Structure



Caractériser

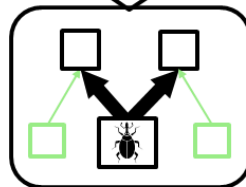
les régimes alimentaires par DNA metabarcoding

Fonction



Inférer

le fonctionnement par la détection des motifs



Augmentation de la régulation du bioagresseur

INTRODUCTION GENERALE

1. COMPRENDRE L'EFFET DE LA STRUCTURE DES RESEAUX TROPHIQUES SUR LA REGULATION DES ARTHROPODES

1.1. LE CONCEPT DE RESEAU TROPHIQUE

1.1.1. LES THEORIES ASSOCIEES AU RESEAU TROPHIQUE

LA RELATION PROIE-PREDATEUR

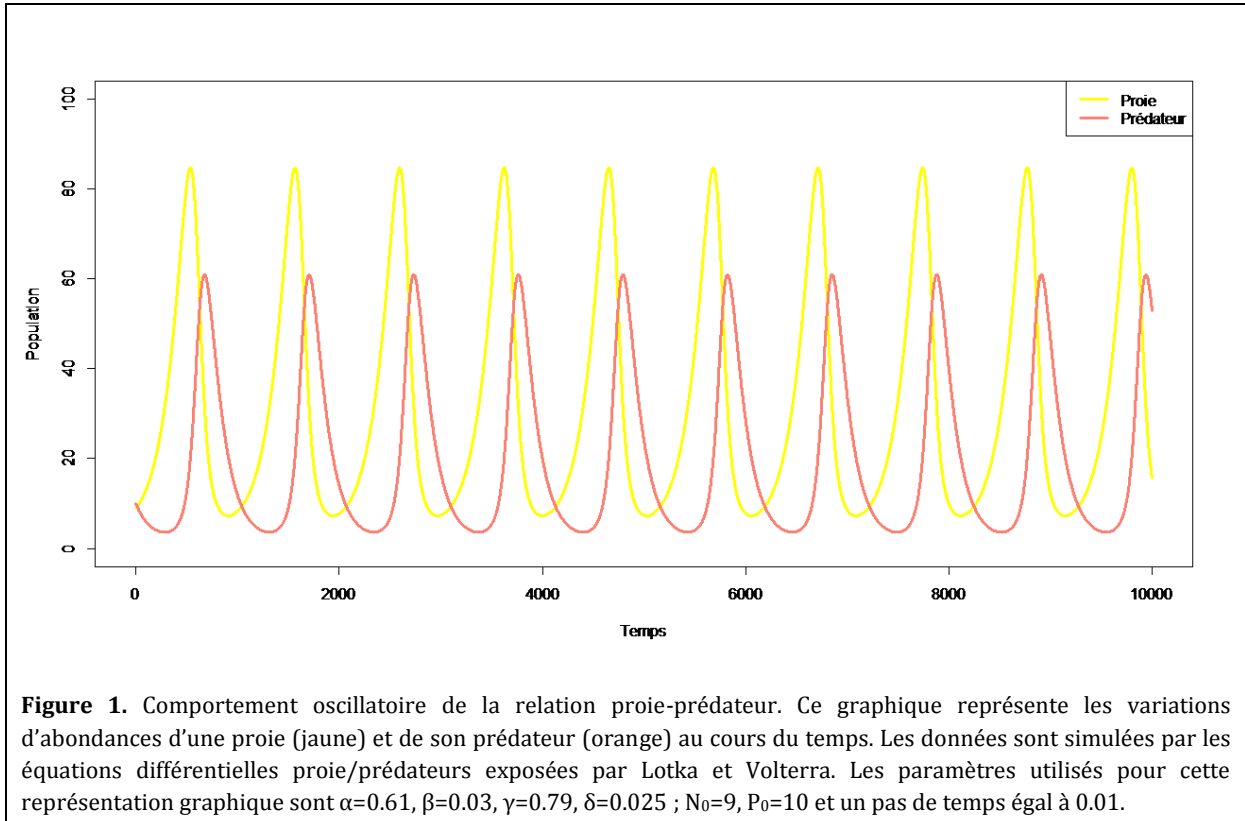
La prédation est une interaction biologique où un organisme prédateur se nourrit d'une proie. C'est un phénomène majeur du fonctionnement des écosystèmes et de régulation des populations, qui affecte la distribution, l'abondance et la dynamique des espèces (Bonsall et Hassel, 2007). On peut distinguer les prédateurs spécialistes, qui se nourrissent d'une seule espèce de proie, et les prédateurs généralistes qui en consomment plusieurs. La dynamique de la relation proie-prédateur est depuis longtemps une thématique qui anime les écologues et les mathématiciens. Des travaux fondateurs, comme ceux de Lotka et Volterra (1925; 1928) ont permis de formaliser les variations d'abondance d'une proie et de son prédateur au cours du temps. Ces travaux ont permis de démontrer que les interactions proie-prédateur ont tendance à fluctuer et montrent souvent un comportement oscillatoire.

L'augmentation d'abondance de la proie engendre l'augmentation d'abondance du prédateur. Lorsque la population de prédateur est trop élevée, le nombre de proies diminue, et le nombre de prédateurs diminue aussi, et le cycle recommence. (Bonsall et Hassel, 2007). Cette dynamique simple peut être représentée par les équations proie-prédateur de Lotka-Volterra (1925; 1928). L'ensemble d'équations différentielles décrivant l'interaction entre un prédateur (P) et sa proie (N) dans le temps a cette forme:

$$\frac{dN}{dt} = N_t (r - \alpha \cdot P_t)$$

$$\frac{dP}{dt} = P_t (c \cdot \alpha \cdot N_t - d)$$

où r est le taux de croissance de la population de proies en absence de prédateurs, α est le taux d'attaque du prédateur, c mesure l'impact positif des proies sur les prédateurs, et d est le taux de mortalité du prédateur en absence de proie. Dans ce système, la période des oscillations est déterminée par les paramètres du modèle (**figure 1**), et l'amplitude est déterminée par les conditions initiales des populations de proies et de prédateurs (Bonsall et Hassel, 2007). Le point d'équilibre pour cette interaction est stable quand $N^*=d/(c\cdot\alpha)$ et $P^*=r/\alpha$.



Cet ensemble d'équations différentielles a ensuite été amélioré pour le cas d'un prédateur généraliste. Un prédateur généraliste diffère d'un spécialiste par le fait qu'il ne disparaît pas si sa proie favorite manque : la population va continuer de croître parce que les individus vont utiliser une autre ressource (Rai *et al.*, 2007). Le modèle Holling-Tanner (1965; 1975) décrit la dynamique d'un système avec un prédateur généraliste (P) et sa proie favorite (N) :

$$\frac{dN}{dt} = rN_t \left(1 - \frac{N_t}{K}\right) - \frac{m \cdot N_t \cdot P_t}{A + N_t}$$

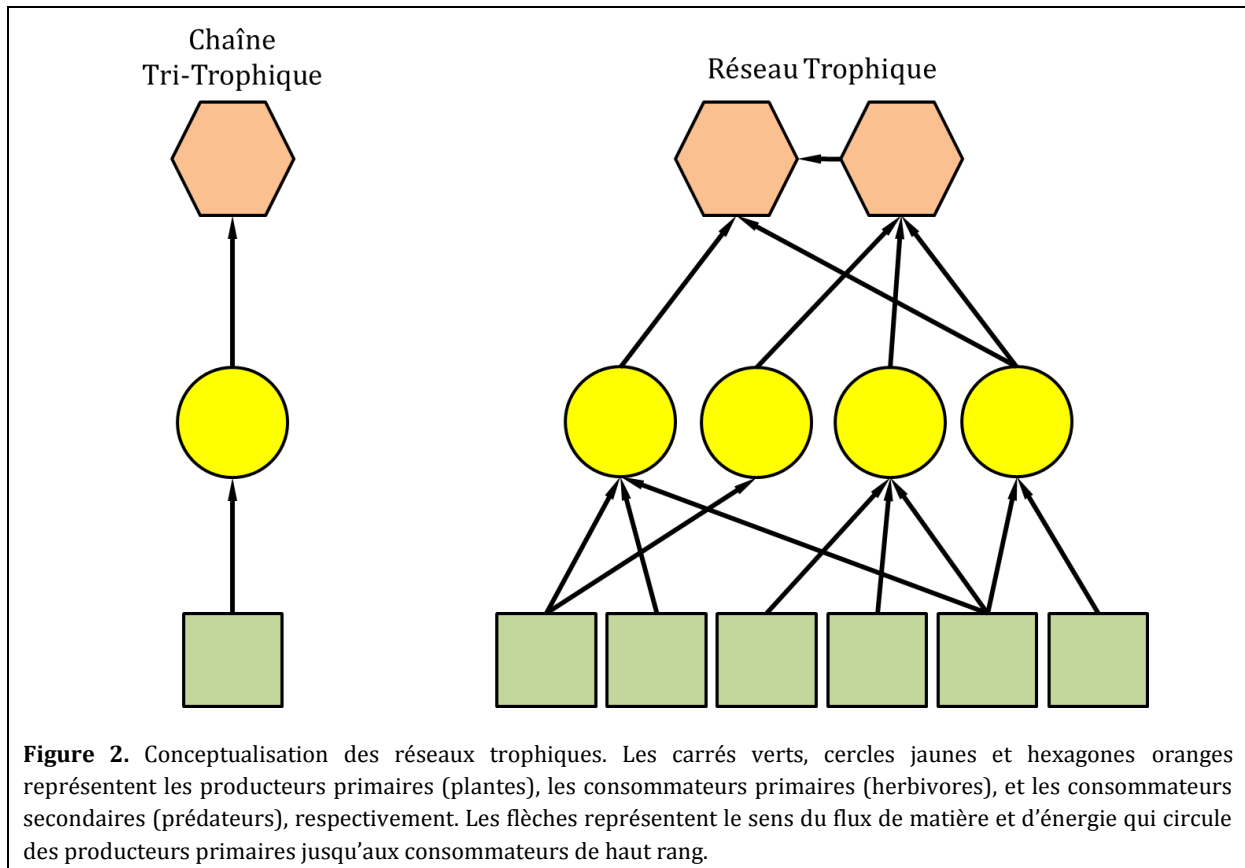
$$\frac{dP}{dt} = P_t \left(b - \frac{dP_t}{N_t}\right)$$

où r est le taux de croissance de la population de proie en absence de prédateurs, K est la capacité de charge du milieu. Le prédateur consomme la proie en accord avec une réponse fonctionnelle de Holling type II, dans laquelle m est le taux maximum de prédation de la proie N et A est la constante de demi-saturation. La population de prédateurs a une croissance logistique avec un taux de croissance intrinsèque b et une capacité de charge proportionnelle à la taille de population de proies (Gakkhar et Kamel Naji, 2003). Le paramètre d mesure le nombre de proies requis pour supporter une population de prédateurs à l'équilibre.

Les équations différentielles ont été largement utilisées pour décrire la dynamique des espèces en interaction. Elles sont particulièrement adaptées pour l'étude de systèmes simples, avec un faible nombre d'espèces, ou de groupes fonctionnels, en interaction (Caron-Lormier *et al.*, 2009), ce qui peut être le cas dans les agroécosystèmes. Avec une complexité spécifique croissante, il arrive souvent que les équations différentielles n'aient pas de solutions analytiques. Le principe des ODEs (Ordinary Differential Equations) est de représenter la population toute entière en prenant une valeur moyenne pour chaque trait phénotypique, sans prendre en compte la variabilité entre individus ou l'hétérogénéité des interactions. Pourtant les caractéristiques individuelles sont des variables fondamentales qui influencent la dynamique du système (Grimm et Railsback, 2005).

DE LA CHAÎNE SIMPLE AUX RESEAUX D'INTERACTIONS MULTITROPHIQUES

Dans la nature, les interactions trophiques sont souvent plus complexes que le modèle dérivé de Lotka-Volterra et font intervenir de multiples espèces. Le concept de chaîne trophique est apparu avec Elton (1927), qui l'a définie comme une hiérarchie de consommateurs monophages. Un assemblage de ces chaînes incluant des consommateurs polyphages constitue un réseau (**figure 2**). Les réseaux trophiques sont une description des communautés biologiques centrée sur les interactions entre les consommateurs et les ressources. Ils sont devenus un point central de l'étude des écosystèmes. Les interactions qui ont lieu au sein du réseau influencent la dynamique et le devenir des populations, à travers la disponibilité des ressources et la mortalité due à la prédation. Il est relativement facile de décrire le comportement d'un système à deux composantes. En effet, des modèles mathématiques simples comme ceux énoncés par Lotka et Volterra (1925; 1928) permettent de simuler l'abondance d'un prédateur et de sa proie au cours du temps. Cependant, dans un système multi-espèces, certaines théories montrent que la stabilité d'un système est liée à sa complexité. Ainsi, MacArthur (1955) suggéra que la stabilité augmente autant que le nombre de liens dans le système augmente. A l'inverse, pour May (1973) une communauté d'espèces en interaction peut changer subitement de comportement, passant d'un état stable à un état instable au fur et à mesure que la complexité augmente. Certains travaux montrent qu'il y a un nombre d'espèces adapté à la longueur d'une chaîne trophique (MacArthur et Levins, 1964; May, 1974a; May et MacArthur, 1972). Ce nombre est obtenu en termes de largeur de niche écologique et de degré de chevauchement maximum compatible avec la coexistence des espèces (Pimm, 1978). La dynamique de structure et la complexité des écosystèmes soulèvent la question de savoir si l'on peut dégager des schémas généraux qui peuvent décrire les abondances, les biomasses et les flux d'énergie d'un écosystème (Hairston et Hairston, 1997). Certains auteurs pensent que cette complexité signifie *de facto* que les écosystèmes ne peuvent pas être représentés par des structures communes (Polis et Strong, 1996a). Cette hypothèse est soutenue par la grande variété de liens trophiques possibles depuis le producteur primaire, et leurs arguments remettent même en cause l'utilisation de la notion de niveau trophique de façon discrète, considérant que la chaîne trophique est de nature continue. En effet, sachant que beaucoup d'espèces ont des comportements alimentaires complexes, il est parfois difficile de déterminer le groupe trophique auquel elles appartiennent (Paine, 1980).



Un des enjeux de l'étude du fonctionnement des réseaux trophiques est de comprendre comment il est influencé par ses propriétés structurales (Okuyama et Holland, 2008). Par exemple, certaines caractéristiques de structures du réseau, comme les compartiments, les asymétries structurelles, ou la nature des interactions (figure 3), sont impliquées dans les processus de régulation et dans la stabilité du système (Neutel *et al.*, 2007; Rooney *et al.*, 2006). Dans les agrosystèmes où la diversité est assez faible, les interactions entre espèces sont souvent fortes. La modification des processus de régulation, par l'augmentation de la biomasse végétale par exemple, peut largement influencer la structure et le fonctionnement de toute la communauté (Polis *et al.*, 2000).

LA THÉORIE DE LA NICHE ÉCOLOGIQUE

Le concept de la niche écologique a émergé pour qualifier l'ensemble des conditions nécessaires à l'existence d'un individu ou d'une espèce. Elle diffère sensiblement de la notion d'habitat, qui représente l'endroit où un individu ou une espèce vit, par le fait que la niche représente l'espace conceptuel qui réunit les conditions et les ressources nécessaires à un organisme pour vivre, croître et se reproduire. Au sens d'Hutchinson (1957), la niche écologique est l'hyper volume à n -dimensions, où n est le nombre de dimensions qui constitue la niche. Par exemple, ces dimensions peuvent être une gamme de température, ou la disponibilité en ressources. Par conséquent, la théorie de la niche écologique prédit que deux espèces qui partagent une même ressource, ne peuvent pas coexister de façon stable, car l'espèce la plus compétitive exclura la seconde, selon le principe d'exclusion compétitive. La théorie de la niche écologique peut permettre d'expliquer certaines caractéristiques des réseaux trophiques, comme les différences observées dans les forces d'interactions qui impliquent des consommateurs généralistes.

1.1.2. LES RESEAUX TROPHIQUES DES AGROECOSYSTEMES

SPECIFICITE DES INTERACTIONS TROPHIQUES DANS LES SYSTEMES CULTIVES

Dans les agroécosystèmes, le réseau trophique est souvent simplifié et centré sur les plantes cultivées et leurs bioagresseurs. La réduction des ressources basales, souvent aux seules espèces cultivées, engendre une faible biodiversité des niveaux supérieurs et une réduction du nombre des interactions trophiques, comparé à un écosystème naturel. De ce fait, et sans intervention de l'homme pour contrôler les populations d'organismes nuisibles, le réseau trophique spécifique des agroécosystèmes est rarement dans un état d'équilibre naturel. La simplicité des réseaux trophiques des agroécosystèmes, comparés à d'autres écosystèmes naturels plus complexes, facilite l'étude des mécanismes de régulation des communautés.

Les systèmes de culture durables, qui visent à réduire les intrants chimiques, et à augmenter les régulations naturelles, reposent sur une complexification écologique du système. Plusieurs approches permettent de complexifier un système, comme par exemple la réduction des traitements insecticides (ce qui va favoriser la macrofaune), ou la gestion des ressources primaires par l'ajout d'une plante de couverture. Les conséquences de la complexification écologique sont souvent difficiles à prédire en raison de la nature aléatoire des interactions trophiques qui se mettent en place et de leur dynamique. Ces nouveaux systèmes de culture, plus complexes mais toujours plus simples que les écosystèmes naturels, sont un terrain de choix pour étudier les réseaux trophiques de façon précise et réaliste, afin d'améliorer la productivité, le recyclage de la matière organique, et la régulation des bioagresseurs.

INTEGRER LE BIOAGRESSEUR DANS SON RESEAU TROPHIQUE POUR ETUDIER SA REGULATION

La prise en compte de l'ensemble des interactions trophiques qui ont lieu dans un agroécosystème est une approche intéressante pour étudier et promouvoir la régulation naturelle des bioagresseurs. En effet, plusieurs mécanismes sont impliqués dans cette régulation. Parmi eux, la régulation ascendante (par le bas, ou « bottom-up ») stipule que l'abondance des ressources primaires est l'élément clé qui régit l'abondance de toutes les communautés de niveaux trophiques supérieures. A l'inverse, la régulation descendante (par le haut, ou « top-down ») met la prédation au cœur de la régulation des espèces. Généralement, les deux mécanismes opèrent conjointement pour réguler la distribution spatiale, l'abondance et la dynamique temporelle des espèces.

1.2. LA STRUCTURE DES RESEAUX TROPHIQUES

1.2.1. ORGANISATION DES COMMUNAUTES EN RESEAUX D'INTERACTIONS

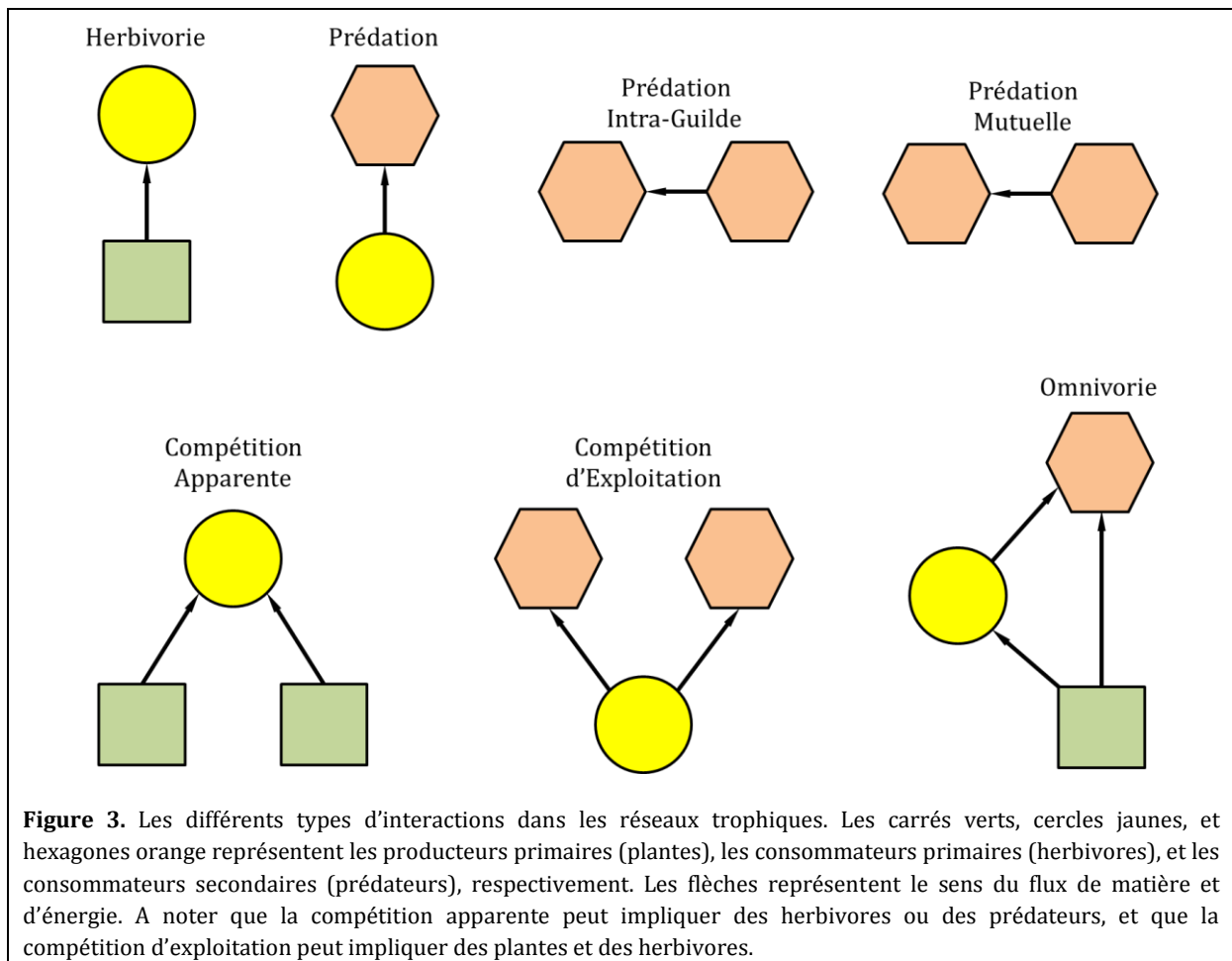
LES NIVEAUX TROPHIQUES ET LES CHAINES ALIMENTAIRES

Au sein du réseau trophique, les êtres vivants sont structurés en niveaux trophiques qui représentent de façon conceptuelle leur place dans la chaîne alimentaire. Typiquement, les organismes se distinguent par leur mode d'utilisation des ressources : les autotrophes produisent de la matière organique à partir d'éléments minéraux (comme les plantes), et les hétérotrophes consomment directement la matière organique. Depuis les ressources primaires, l'énergie et la matière circulent dans le réseau en passant par des consommateurs de premier ordre (les herbivores), les consommateurs de second ordre (comme les prédateurs), et les consommateurs de rang supérieurs. D'une manière générale, il est admis que les réseaux trophiques ont des longueurs de chaîne inférieure à 4, c'est-à-dire qu'il y a en moyenne quatre nœuds qui séparent deux nœuds pris au hasard dans le réseau (Dunne *et al.*, 2002). L'efficacité des

chaînes alimentaires est limité et liée à sa longueur, il a été montré que la quantité d'énergie passant d'un niveau à un autre est d'environ 10% (Lindemann, 1942). Ces propriétés permettent d'expliquer le concept de translocation de biomasse et le fait que le niveau des prédateurs est souvent moins abondant que les niveaux inférieurs.

LES DIFFERENTS TYPES D'INTERACTIONS TROPHIQUES

Dans les réseaux trophiques, différents types d'interaction peuvent avoir lieu. Parmi les plus importantes, nous pouvons notamment citer l'herbivorie, l'action d'un organisme phytophage qui se nourrit de plantes, et la prédation, l'action d'un organisme qui se nourrit d'un autre organisme animal (**Figure 3**). La prédation intra-guilde est aussi une interaction majeure qui décrit la consommation d'un prédateur par un autre prédateur de même niveau trophique ; la prédation mutuelle représente la prédation croisée entre deux prédateurs. La compétition apparente décrit les interactions indirectes entre deux ressources par l'intermédiaire d'un consommateur commun ; à l'inverse, la compétition d'exploitation décrit les interactions indirectes entre deux consommateurs partageant la même ressource. Les consommateurs qui se nourrissent sur au moins deux niveaux trophiques sont appelés omnivores, ils ont un rôle très important dans la stabilisation des réseaux trophiques.



1.2.2. INDICES DE STRUCTURES DES RESEAUX

LES INDICES DE STRUCTURE GLOBALE

L'indice le plus simple est le nombre d'espèces S qui sont impliquées dans le réseau; cet indice évalue la diversité spécifique du système. La diversité spécifique permet de comparer facilement les réseaux trophiques entre eux, et permet notamment de mesurer directement l'impact d'une perturbation sur la biodiversité. D'autres indices sont également utilisés pour mesurer la richesse spécifique des écosystèmes, comme la diversité α , β ou γ , l'indice de Shannon (1948), et l'indice de Simpson (1949); ce sont des indicateurs conçus pour la biologie de la conservation (Jost, 2006; Krebs, 1999; Magurran, 2004). Les espèces du réseau sont connectées par des liens trophiques de nombre total L , une information souvent rapportée au nombre moyen de liens par espèce, ou densité de lien LD . La connectance C évalue le nombre de liens réalisés parmi tous les liens possibles, elle est égale à L/S^2 . La connectance est l'un des indices les plus utilisés pour comparer les structures des réseaux trophiques. Ces indices binaires, sont basés sur la présence ou l'absence de l'entité mesurée (l'espèce ou l'interaction). Leur équivalent quantitatif prend en compte la force des liens, à partir de l'indice de diversité de Shannon (1948).

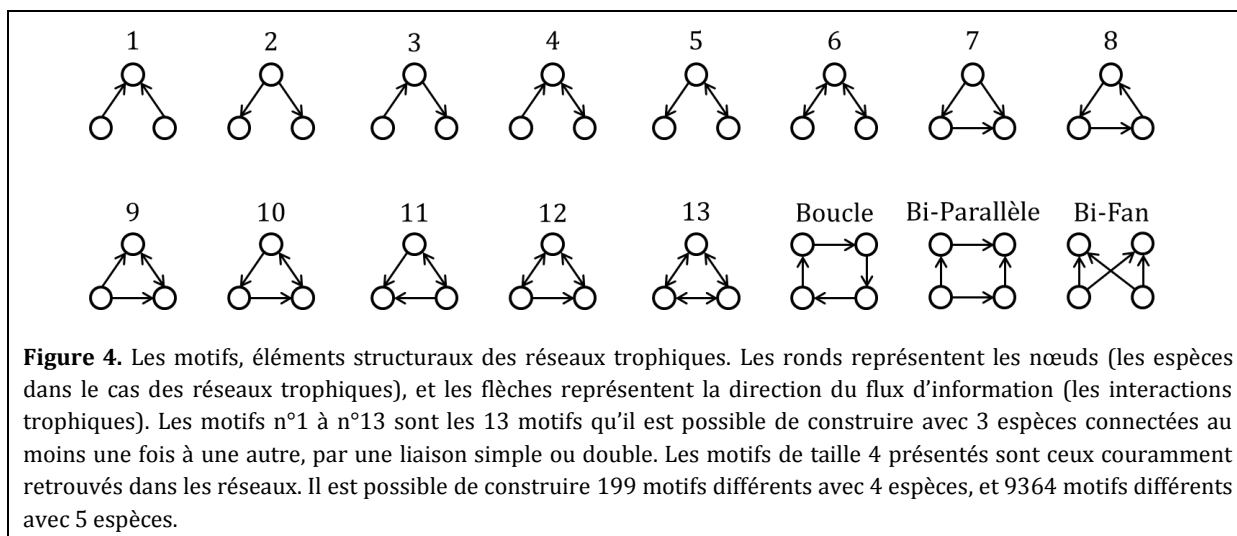
A ces indices simples, qui sont abondamment utilisés pour décrire la structure des réseaux trophiques, s'ajoute un panel d'indices développés pour comparer des éléments de structure très spécifiques à l'échelle de l'espèce. La généralité G permet de mesurer le nombre de ressources d'un consommateur, et donne des informations quant à la nature généraliste ou spécialiste d'une espèce du réseau; le degré de généralité moyen du réseau complet est souvent évalué par l'écart-type de la distribution des valeurs de généralité de toutes les espèces du réseau. La vulnérabilité V permet de mesurer le nombre de consommateurs d'une ressource donnée; tout comme pour la généralité, l'écart-type de la vulnérabilité est utilisée. S'ajoutent des indices spécifiques des réseaux complexes, parmi lesquels nous pouvons citer la longueur des chaînes trophiques, la proportion d'espèces basales, intermédiaires et supérieures, l'omnivorie, etc. (Williams et Martinez, 2008).

D'autres approches ont également été développées pour décrire la structure interne des réseaux trophiques, en vue de la corrélérer à leur fonctionnement. L'emboîtement des interactions (nestedness) est un indice qui permet de mesurer le degré d'emboîtement des interactions impliquant des spécialistes au sein des interactions impliquant des généralistes (Bascompte *et al.*, 2003). La compartimentalisation, ou modularité, représente l'existence de sous-réseaux dans lesquels les interactions sont plus nombreuses qu'entre les compartiments (Paine, 1980).

LES MOTIFS, DES SOUS-RESEAUX DANS LE RESEAU

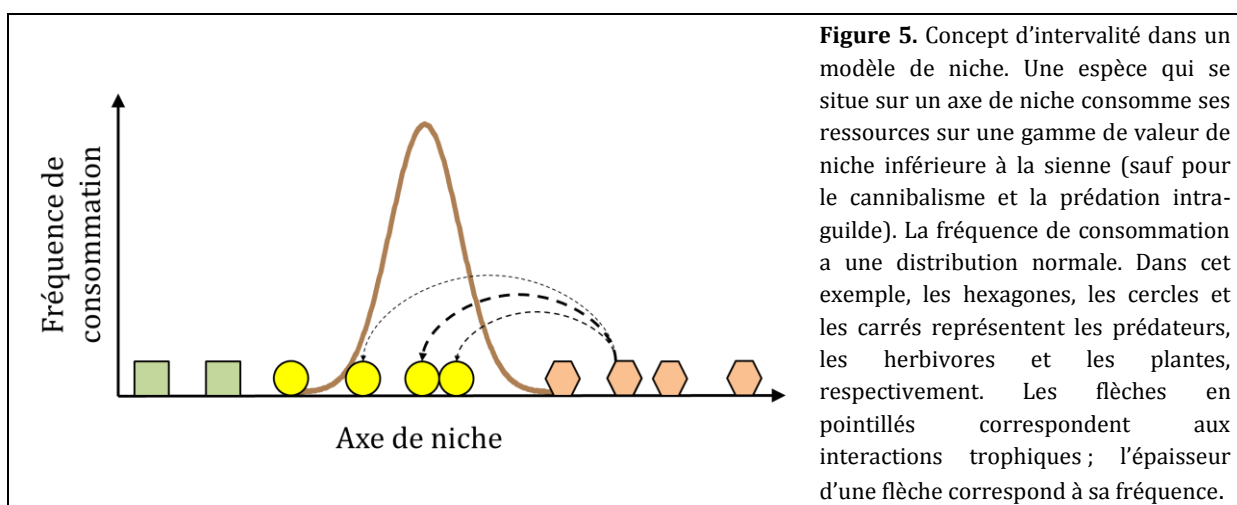
Enfin, les motifs sont des éléments structuraux à n espèces (en général, n est égal à 3 ou 4), connectés par des liaisons simples ou doubles (**Figure 4**). Les motifs de taille 3 (c'est à dire à 3 espèces) ont été recherchés dans des réseaux de différente nature (comme les réseaux de transcription de gènes, les neurones, internet...) et certains d'entre eux se sont révélés plus représentés que ce qui était attendu dans les réseaux aléatoires, c'est-à-dire dans des réseaux simulés dans lesquels les interactions sont distribuées aléatoirement entre les espèces (Milo *et al.*, 2002). Le motif le plus représenté est un motif de taille 3 qui représente une chaîne simple avec une ressource, un consommateur primaire, et un consommateur secondaire, dans le cas des réseaux trophiques. D'autres motifs spécifiques, de tailles 3 et 4, ont été reportés dans la structure de divers réseaux d'interaction, notamment les réseaux écologiques. La comparaison de l'occurrence d'un motif dans des réseaux réels et dans des réseaux aléatoires donne accès à un profil de significativité de ce motif. Les motifs surreprésentés par rapport aux réseaux aléatoires sont considérés comme des éléments structuraux du réseau observé, car ils sont des sous-réseaux qui émergent des interactions entre les espèces du réseau. Les motifs sous-représentés, au contraire, sont des sous-réseaux composés d'interactions « interdites » entre les espèces. Par exemple, la chaîne simple (motif n°3) est souvent retrouvée, alors que le motif n°8 (**figure 4**) décrit une boucle fermée

qui est très peu retrouvée dans les réseaux trophiques. Ces profils permettent de comparer l'occurrence des éléments structuraux entre les différents réseaux (Stouffer *et al.*, 2007).



1.2.3. MODELES DE STRUCTURE DES RESEAUX

La conception de modèles de structure des réseaux trophiques est un champ de recherche très actif de ces dernières décennies. Ces modèles visent à simuler la structure des réseaux trophiques à partir de caractéristiques simples comme le nombre d'espèce et le nombre de liens. Historiquement, le premier d'entre eux est le modèle cascade qui classe les espèces en fonction de leur niveau trophique (Cohen et Newman, 1985). Ce modèle a ensuite été amélioré pour reposer sur la théorie de la niche écologique (Figure 5), selon laquelle une espèce consomme une gamme de ressources appartenant à une valeur de niche inférieure à la sienne ; c'est le modèle de niche (Williams et Martinez, 2000). Un autre modèle se basant sur la phylogénie, c'est-à-dire sur leur lien de parenté d'un point de vue évolutif, a aussi été proposé (Cattin *et al.*, 2004). Tous ces modèles ont ensuite connu des perfectionnements qui ont permis d'améliorer la qualité d'ajustement à des données empiriques.



1.3. METHODES D'ETUDES DES RESEAUX TROPHIQUES

1.3.1. LES OUTILS DE MESURES DES RESEAUX TROPHIQUES

LA RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

La compilation des résultats d'études issues de la littérature peut permettre de construire un réseau trophique, en se référant aux espèces du réseau déjà identifiées. La recherche bibliographique a permis de construire plusieurs réseaux trophiques comme ceux de la baie de Chesapeake sur la côte nord-Atlantique des Etats-Unis (Baird et Ulanowicz, 1989), du lac Little Rock dans le Minnesota, USA (Martinez, 1991), ou plus récemment, de la zone intertidale de sédimentation du nord-ouest de l'Irlande (O'Gorman *et al.*, 2012). Souvent, ces réseaux trophiques sont le résultat de la compilation de plusieurs études publiées sur le régime alimentaire d'une espèce en particulier, et des enquêtes menées par des spécialistes et des non-spécialistes. Cependant, les données recueillies sur le régime alimentaire sont souvent dépendantes des conditions dans lesquelles les mesures ont été effectuées, du milieu considéré et de la zone géographique étudiée, sans que cela soit toujours explicité. Les réseaux construits à partir de la littérature, bien qu'ils aient permis de mieux comprendre les réseaux trophiques, dès lors qu'ils mélangent des données de provenance différente, doivent être manipulés avec précaution.

L'OBSERVATION DIRECTE

Les premières méthodes de mesure des interactions trophiques, encore utilisées aujourd'hui, consistent à observer directement la consommation d'une ressource. Il s'agit d'observer au champ ou au laboratoire, en condition de choix (plusieurs ressources sont proposées) ou de non-choix (une seule ressource est proposée), le comportement d'alimentation d'un organisme donné. Aussi, il est possible d'identifier les restes d'une ressource par l'examen des contenus stomacaux ou des fèces. Bien que ces méthodes présentent des limites majeures, elles ont permis d'apporter beaucoup d'information sur le régime alimentaire de plusieurs espèces. Ces données sont souvent compilées, avec d'autres données issues de recherche bibliographique, pour construire les réseaux trophiques. Néanmoins, elles restent difficilement applicables à la construction d'un réseau trophique complexe.

LES MESURES D'ABONDANCES DES ESPECES ET LA CO-OCCURRENCE

Les mesures d'abondances peuvent être utiles pour estimer les interactions trophiques au sein d'un écosystème, en se basant sur la translocation de l'énergie (la biomasse). En effet, les abondances des espèces connectées par des liens trophiques co-varient au cours du temps. Cette approche peut-être très utile pour construire des réseaux trophique dynamique, en intégrant des relevés d'abondance effectués sur le terrain. Récemment, cette méthode de construction des réseaux trophiques a connu une évolution majeure par l'utilisation de l'intelligence artificielle pour générer des données d'interactions trophiques à partir de données existantes, comme cela été le cas pour des agroécosystèmes en Grande Bretagne (Bohan *et al.*, 2011). En effet, dans cette étude, les auteurs ont développé une approche qui permet de déduire les interactions trophique à partir de données d'abondances des espèces, et le résultat des prédictions est en accord avec les liens décrits dans la littérature.

LA MESURE DE LA TENEUR EN ISOTOPES STABLES

L'analyse des isotopes stables de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) et du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) permet d'estimer la position trophique et les flux de carbone d'une espèce dans un réseau trophique. Les espèces biologiques contiennent différents ratios des isotopes de l'azote ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) et du carbone ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$). Les tissus qui les

composent sont construits avec les atomes d'éléments présents dans leur nourriture, et reflètent la composition isotopique de ce qu'ils ont assimilés. Les espèces ont tendance à accumuler l'isotope le plus lourd des tissus biologiques qu'elles consomment (**Figure 6**). Ces propriétés permettent de dépister les flux de carbone et d'azote au sein du réseau et informent sur le niveau trophique (Ponsard et Ardit, 2000). Le ratio de deux isotopes stables d'un élément X est exprimé par la différence de ratios, en part par millier, depuis un standard :

$$\delta X = \left[\left(\frac{R_{ech}}{R_{std}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

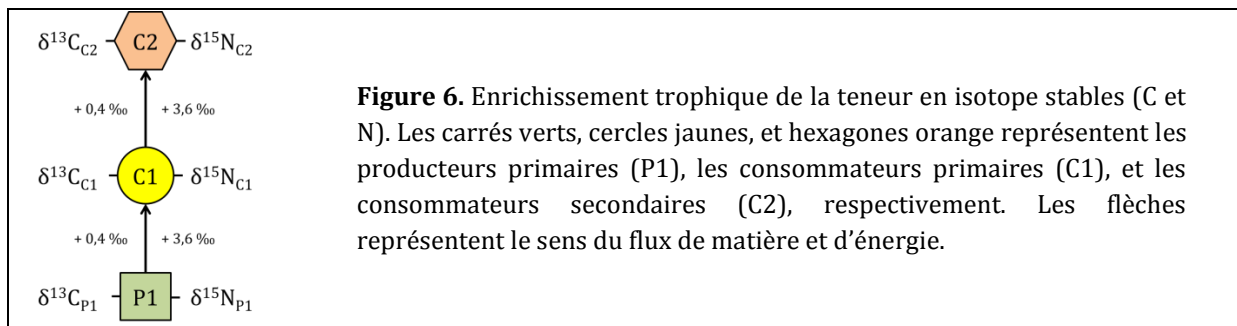
où R_{ech} est le ratio isotopique absolu entre l'isotope lourd et léger de l'échantillon et R_{std} est le ratio respectif du standard (Peterson et Fry, 1987). On a :

$$\delta^{13}C = \frac{^{13}C}{^{12}C}$$

$$\delta^{15}N = \frac{^{15}N}{^{14}N}$$

Le standard utilisé pour $\delta^{13}C$ est le Pee Dee Belemnite (PDB) obtenu grâce au fossile marin *Belemnita americana* en Caroline du Sud (USA), il est égal à $^{13}C/^{12}C=0.0112372$; le standard utilisé pour $\delta^{15}N$ est celui de l'atmosphère, $^{15}N/^{14}N=0.0036765$ (Peterson et Fry, 1987). Les végétaux portent une signature isotopique différente selon leur métabolisme photosynthétique (types C3 ou C4) et leur milieu. Pour le bananier, *Musa sp.*, $\delta^{13}C = -26.5 \text{ ‰}$ (Yakir et Israeli, 1995). Les tissus animaux sont faiblement enrichis en ^{13}C par rapport à leur source de nourriture ($0.4 \pm 1.4 \text{ ‰}$) et les valeurs de $\delta^{13}C$ sont donc conservées le long des chaînes trophiques. Une analyse du carbone total d'un consommateur de la chaîne trophique fournit une indication concernant le producteur primaire. L'enrichissement en $\delta^{15}N$ entre un niveau trophique n et un niveau $n+1$ vaut en moyenne $3.4 \pm 1.1 \text{ ‰}$, ce qui permet de déterminer le niveau trophique d'une espèce considérée (Minagawa et Wada, 1984). La position trophique des prédateurs est estimée en utilisant les valeurs de $\delta^{15}N$ des consommateurs primaires pour base, comme les herbivores, parce que leur signature tend à varier plus faiblement que celle des producteurs primaires (Vander Zanden et Rasmussen, 1999a).

Il est à noter que certains logiciels (par exemple Isosource) permettent de calculer la proportion de chaque ressource dans le régime alimentaire d'une espèce donnée à partir des résultats apportés par l'analyse isotopique (Phillips et Gregg, 2003). Isosource est conçu pour les cas où n isotopes sont utilisés pour plus de $n+1$ sources possibles contribuant à la signature isotopique du consommateur.



L'ELECTROPHORESE DE PROTEINE

Des protéines de marquage sont utilisées pour étudier les interactions trophiques. Un marquage de la proie avec un anticorps monoclonal et une détection par la méthode ELISA à partir des contenus stomacaux d'un consommateur permettent d'identifier les proies ingérées (Hagler et Durand, 1994; Hagler et Jackson, 2001; Thomas *et al.*, 2009; Winder *et al.*, 2005).

LES APPROCHES MOLECULAIRES

Il existe des techniques basées sur la PCR pour étudier des interactions trophiques complexes sur le terrain. Elles permettent de détecter les ressources présentes dans le tube digestif des consommateurs (King *et al.*, 2008). Le principe de cette approche repose sur l'amplification par PCR d'une séquence d'ADN de la proie à l'aide de primers spécifiques. Les primers sont conçus pour amplifier uniquement l'ADN de la proie, à l'exclusion de toutes les autres espèces. On fait migrer les produits de la réaction avec une électrophorèse sur gel d'agarose. Le gel d'agarose est ensuite soumis à un bain de Bromure d'éthidium (Bet), une molécule qui se fixe aux acides nucléiques et qui émet un rayonnement lumineux lorsqu'elle est soumise à un rayonnement UV. La visualisation du gel sous UV permet de déterminer si l'ADN de la proie a été amplifié, et donc de savoir si elle était présente dans le tube digestif du consommateur. La PCR multiplex repose sur le même principe, mais diffère par l'utilisation de plusieurs couples de primers qui permettent de détecter plusieurs proies dans le même échantillon. Les principales limites de ces méthodes sont dues à l'action des enzymes digestives qui dégradent l'ADN, et de ce fait la période de détection de l'ADN post-ingestion est assez courte. Les proies détectées sont celles qui ont été ingérées quelques heures avant l'échantillonnage. Une autre limite est que les méthodes basées sur l'amplification d'ADN par la PCR sont très sensibles, et le protocole doit être très rigoureux pour éviter les amplifications croisées, qui aboutissent à des faux-positif. Elle nécessite aussi la disponibilité, ou le développement de primers et des tests d'optimisation, qui peuvent être très long. De plus, l'utilisation de cette approche nécessite des connaissances *a priori* sur le régime alimentaire de l'espèce étudiée. Les travaux de Symondson (2008) ont permis de faire le point sur le protocole à suivre pour évaluer le régime alimentaire grâce aux marqueurs moléculaires.

1.3.2. LES LIMITES DES DIFFERENTES METHODES DE MESURE DES LIENS TROPHIQUES

INFERENCE DU LIEN TROPHIQUE

Les différentes méthodes qui permettent d'évaluer le régime alimentaire ont chacune leurs avantages mais aussi leurs limites (**tableau 1**). En effet, dans la plupart des cas, ces méthodes ne fournissent pas de preuves directes de la consommation d'une ressource, mais des preuves indirectes. Les méthodes qui consistent à observer directement le lien trophique sont souvent biaisées par la nature de l'expérience elle-même. Au champ, la présence de l'expérimentateur peut modifier le comportement alimentaire des espèces étudiées. De plus, cette approche exclut l'observation des liens trophiques impliquant les espèces vivant dans le sol, les espèces difficilement visibles à l'œil nu, et rend difficile l'observation des espèces nocturnes. Au laboratoire, en condition de choix ou de non-choix, l'expérience implique d'avoir une connaissance *a priori* du régime alimentaire de l'espèce étudiée, et donc ne permet pas de détecter la consommation de ressources inattendues. Les conditions de laboratoire sont souvent très différentes des conditions naturelles, ce qui peut modifier le comportement d'alimentation.

La déduction d'un réseau trophique à partir de mesures d'abondance présente elle aussi certaines limites, du fait de la difficulté de mesurer les abondances réelles dans la nature. Souvent, les techniques de mesures ont une gamme d'efficacité restreinte à quelques espèces, et elles n'ont pas toutes la même efficacité. Cependant, et malgré les biais, l'utilisation de ces méthodes a permis la résolution de plusieurs réseaux trophiques terrestres et aquatiques.

Bien que l'analyse de la teneur en isotopes stables soit une méthode qui présente des avantages certains, car elle intègre le régime alimentaire de l'organisme sur la totalité de sa vie, il est difficile d'identifier les ressources de manière stricte. De plus, cette méthode repose en totalité sur des valeurs standards d'enrichissement trophique qui existe entre un consommateur et sa ressource, alors que certaines études montrent que ces valeurs sont sujettes à une grande variabilité en fonction des espèces considérées.

Tableau 1. Tableau récapitulatif des avantages et des inconvénients de chacune des méthodes de construction des réseaux trophiques.

Méthode	Nature des données	Avantages	Biais possibles
Littérature	Multiple	Données disponibles Méta-analyse	Inférence d'un site à l'autre
Observation	Présence/absence Taux de prédation	Preuve du lien Facile en laboratoire	Comportement biaisé par l'expérimentateur
Abondance	Densité Spatiale	Données disponibles Facile au champ	Biais du piégeage
Isotopes	Quantitative	Echelle individuelle	Preuve indirecte
ELISA	Binaire	Preuve du lien	Contamination
PCR	Binaire	Preuve du lien	Contamination

DIFFICULTE D'OBTENTION DE DONNEES SPATIO-TEMPORELLES

L'étude de la dynamique des réseaux trophiques complexes, requise pour étudier la résilience des écosystèmes, se heurte aux limitations énoncées ci-dessus. Les programmes de recherche visant à établir un réseau trophique demandent un effort d'échantillonnage extrêmement lourd. D'une part, les données nécessaires à la construction d'un réseau trophique dynamique impliquent d'effectuer des échantillonnages réguliers, sur une période de temps qui couvre au moins l'ensemble des variations abiotiques dont un écosystème dépend. D'autre part, ces échantillonnages doivent être effectués sur différents sites, déterminant une surface suffisamment grande pour pouvoir expliquer le phénomène étudié. Ces deux points limitent considérablement la faculté de caractériser la dynamique des réseaux trophiques. D'une manière générale, l'étude d'images statiques de réseaux est plus accessible, et peut permettre d'identifier ses paramètres de structure et de fonctionnement.

1.4. LES FONCTIONS ASSOCIEES AUX RESEAUX TROPHIQUES

1.4.1. LES PRINCIPALES FONCTIONS

PRODUCTIVITE PRIMAIRE DES ECOSYSTEMES

Les organismes ont besoin d'énergie pour vivre et se reproduire, et l'une des principales fonctions d'un écosystème consiste à faire circuler l'énergie par l'intermédiaire des espèces, qui sont connectées par des liens trophiques. La productivité primaire est le taux de production de biomasse par unité de surface et de temps à partir des plantes. La production de biomasse par les plantes est à l'origine de la plupart des écosystèmes, c'est cette biomasse qui constitue la base des réseaux trophiques.

RECYCLAGE DE LA MATIERE ORGANIQUE

Les éléments comme le carbone ou l'azote sont disponibles pour les plantes sous forme de composants inorganiques, ou d'ions, qui sont ensuite incorporés dans des composants organiques complexes qui composent la biomasse. Le fonctionnement de l'écosystème permet d'utiliser et de transformer ces éléments pour la survie, la croissance et la reproduction des organismes. A terme, les éléments métabolisés sont remis à l'écosystème sous leur forme inorganique.

1.4.2. CAS DE LA REGULATION TOP-DOWN DANS LES AGROECOSYSTEMES

PRINCIPE

La définition de la régulation descendante la plus communément admise est celle énoncée par Hairston *et al.* (1960). Selon cette définition, chaque niveau trophique a le potentiel de réguler une proie appartenant au niveau trophique inférieur, indépendamment des ressources de la proie.

SPECIFICITE DE LA REGULATION DES INSECTES RAVAGEURS

Les bioagresseurs sont des organismes nuisibles pour l'Homme parce qu'ils ont des effets néfastes sur la production des végétaux qu'il utilise. Dans la plupart des cas, l'agriculture dite « industrielle » (non paysanne) est basée sur la monoculture intensive, un mode de production propice au développement des bioagresseurs. En effet, la grande quantité d'une même ressource cultivée sur la même parcelle permet aux organismes associés à cette ressource de se développer rapidement. Les agriculteurs doivent disposer de moyens de lutte efficaces pour maintenir la performance de leur exploitation. L'utilisation de produits phytosanitaires s'est révélée très efficace, mais a largement contribué à diminuer la diversité des prédateurs inféodés aux systèmes de culture. Aujourd'hui, il semble urgent de rétablir cette diversité de prédateurs pour favoriser la régulation top-down des insectes ravageurs. D'ailleurs, les premières méthodes de lutte biologique consistaient en des lâchers massifs de prédateurs destinés à réguler les insectes ravageurs. Généralement le candidat potentiel pour la lutte biologique était choisi en fonction de l'aire géographique d'origine du bioagresseur, avec l'hypothèse que les prédateurs avaient co-évolué avec le bioagresseur. Pourtant, il est souvent difficile d'appréhender les conséquences écologiques de tels lâchers, tant les interactions qui vont se créer dans l'environnement cible sont multiples. Il n'est pas rare de voir un agent biologique devenir lui-même un bioagresseur car il a changé de régime alimentaire et s'attaque à de nouvelles espèces présentes dans l'environnement cible. La stratégie de lutte qui consiste à favoriser des prédateurs qui sont déjà présents dans l'environnement cible, devrait permettre de limiter les dommages collatéraux.

INFLUENCE DES PRATIQUES CULTURALES

Les pratiques culturales peuvent jouer un rôle très important dans une stratégie qui consiste à favoriser la régulation des insectes ravageurs par les prédateurs généralistes déjà présents dans le système infesté. La première pratique qui va avoir un impact majeur consiste à limiter l'utilisation de produits phytosanitaires, composés qui sont aussi très actifs sur les populations de prédateurs. Une seconde voie est la diversification végétale. D'une manière générale, la régulation des bioagresseurs est augmentée ainsi que l'abondance des prédateurs, et les dommages aux plantes cultivées diminuent, dans les systèmes de cultures diversifiés comparés aux systèmes sans plantes associées (Letourneau *et al.*, 2011). Cette diversification peut s'exercer sur les bordures de champ, qui sont parfois composées de plantes spécifiques attirant les bioagresseurs ou leurs prédateurs. De cette façon, la pression qui s'exerce sur la plante d'intérêt agronomique est moins importante (Simon *et al.*, 2009). L'ajout d'une plante de

couverture peut également avoir des effets bénéfiques sur les populations de prédateurs. Habituellement utilisées pour limiter l'érosion du sol, les plantes de couverture peuvent permettre à d'autres herbivores de se développer dans le système. Cette nouvelle biomasse créée va à son tour permettre aux prédateurs de devenir plus abondants. Dans ce contexte, lorsqu'un prédateur se nourrit de deux espèces de proie dont une est un bioagresseur et l'autre sans danger pour les cultures (c'est le concept de la compétition apparente, qui s'applique à deux espèces en compétition indirecte, par l'intermédiaire du prédateur qu'elles partagent) et que le bioagresseur est la proie préférée, une meilleure régulation de ce bioagresseur est possible. Un autre aspect de l'influence de la diversification végétale est un effet de régulation ascendante (« bottom-up ») des herbivores spécialistes. En effet, ces herbivores ont plus de difficulté à trouver leur plante hôte, par comparaison à un système de monoculture, dans lequel la plante hôte est présente en grande quantité et accessible facilement (Vandermeer, 1989).

EFFETS TOP-DOWN : EVALUATION DE LA PREDATION

Des dispositifs simples peuvent être mis en place au laboratoire pour mesurer la prédation. Par exemple, on peut mettre un prédateur en présence de plusieurs proies pour déterminer lesquelles sont consommées. Ces méthodes ont l'avantage d'être facilement réalisables, mais ne permettent pas de déterminer la gamme des proies potentiellement consommées par un prédateur. Il est très difficile d'obtenir des taux de prédation fiables par cette technique. Les interactions avec les prédateurs peuvent aussi être enregistrées grâce à une caméra. Ce dispositif est particulièrement approprié pour mesurer la prédation de proies ou de stades de développement très peu mobiles, comme les œufs. Il a pour avantage de préciser le genre de prédateurs qui s'attaque à la proie et dans quelle proportion. D'après Sunderland(1987), l'effet de ce dispositif sur le comportement de la proie et du prédateur est négligeable.

Une estimation du taux de prédation peut être obtenue en confinant la proie et les prédateurs dans une cage placée au champ en conditions réelles. Dans le cas de la prédation des œufs, il s'agit de placer une cage autour de la plante cultivée sur laquelle les œufs ont été préalablement repérés ou placés, de laisser les œufs en présence du prédateur pendant un intervalle de temps adéquat, puis de relever le nombre d'œufs qui restent. En standardisant la disposition des œufs et avec une pression d'échantillonnage suffisante en termes de nombre de plantes par parcelle, on peut comparer l'efficacité des prédateurs selon les parcelles. La limite de cette méthode est qu'elle ne donne pas d'indication sur la nature des prédateurs, elle ne donne qu'une estimation globale de la prédation, tous prédateurs confondus.

Le marquage de proie est une technique qui repose sur le principe de la détection chez le prédateur d'un marqueur présent chez la proie. Les marqueurs peuvent être une simple teinture, des éléments rares (Sunderland, 1987), des anticorps monoclonaux (Hagler et Durand, 1994; Hagler et Jackson, 2001; Thomas *et al.*, 2009; Winder *et al.*, 2005), des molécules fluorescentes (Sunderland, 1987) ou des isotopes stables (Bennett *et al.*, 2009; Briones *et al.*, 2001; Moore et Semmens, 2008; Ponsard et Arditì, 2000; Post, 2002; Vander Zanden et Rasmussen, 1999a; Wise *et al.*, 2006). Des échantillonnages réalisés sur les prédateurs et des analyses effectuées en vue de détecter le marqueur, peuvent permettre de déterminer si le prédateur a effectivement consommé la proie.

2. LE MODELE D'ETUDE : LE RESEAU TROPHIQUE DES BANANERAIES

2.1. L'ECOSYSTEME DE LA BANANERAIE

2.1.1. LA CULTURE DE BANANES DESTINEES A L'EXPORTATION

Le mode de production de bananes est souvent basé sur la monoculture intensive sur plusieurs cycles de production, suivie de jachères entretenues, et parfois en rotation avec des cultures de cannes à sucre. Au sein d'une parcelle, les bananiers sont plantés en double rang espacés d'environ 4 mètres. En moyenne, seize millions de tonnes de bananes desserts sont exportées chaque année, ce qui représente une part importante des productions agricoles mondiales, notamment dans les pays du sud (Lassoudière, 2007).

2.1.2. CYCLE DU BANANIER

Le bananier est une plante herbacée monocotylédone de grande taille sans tige végétative aérienne de la famille des Musa, et qui est originaire de l'Asie du sud-est. Les bananes comestibles résultent de l'hybridation entre deux progéniteurs sauvages, *M. acuminata* (A) et *M. balbisiana* (B). L'hybridation a conduit à six haplotypes différents, qui peuvent être diploïdes (AA, AB), triploïdes (AAA, AAB, ABB) ou tétraploïdes (ABBB). Les hybrides triploïdes ont tendance à être plus vigoureux que les diploïdes ou les tétraploïdes (Gold *et al.*, 2001). En Martinique, les bananes dessert sont majoritairement les fruits de l'hybride triploïde AAA, appelé Cavendish Grande Naine. Ces bananes sont largement destinées à l'exportation vers la France métropolitaine (Lassoudière, 2007).

D'abord, une tige apparaît à partir d'un rhizome souterrain et croît jusqu'à ce que la production de feuille soit terminée. Ensuite, une inflorescence terminale apparaît à partir du méristème principal, apporté par une hampe florale, et fructifie pour produire un seul régime de bananes par plante. Lorsque la maturation des fruits est terminée, l'agriculteur coupe le régime, ainsi que la plante, ce qui va permettre à un rejet issu du même rhizome de se développer (Lassoudière, 2007).

2.1.3. LES BIOAGRESSEURS ET MALADIES DU BANANIER

Une diversité importante de ravageurs et de parasites infestent les bananiers dans différentes zones de production du monde entier. Parmi les maladies qui ont un impact économique majeur, nous pouvons citer les maladies fongiques, notamment les cercosporioses (*Mycosphaella fijiensis*, et *Mycosphaella musicola*) et les fusarioses (*Fusariumoxysporum*), les maladies bactériennes, dues à *Ralstonia solanacearum* ou encore *Xanthomonas campestris*, et d'autres maladies virales (Cucumovirus, banana streak virus, banana bunchy top virus). Les ravageurs du bananier sont représentés par les nématodes, les thrips et les charançons, dont le plus dommageable est le charançon du bananier *Cosmopolites sordidus*. D'autres ravageurs importants sont les cochenilles, les araignées rouges et les hannetons (Lassoudière, 2007).

2.2. LE CHARANÇON DU BANANIER ET LES VOIES DE SA REGULATION

2.2.1. BIOLOGIE DU CHARANÇON ET DEGATS

Le charançon du bananier a été découvert par Germar en 1824 à partir de spécimens collectés à Java. D'une manière générale, il est admis que son aire d'origine serait similaire à celle du bananier, soit la région Indo-Malaysienne en Asie du sud-est (Abera-Kalibata *et al.*, 2006; Gold *et al.*, 2001; Stover et Simmonds, 1987; Waterhouse, 1993; Zimmerman, 1968). C'est un coléoptère de la famille des Curculionidae caractérisé par un rostre allongé et par une cuticule et des ailes antérieures très dures, utilisées pour protéger des ailes fonctionnelles. En dépit de la présence de ces ailes fonctionnelles, l'habileté pour le vol semble avoir été perdue au cours de l'évolution car le vol n'a jamais été observé (Gold *et al.*, 2001). La dispersion de *C. sordidus* se fait principalement par la marche et par le transport de matériel végétal infecté. De couleur brun-rouge juste après l'émergence, les adultes acquièrent une couleur noire après quelques jours (Gold *et al.*, 2001; Lassoudière, 2007; Cuillé, 1950; Froggatt, 1925; Mestre, 1997b). Ils mesurent 10 à 20 mm approximativement, et les femelles sont 20% plus longues (Beccari, 1967; Cuillé, 1950) et 11-17% plus lourdes que les mâles (Gold *et al.*, 2001). Dans la plupart des régions de production, *C. sordidus* est une contrainte majeure pour la culture de bananes. Les larves creusant des galeries dans le bulbe au niveau du collet, altèrent le système vasculaire de la plante et fragilisent sa structure, augmentant le risque de chute (Lassoudière, 2007). Les attaques de *C. sordidus* provoquent une baisse de rendement et augmentent la durée d'un cycle de plantation (Rukazambuga *et al.*, 1998). Dans des conditions d'attaques sévères, les pertes peuvent atteindre 100% (Abera-Kalibata *et al.*, 2006).

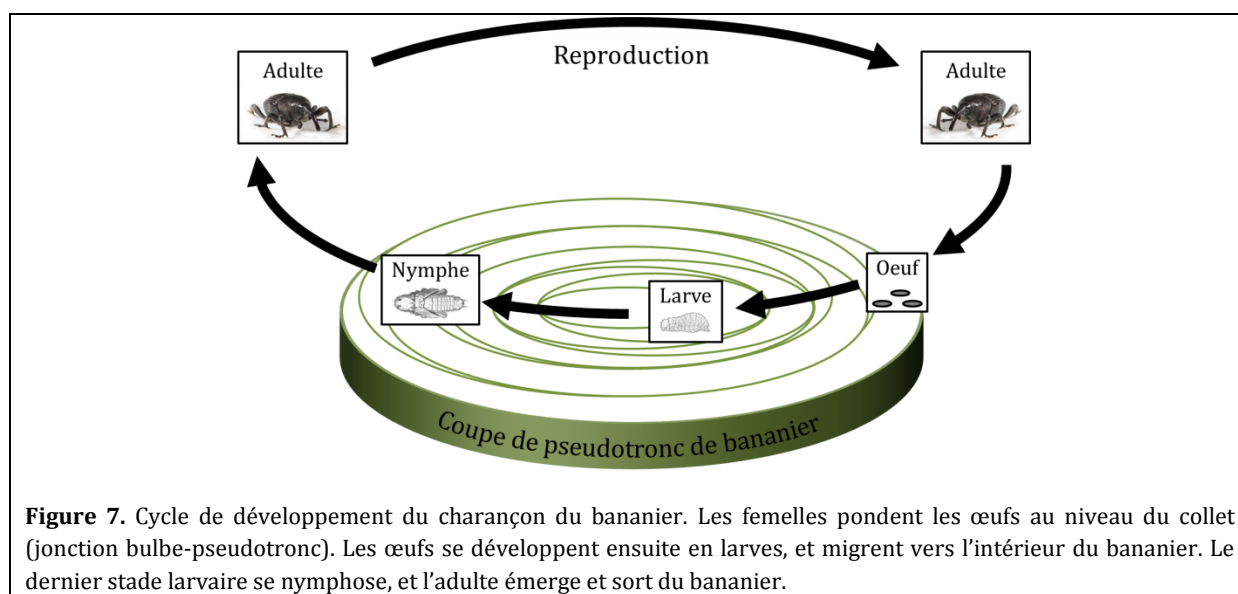


Figure 7. Cycle de développement du charançon du bananier. Les femelles pondent les œufs au niveau du collet (jonction bulbe-pseudotrunc). Les œufs se développent ensuite en larves, et migrent vers l'intérieur du bananier. Le dernier stade larvaire se nymphose, et l'adulte émerge et sort du bananier.

2.2.2. REGULATION PAR LES PRATIQUES CULTURALES, LES CHOIX GENOTYPIQUES ET LE PIEGEAGE

Jusqu'en 1993, date de son interdiction par les autorités françaises, le pesticide Chlordécone a été beaucoup utilisé pour lutter contre les fortes populations de *C. sordidus*. Depuis, la rotation des cultures, l'utilisation de vitroplants sains (Lassoudière, 2007), et la culture de clones résistants (Gold *et al.*, 2001) sont des pratiques alternatives respectueuses de l'environnement et capables de contribuer à la régulation de *C. sordidus*. La gestion des résidus de culture a aussi un effet direct sur la dynamique de *C. sordidus* qui est une espèce avec un fort hydrotropisme ; les adultes ont tendance à chercher des débris

végétaux humides pour se nourrir et s'abriter (Cuillé, 1950; Cuillé et Vilardebo, 1963; Gold *et al.*, 2001; Lassoudière, 2007; Vilardebo, 1960). De ce fait, laisser les stipes verticaux après récolte au lieu de les couper et de les laisser au sol est une technique couramment utilisée pour limiter les populations. Les résidus végétaux sont maintenus à l'intérieur du double rang pour limiter la propagation de *C. sordidus* entre les rangs. La diversification végétale semble aussi favorable à la régulation du ravageur : intercaler les cultures de bananier avec des plantations de café ou de cannelle, comme c'est le cas en Asie du sud-est, permet une bonne régulation du système (Abera-Kalibata *et al.*, 2006). Par conséquent, *C. sordidus* n'est pas considéré comme un bioagresseur dans cette région. Dans les autres zones de production, la lutte se fait au moyen de piégeage au champ, à l'aide de la phéromone d'agrégation de *C. sordidus*, la sordidine, qui est produit synthétiquement (Jaramayan *et al.*, 1997). Le développement d'un modèle de simulation de l'épidémiologie de *C. sordidus*, combiné avec des modèles de croissance végétale a permis d'améliorer l'arrangement spatial des parcelles et les stratégies de piégeage, en lien avec les mouvements du ravageur et leur dépendance à la qualité de l'habitat (modèle COSMOS, voir Vinatier *et al.* 2009, 2011).

2.2.3. LES PREDATEURS POTENTIELS

Une diversité de prédateurs est présente dans les bananeraies, on y retrouve notamment fourmis, carabes, araignées, scolopendres, forficules, grenouilles et lézards. La classe la plus représentée, en termes de diversité et d'abondance, est celle des hexapodes, et surtout les fourmis (Hymenoptera, Formicidae). Certaines espèces de fourmis sont connues pour être responsables d'une forte régulation des populations de *C. sordidus* dans sa région d'origine (Abera-Kalibata *et al.*, 2006), et dans certaines régions de production (Abera-Kalibata *et al.*, 2008; Abera-Kalibata *et al.*, 2007; Gold *et al.*, 2001) avec des taux de prédation allant jusqu'à 70%, notamment à Cuba (Perfecto et Castañeras, 1998). Les fourmis sont des insectes sociaux capables de maintenir un niveau élevé de prédation étant donné que les excès de nourriture sont stockés dans le nid, et que les ouvrières continuent de prospecter pour de la nourriture même après satiété (Abera-Kalibata *et al.*, 2008; Abera-Kalibata *et al.*, 2007). D'une manière générale, les prédateurs de *C. sordidus* et leur potentiel réel sont assez mal connus (Duyck *et al.*, 2011b).

2.3. EFFET DE LA GESTION DES RESSOURCES PRIMAIRES

2.3.1. PRINCIPE DE LA COUVERTURE VEGETALE

Les plantes de couverture sont habituellement utilisées pour limiter l'érosion des sols et améliorer sa fertilité (Chauhan *et al.*, 2012). Elles permettent de réduire la germination des plantes spontanées et diminuent l'intensité lumineuse au niveau de la surface du sol. Plusieurs espèces de plantes de couverture sont utilisées dans divers systèmes de culture, comme les légumineuses, qui augmentent la fixation des nutriments grâce à leur association avec des bactéries. Dans les systèmes où la plante de couverture doit être supprimée avant la plantation, les résidus de coupe peuvent être utilisés en paillage. Ce paillage naturel fournit un habitat protégé pour les prédateurs de graines, et réduit ainsi le nombre de graines des plantes spontanées (Reader, 1991).

2.3.2. EFFETS DE LA COUVERTURE VEGETALE SUR LES HERBIVORES

Par ailleurs, l'addition d'une couverture végétale peut être un moyen de favoriser la biodiversité au niveau d'une parcelle. En effet, choisie pour ne pas être en compétition racinaire avec le bananier, la plante de couverture va utiliser les ressources basales minérales non utilisées et les transformer en matière organique. La mise en place d'une plante de couverture est donc à l'origine de l'augmentation de

matière organique qui va favoriser les niveaux trophiques supérieurs au sein de la parcelle. L'abondance des herbivores sera plus élevée, et leur diversité aussi car la plante de couverture peut favoriser le développement d'espèces qui lui sont inféodées.

2.3.3. EFFETS POTENTIELS SUR LA REGULATION DES BIOAGRESSEURS

Selon le principe de translocation de l'énergie, l'augmentation des consommateurs primaires (les herbivores) va permettre aux prédateurs de devenir plus abondants. La présence d'espèces d'herbivores favorisées par la plante de couverture peut aussi avoir un effet sur la diversité spécifique des consommateurs secondaires, en permettant à de nouvelles espèces de prédateurs d'être favorisées à leur tour. Un autre effet, indirect, de l'addition d'une plante de couverture dans une parcelle cultivée est aussi l'apparition de nouvelles espèces de plantes spontanées qui vont pouvoir se développer en l'absence d'application d'herbicide. Par conséquent, l'abondance et la diversité de tous les niveaux trophiques sont favorisées par les plantes de couverture. La plante de couverture peut donc être une voie de régulation des bioagresseurs dès lors qu'elle favorise certains prédateurs généralistes capables d'augmenter cette régulation. Certaines études permettent de penser que cette stratégie de gestion des ressources basales pourrait être intéressante pour la régulation de *C. sordidus* dans les bananeraies. En effet, Duyck *et al.* (2011b) ont montré que la présence d'une plante de couverture dans des parcelles en Martinique change le régime alimentaire des prédateurs généralistes en présence.

3. OBJECTIFS ET ORGANISATION DE LA THESE

L'objectif général de la thèse est de caractériser l'effet de la couverture végétale sur la structure et le fonctionnement du réseau trophique des arthropodes de la bananeraie, afin de comprendre et d'améliorer la régulation de *C. sordidus*. La gestion de la couverture végétale est un exemple concret de manipulation des ressources basales de l'agroécosystème. Du fait de sa longévité (une bananeraie peut être exploitée de nombreuses années) et des conditions tropicales qui y règnent (faible variation des conditions abiotiques tout au long de l'année), l'agroécosystème à base de bananier est un cas particulièrement favorable à l'étude des communautés d'espèces, et notamment des arthropodes. Ces conditions favorisent l'établissement d'équilibres et rendent les campagnes d'échantillonnages plus facilement représentatives. Quatre questions scientifiques structurent la thèse :

1. La prédation des œufs de *C. sordidus* est-elle effective sur une bananeraie en production ? Quel est l'effet de la plante de couverture sur l'abondance des prédateurs généralistes, et sur le taux de prédation des œufs de *C. sordidus* ?

2. Quels sont les prédateurs généralistes responsables de la prédation du *C. sordidus* ? Quelles sont les espèces de plantes, d'herbivores et de prédateurs qui composent le réseau, et comment interagissent-ils ?

3. Quel est l'effet de la plante de couverture sur la structure et le fonctionnement du réseau trophique de la bananeraie ?

4. Quelles peuvent être les stratégies à adopter en termes de pratiques culturales pour améliorer la régulation de *C. sordidus* par les prédateurs généralistes ?

La démarche générale repose sur trois parties complémentaires basées sur (i) des mesures de taux de prédation des œufs de *C. sordidus* sur des parcelles artificiellement infestées, (ii) des analyses moléculaires des contenus stomacaux d'arthropodes, et (iii) la détection des éléments structuraux du réseau trophique et l'inférence sur son fonctionnement.

Le chapitre I concerne la mise en évidence de la prédation de *C. sordidus* dans des parcelles de bananiers en production sur sol nu et sur sol enherbé. L'hypothèse de travail était que l'augmentation des ressources primaires (par l'ajout d'une plante de couverture) permet le développement de proies alternatives qui favorisent l'augmentation d'abondance des prédateurs généralistes en changeant leur régime alimentaire (en exploitant cette nouvelle ressource). La plus grande abondance des prédateurs généralistes permet en retour d'exercer une prédation plus importante sur *C. sordidus*. Cette première partie du travail est nécessaire pour démontrer que des espèces de prédateurs naturellement présentes au champ peuvent effectivement consommer *C. sordidus*, et que la présence de la plante de couverture favorise cette prédation par l'intermédiaire d'autres espèces du réseau.

Dans le chapitre II, nous avons cherché à identifier l'ensemble des taxa et les interactions trophiques qui les lient, pour appuyer l'hypothèse de l'implication de proies alternatives dans le mécanisme de régulation du bioagresseur. Cette partie a été conçue de façon à caractériser la topologie du réseau trophique de la bananeraie, en mettant en évidence la composition du régime alimentaire de tous les taxa d'herbivores et de prédateurs retrouvés dans la bananeraie. Les outils de biologie moléculaire basés sur le séquençage haut-débit (détection de séquence d'ADN des ressources dans l'estomac des consommateurs) ont permis d'identifier de manière très précise la structure du réseau trophique lorsque les ressources

primaires sont contrôlées par une application d'herbicide (sol nu) ou par la présence d'une plante de couverture (sol enherbé).

Le chapitre III est une analyse de la structure du réseau trophique réalisée pour mettre en évidence son fonctionnement et les mécanismes de régulation du bioagresseur en fonction des pratiques culturales. Cette dernière partie a permis de mettre en relation structure et fonctionnement du réseau trophique par la détection de motifs.

Les trois premiers chapitres sont sous la forme d'articles publiés (I), soumis (II) ou à soumettre (III). La réponse à la quatrième question de la thèse repose sur les acquis de ces chapitres, relatifs à l'augmentation de la prédation, à l'identification des prédateurs et des proies alternatives, et à l'étude de l'effet de la diversification végétale sur le fonctionnement réseau trophique. Cette question est traitée en détail dans le chapitre IV de discussion générale et conclusion.

CHAPITRE I - EFFETS DE LA GESTION DES RESSOURCES PRIMAIRES SUR LA PREDATION D'UN BIOAGRESSEUR

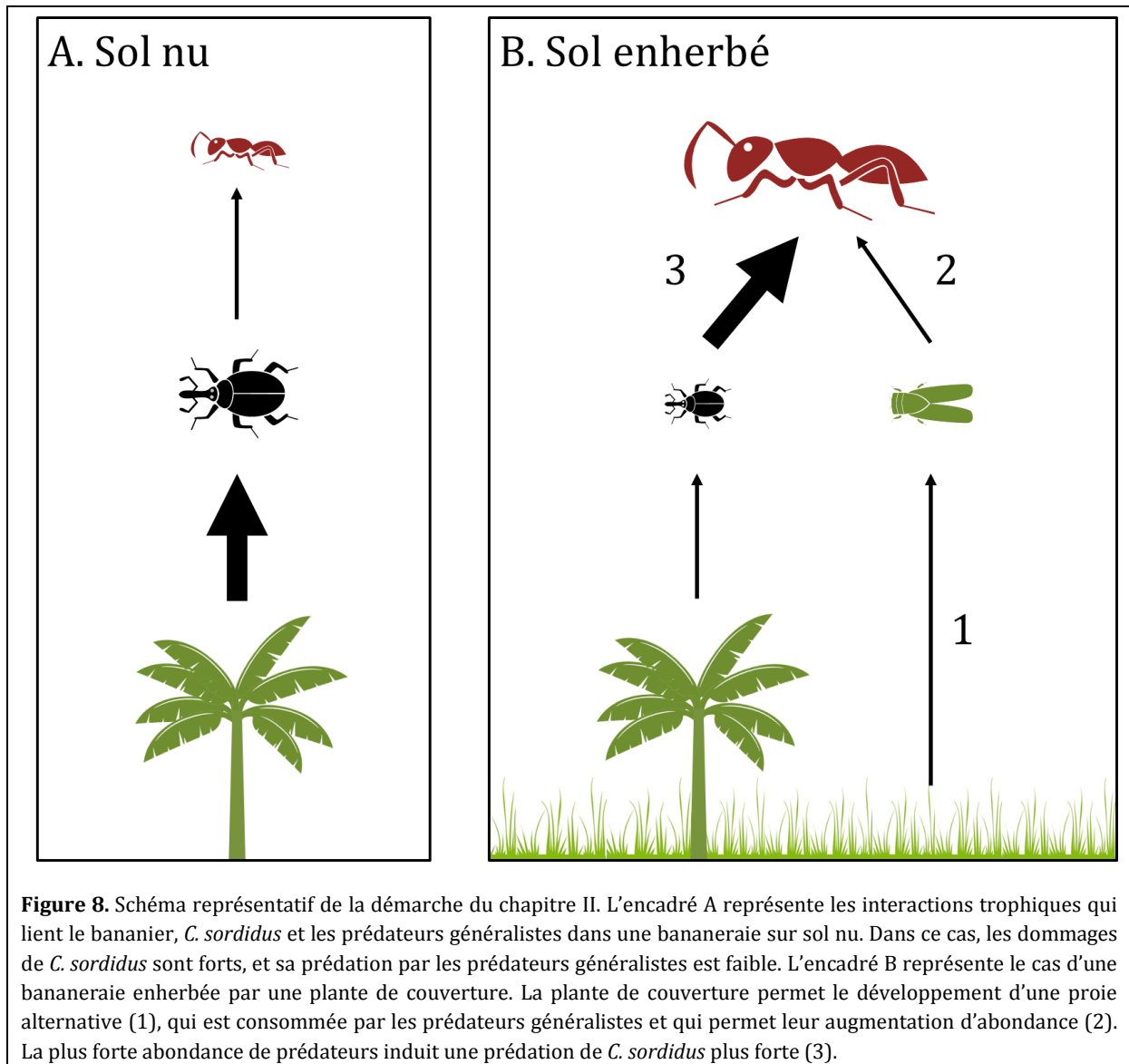
Ce chapitre vise à quantifier au champ l'importance de la prédation de *C. sordidus* par les prédateurs généralistes de la bananeraie. Elle vise également à comprendre si la présence de plante de couverture modifie le potentiel de régulation du bioagresseur.

Ce chapitre repose sur l'article de recherche publié dans *Agricultural & Forest Entomology* et intitulé **New primary resource increases predation on a pest in a banana agroecosystem**. Nous nous sommes appuyé sur le concept de la compétition apparente pour expliquer l'augmentation des taux de prédation des œufs de *C. sordidus* observée sur des parcelles enherbées, comparées à des parcelles sur sol nu. Selon ce concept, deux herbivores peuvent être indirectement en compétition, par l'intermédiaire d'un ennemi naturel commun. L'hypothèse testée dans ce chapitre est que la plante de couverture permet le développement de proies alternatives qui permettent aux prédateurs généralistes d'augmenter en nombre. Cette plus grande abondance de prédateurs engendre une plus forte prédation de *C. sordidus* (**figure 8**).

Ce travail démontre par une approche mécaniste comment la régulation d'un bioagresseur peut être favorisée par l'addition d'une plante de couverture. Nous avons réalisé les expérimentations de terrain sur 2 sites en Martinique, sur les parcelles expérimentales de Rivière Lézarde au Lamentin, et à l'habitation Leyritz à Basse Pointe. Ces 2 sites présentaient l'avantage d'avoir deux parcelles adjacentes (nue et enherbée) en production depuis au moins 4 ans. De plus, aucune de ces 4 parcelles n'avait été en contact avec des traitements insecticides depuis au moins 4 ans. Le premier objectif était de comparer l'abondance d'un prédateur généraliste, la fourmi feu *Solenopsis geminata*, sur les parcelles enherbées, et sur les parcelles sur sol nu. J'ai utilisé deux méthodes de piégeage, les pièges à fosse et les pièges à pseudotrunc, pour mesurer l'abondance de *S. geminata*.

Le second objectif était de tester l'hypothèse selon laquelle l'augmentation de l'abondance du prédateur, constatée sur sol enherbé, était due à un changement de régime alimentaire avec l'ajout d'une plante de couverture, et donc à l'exploitation de nouvelles ressources. Pour cela, nous avons réalisé des collectes d'individus de *S. geminata* que nous avons soumis à une analyse isotopique. Les valeurs de $\delta^{13}C$ et de $\delta^{15}N$ mesurées sur ces individus ont permis de déterminer que les prédateurs utilisaient de nouvelles ressources, en présentant des valeurs de $\delta^{13}C$ plus proches des valeurs de la plante de couverture.

Le dernier objectif était de comparer les taux de prédation des œufs de *C. sordidus* sur les parcelles enherbées et sur sol nu. J'ai infesté artificiellement des bananiers avec des œufs de *C. sordidus*, et suivi leur disparition au cours du temps. L'augmentation des taux de prédation sur sol enherbé était significative ; nous proposons qu'elle soit liée à l'augmentation de l'abondance des prédateurs généralistes, corroborée par la preuve de l'utilisation de nouvelles ressources par ces derniers.



New primary resource increases predation on a pest in a banana agroecosystem

GREGORY MOLLOT¹, PHILIPPE TIXIER¹, FRANÇOISE LESCOURRET², SERGE QUILICI³ AND PIERRE-FRANÇOIS DUYCK¹

¹*CIRAD, UR 26 Systèmes de culture à base de bananiers, plantains et ananas, PRAM CIRAD Petit Morne, BP 214, 97285 Le Lamentin cedex 2, Martinique, FWI.*

²*INRA, UR 1115 Plantes et Systèmes de Culture Horticoles, Domaine St. Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex 9, France.*

³*CIRAD, UMR 53 Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical Cirad/Université de La Réunion, 7 chemin de l'IRAT, 97410 St-Pierre, La Réunion, France.*

Corresponding author:

Grégory MOLLOT

PRAM CIRAD Petit Morne, BP 214, 97285 Le Lamentin cedex 2, Martinique, FWI

Tel : +596 596 423 046

Fax : +596 596 423 001

E-mail: gregory.mollot@cirad.fr

ABSTRACT

1. Primary resources may affect the structure of species assemblages in upper trophic levels of food webs. These bottom-up effects may involve important ecological processes that affect pest control. For example, population densities of natural enemies may increase when alternative preys are favoured by a new resource.

2. Ants, especially *Solenopsis geminata*, are recognized as effective predators of herbivores eggs. In this paper, we tested the hypothesis that the addition of a primary resource in a banana agroecosystem will increase pest control of the banana weevil *Cosmopolites sordidus* by ants.

3. Using stable isotope analyses, we showed that *S. geminata* used the new resource pathway provided by the addition of a cover crop. This change was revealed by increased $\delta^{13}\text{C}$ values ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) in a cover crop treatment (C4 plant) compared to a banana (C3 plant) in bare soil treatment.

4. We also showed that the abundance of *S. geminata*, as measured with pitfall traps was 4.8-5.4 times higher in the cover crop treatment than in the bare soil treatment. Estimation of eggs predation rates ranged from 7.8 to 70.3%, which occurred in plots with the lowest and highest *S. geminata* numbers, respectively.

5. The addition of a new primary resource in this system changed the origin of the carbon consumed by predators and increased their densities. The increased ant abundance resulted in increased predation of weevil eggs, which was consistent with our hypothesis. These results will be useful for the design of cropping systems that enhance biological regulation of pests.

Keywords

Apparent competition, *Cosmopolites sordidus*, Cover crop, Diet, *Musa spp.*, Predation rate, *Solenopsis geminata*, Stable isotope.

1. INTRODUCTION

Top-down and bottom-up effects are both acknowledged as regulatory mechanisms in food webs (Elton, 1927; Rosenheim, 1998). In terms of pest control, top-down effects by natural enemies have often been emphasized because of their direct role in decreasing pest numbers (Bell *et al.*, 2010; Cardinale *et al.*, 2003; Carter et Rypstra, 1995). However, the bottom-up effect of primary resources (i.e., plants or plant-derived materials) may also be important in pest control. In a recent eight-year experiment, for example, Scherber *et al.* (2010b) found that plant diversity in agroecosystems has particularly strong effects on upper trophic levels in that an increase in plant species richness caused an increase in parasitism of pests, i.e. species-rich systems enhanced the potential for biological control. New primary resources in the agroecosystem may provide alternative prey for upper trophic levels and thereby increase population densities of natural enemies and pest control (Barberi *et al.*, 2010; Wise *et al.*, 2006).

An increase in predation when alternative preys are present may result from apparent competition (Holt, 1977). In this case, apparent competition would refer to the positive effects of two non-competing prey on predator abundance. The increase in abundance induced by the consumption of the first prey could increase predation on the second prey (Van Veen *et al.*, 2006). In arable crops, for example, indirect interactions between pest and non-pest arthropods through a shared enemy (a biological control agent) led to a decrease in pest abundance (Evans et England, 1996). The effectiveness of pest consumption by generalist predators could increase when the non-pest prey maintains higher numbers of the predator and when predation on the pest improves consumer fitness (Polis et Strong, 1996a). On the other hand, when preference is lower for the pest than for the non-pest prey, predators should switch their diet to the alternative prey and the pest population could increase (Koss et Snyder, 2005).

The addition of straw, cover crops, or similar primary resources to agroecosystems may increase predator abundance and foraging activity and thus reduce herbivore abundance (Symondson *et al.*, 2002). For instance, Mathews *et al.* (2004) showed that addition of composted mulch to an apple orchard supported greater densities of alternative prey, which were positively correlated with increases predator abundance. Similarly, cover crops, which are usually employed to limit erosion and the leaching of organic matter, are assumed to support non-pest populations that might act as alternative prey for predators. This has already been demonstrated in a rice-based tropical cropping system in which a wood-debris mulch increased the abundance of spiders, carabids, staphylinids, and ants (Afun *et al.*, 1999). Such results are in agreement with the prediction of the apparent competition theory in the case where the pest constitutes the preferred prey (Holt et Kotler, 1987).

In the current study, we tested the general hypothesis that addition of a new primary resource, a cover plant, would increase pest control in a banana agroecosystem in Martinique. The main insect pest in bananas is the banana weevil *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera, Curculionidae). Females of this species lay eggs in the corm of the banana tree (Gold *et al.*, 2001). Because the larvae bore deeply into the corm, the egg appears to be the stage that is most accessible to natural enemies. Koppenhofer (1993a) showed that 58% of eggs are directly accessible to predators. Ants are effective predators of banana weevil eggs (Abera-Kalibata *et al.*, 2008; Abera-Kalibata *et al.*, 2007; Gold *et al.*, 2001). Ant species identified in banana agroecosystems in Martinique include *Odontomachus bauri* Emery (Ponerinae), *Wasmannia auropunctata* Forel (Myrmicinae), and the fire ant *Solenopsis geminata* Forel (Myrmicinae), and our direct observations of predation in the field indicate that *S. geminata* is the dominant species feeding on weevil eggs in our field sites (*unpublished observations*).

To study the effect of a cover plant on the potential of *S. geminata* to control the banana weevil, we tested the following specific hypotheses: when a cover crop is added to the banana agroecosystem, (i) *S. geminata* is able to use the new resource pathway; (ii) the abundance of *S. geminata* increases; and (iii) predation on banana weevil eggs increases. To test the first hypothesis, we used stable isotope analysis of carbon and nitrogen to detect changes in trophic niche regarding resource and trophic level (Ponsard et Arditi, 2000; Post, 2002). To test the second and third hypotheses, we used trapping methods to quantify

ants and we measured predation of banana weevil eggs that were placed in the field, mimicking the egg-laying behaviour of the banana weevil.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. STUDY SITES

The experiment was conducted in Martinique (French West Indies) during June and July of 2010. The two treatments were “bare soil” (banana plantation with bare soil, which is the traditional system) and “cover crop” (banana plantation with a cover crop). Two banana cropping sites were selected: the first site was an experimental farm in Rivière Lézarde (60° 59' 59" W; 14° 39' 45" N) with a 30 m × 10 m bare soil plot near a 16 m × 23 m plot cropped with *Brachiaria decumbens* Stapf (Graminaceae: Poaceae). The second site was the Leyritz farm in Basse-Pointe (61° 07' 20" W; 14° 50' 50" N) where a 30 m × 15 m bare soil plot was adjacent to a 31 m × 16 m plot cropped with *Cynodon dactylon* (L.) Persoon (Graminaceae: Poaceae). The two sites were separated by 24.4 km. The soil at the Rivière Lézarde site is a nitisol, and the site has a mean annual temperature of 26.5°C and a mean annual rainfall of 2000 mm. The soil at the Leyritz site is an andosol with pumice, and the site has a mean annual temperature of 26°C and a mean annual rainfall of 2500 mm. The plots at both sites were representative of intensive cultural management, i.e., banana trees were planted in double rows with approximately four meters separating the double rows. None of these banana fields received any insecticide application during the four years before the experiment.

2.2. STABLE ISOTOPES ANALYSIS

Changes in predator diet may be indicated by changes in isotopic signature in ^{13}C and ^{15}N (Ponsard et Ardit, 2000; Oelbermann et Scheu, 2002; Vanderklift et Ponsard, 2003), and analysis of ratios of stable isotopes has recently contributed to our understanding of ant feeding behavior (Mooney et Tillberg, 2005). To test for a change of resource pathway in predator diet with the addition of a primary resource to the banana agroecosystem, we first measured the isotopic signature of each primary resource (banana and cover crops) and of the predator. Seventy samples of banana trees, 24 samples of *B. decumbens*, 26 samples of *C. dactylon*, and 28 samples of *S. geminata* were analyzed. Plant samples were collected with a scalpel, and ants were collected with a manual vacuum (see the subsection *Solenopsis geminata* abundance for more details on the trapping methods). Each sample was conditioned in a dry pillbox and frozen at -20°C until preparation for isotope analysis. Frozen samples were lyophilized for 48 h and ground into a fine powder before an appropriate mass was placed in a tin capsule for analysis. When one individual of *S. geminata* had sufficient biomass (0.4 mg), it was analyzed independently; otherwise, two individuals were pooled to make one sample. As noted, animals contain various ratios of the stable isotopes $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$, reflecting the isotopic composition of their diet (Ponsard et Ardit, 2000). Animal tissues tend to accumulate the heavier isotope compared to their diet. In our system, the cover crops consisted exclusively of C4 plants (*Cynodon dactylon* and *Brachiaria decumbens*) that have a different $\delta^{13}\text{C}$ isotopic signature from that of banana tree, which is a C3 plant (Staddon, 2004). Differences observed for $\delta^{13}\text{C}$ values of primary resources reflect differences in carbon metabolism between C3 plants (banana trees), whose values usually range between -25 and -27‰, and C4 plants (cover plants), whose values usually range between -9 and -17‰ (Staddon, 2004). Delta ^{13}C values of the predator reflect the origin of the carbon it has absorbed, i.e., whether the carbon resource was derived from the C3 pathway (banana trees), from the C4 pathway (cover plants), or from both. Isotope ratios were determined with an isotope ratio mass spectrometer (SerCon 20/20) coupled to an ANCA-GSL elemental analyser at The James Hutton Institute (Dundee, Scotland). All stable isotope values are reported in the δ notation: $\delta^{13}\text{C}$ or $\delta^{15}\text{N} = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$, where R is $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ or $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. Standards are PeeDee Belemnite (Peterson et Fry, 1987) and atmospheric air.

2.3. ABUNDANCE OF SOLENOPSIS GEMINATA

Two trapping methods were used to assess the abundance of *S. geminata*: pitfall traps and pseudostem traps. Pitfall traps are the most commonly used method for capturing ground-dwelling arthropods in the field. Pitfall traps were filled with soapy water and regularly distributed over the study plots, with four meters between traps. After 48 h, trapped individuals were identified and counted. Eight and nine pitfall traps per treatment were monitored at Rivière Lézarde and Leyritz sites, respectively. The pseudostem trap consists of one-half of a section of fresh banana pseudostem (approximately 50 cm long) that is placed on the soil near the base of a banana tree. After 48 h, individuals under the pseudostem trap are removed, identified, and counted. Twenty-eight and 23 pseudostem traps per treatment were monitored at Rivière Lézarde and Leyritz sites, respectively.

2.4. PREDATION ON WEEVIL EGGS

We estimated predation rates from field measurements with corms that were artificially infested with eggs in plots with the bare soil and the cover crop treatments. Eggs were obtained from laboratory-reared *C. sordidus* adults that were maintained on fresh banana tissues in a plastic box (20 × 15 × 5 cm) at 25°C. These reared adults were initially collected from different sites in Martinique using dry pitfall traps (so that the weevils were alive when collected) containing sordidin, a synthesized aggregation pheromone (Jaramayan *et al.*, 1997). Females produce 1–4 eggs per week; the sex ratio in natural populations is 1:1; and the minimum duration of egg development to the first larval instar is 12 days under tropical conditions (Gold *et al.*, 2001). A total of 1940 weevils were collected and maintained in order to obtain a minimum of 200 freshly laid eggs per day. The female lays eggs (approximately 1 mm long) in small cavities that she has previously chewed with her rostrum, within 1–2 mm of the corm or pseudostem surface (Koppenhofer, 1993b). We placed eggs on banana trees in the field to mimic placement by a female weevil. Each egg was individually deposited with a wet brush into a small cavity, which was dug with a stainless steel needle at the base of the banana tree. Each banana tree was artificially infested with five eggs (2 cm spacing between eggs), and there were 20 and 18 artificially infested banana trees per treatment at Rivière Lézarde site and Leyritz farm site, respectively. Predation rates were estimated by counting remaining eggs after 1 h of exposure. To check for causes of egg removal other than predation (e.g., rain runoff), we established controls by applying tree glue (Pelton® 2, Scotts France SAS) around some eggs to protect them from ants. The percentage of remaining eggs in controls was significantly different between sites (GLM with binomial error: $\Delta Deviance=10.8$, $df=1,23$, $P=0.001$) and between treatments ($\Delta Dev=14.7$, $df=1,24$, $P<0.001$). At Rivière Lézarde, the percentage of remaining eggs in controls was $100 \pm 0\%$ ($n=8$ banana trees) and $75 \pm 16\%$ ($n=8$ banana trees) for the bare soil treatment and cover crop treatment, respectively. At the Leyritz farm, the percentage of remaining eggs in controls was $100 \pm 0\%$ for both the bare soil treatment ($n=5$ banana trees) and the cover crop treatment ($n=5$ banana trees).

2.5 STATISTICAL ANALYSES

While $\delta^{13}C$ values were significantly but only slightly higher for *B. decumbens* than for *C. dactylon* ($df=1,49$; $F=106.57$; $P<0.001$, see results for $\delta^{13}C$ values), $\delta^{13}C$ values for *Solenopsis geminata* did not differ between the two cover crop plots ($df=1,24$; $F=0.4178$, $P=0.5278$). The two cover crop species have been pooled under the factor “cover crop”; this pooled effect was used to examine the main effect of cover crop and the interaction between cover crop and site in the following analyses. Values of $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$, abundance in pitfall traps, abundance in pseudostem traps, and predation rate were analyzed using generalized linear mixed-effects models [GLMM, (Bolker *et al.*, 2009)] as a function of treatment (bare soil or cover crop) with normal, Poisson, and binomial errors for isotope, abundance, and predation data, respectively. We treated “site” as a random effect because we assumed that plots contained unobserved heterogeneity and to account for pseudo-replication. Overdispersion was taken into account by using

“sample identifier” as an individual-level random variable. The GLMMs were fitted by the Laplace approximation using the *glmer* function in ‘lme4’ (Bates *et al.*, 2011) in the statistical program R 2.12.1 (R Development Core Team, 2009).

3. RESULTS

3.1. STABLE ISOTOPE ANALYSIS

The mean $\delta^{13}\text{C}$ values of the primary resources were -26.9 ± 0.2 ‰ for banana trees, -12.4 ± 0.1 ‰ for *Brachiaria decumbens*, and -13.6 ± 0.1 ‰ for *Cynodon dactylon*. Delta ^{13}C values for *S. geminata* were significantly higher in the cover crop treatment (-17.6 ± 0.4 ‰) than in the bare soil treatment (-21.4 ± 0.4 ‰), indicating a diet shift from a banana to a cover crop pathway (Table 1). The mean $\delta^{15}\text{N}$ values of the primary resources were 4.1 ± 0.2 ‰, 2.1 ± 0.5 ‰, and 2.1 ± 0.3 ‰, for banana trees, *B. decumbens*, and *C. dactylon*, respectively. Delta ^{15}N values of *S. geminata* were not significantly different between bare soil (7.9 ± 0.2 ‰) and cover crop treatments (8.5 ± 0.4 ‰), and the effects of site and interactions were not significant.

3.2. ABUNDANCE OF SOLENOPSIS GEMINATA

The mean abundance of *S. geminata* ranged from 0.6 ± 0.2 individuals (n=8) to 10.9 ± 2.9 individuals (n=9) per pitfall trap, and from 0.3 ± 0.1 individuals (n=23) to 10.0 ± 1.6 individuals (n=28) per pseudostem trap (Figure 1). The abundance of *S. geminata* measured with pitfall traps was 4.8- and 5.4-times higher in the cover crop treatment than in the bare soil treatment at the Rivière Lézarde site and the Leyritz farm site, respectively. The values with pseudostem traps were 1.6- and 13.6-times higher in cover crop than in bare soil at the Rivière Lézarde site and the Leyritz farm site, respectively (Table 1). Overall, the abundance of ants was higher at the Rivière Lézarde site than at the Leyritz farm site, based either on pitfall or pseudostem traps.

3.3. PREDATION ON WEEVIL EGGS

Predation rates (percentage of weevil eggs removed from corms) were lowest in the bare soil treatment at the Leyritz site ($7.8 \pm 3.3\%$, n=18 banana trees) and highest in the cover crop treatment at the Rivière Lézarde site ($70.3 \pm 3.8\%$, n=20 banana trees) (Figure 2). The predation rate was 1.28-times higher in the cover crop treatment than in the bare soil treatment at Rivière Lézarde and 6.28-times higher at the Leyritz farm site; the effects of treatment and site were significant but the interaction was not (Table 1). Although predation by individual species of predators was not quantified, we did observe *S. geminata* removing eggs from corms that were artificially infested with eggs.

4. DISCUSSION

4.1. SOLENOPSIS GEMINATA USES THE NEW PRIMARY RESOURCE PATHWAY

When the only primary resource in the agroecosystem was the banana tree (bare soil treatment), *S. geminata* mainly fed in the C3 pathway, but not exclusively, because its $\delta^{13}\text{C}$ value on bare soil was different from that of banana trees. The generalist nature of this ant and its ability to explore its environment allow it to prey outside the plot, where C4 plants can be present. When a new resource, the cover crop, was added to the system, an additional change in the origin of consumed carbon was observed. Our results on stable isotope ratio show that *S. geminata* used the new primary resource pathway. This could be explained in two ways: either the diet of the predator changed, or the diet of the main prey of *S.*

geminata changed. Generalist predators are able to consume a large spectrum of prey and by definition are not specialized on pest prey (Begon *et al.*, 2005). Supplemental sampling was performed with a suction sampler (D-vac®, Rincon-Vitova Insectaries, Inc., Ventura, California, USA) to determine potential alternative prey supported by the cover crop at the Rivière Lézarde site. While several specimens belonging to various orders and families were identified, the most abundant specimens were leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae), which were present only in the cover crop treatment (*unpublished data*). Shifts in the resource pathway by generalist predators following an increase in alternative primary resources have been documented for different species (Duyck *et al.*, 2011a; Kuusk et Ekbohm, 2010; Messelink *et al.*, 2010; Wise *et al.*, 2006). Using isotope analyses, Duyck *et al.* (2011a) found that different generalist predators changed their trophic position when a cover crop was present in the banana agroecosystem. A diversity of food sources seems to be essential for generalist predators, which require some levels of diversity in food to obtain an optimal composition of nutrients (Kuusk et Ekbohm, 2010).

4.2. INCREASE IN ABUNDANCE OF SOLENOPSIS GEMINATA

We found that the abundance of *S. geminata* was always higher in banana plots with cover crops than in plots with bare soil, regardless of the site or trapping method. This is consistent with the concept that cover plants support the development of alternative prey. In the current study, we suspect that the main alternative prey was leafhoppers. In addition to acting as prey, leafhoppers also produce honeydew that may support the increase *S. geminata* abundance. Ant-hemipteran mutualistic interactions have been frequently documented (Styrsky et Eubanks, 2007). In these relationships, ants protect hemipteran species from natural enemies, such as predators or parasitoids, and collect hemipteran honeydew. Menke *et al.* (2010) showed that ant colonies with access to honeydew have lower $\delta^{15}\text{N}$ values than ant colonies without access to honeydew. In our system, we found no difference between $\delta^{15}\text{N}$ values of *S. geminata* in bare soil vs. cover crop plots. Additional research is required to confirm and understand the relationship between *S. geminata* and leafhoppers in banana plantations.

Although stable isotope analyses indicated that the effect of the cover crop on *S. geminata* abundance was based at least in part on trophic relationships, the cover crop could also have increased *S. geminata* abundance by buffering temperature and moisture on the soil surface (Hölldobler et Wilson, 1990), i.e., by providing a more stable and favourable habitat for *S. geminata* and its prey. The abiotic environment might also explain why *S. geminata* was more abundant at the Rivière Lézarde site than at the Leyritz farm site. The rainfall patterns of the two experimental sites were relatively similar, but the soil types were different, and soil type is likely to affect soil moisture levels. The site with the lower abundance of *S. geminata*, the Leyritz farm site, has an andosol with pumice, which drains quickly and may therefore expose ants to desiccation.

4.3. INCREASED PREDATION OF COSMOPOLITES SORDIDUS EGGS

Our estimations of egg predation relied on observations in natural situations corrected by results obtained in controls. The removal of eggs in controls may be explained by run-off, predation by large terrestrial predators that were not stopped by tree glue, or by flying predators promoted by the cover crop. Estimation of egg predation rates ranged from 7.8 to 70.3%, which occurred in plots with the lowest and highest *S. geminata* abundance values, respectively. This suggests a causal link between *S. geminata* abundance and the rate at which *C. sordidus* eggs were predated. The predation rate was very low in the plots where banana was intensively cropped and where herbicide was applied to remove weeds. In contrast, predation of banana weevil eggs by *S. geminata* may be very efficient when a cover crop is present. Although a trophic link between *S. geminata* and *C. sordidus* eggs should be confirmed with other methods, we did observe *S. geminata* removing many eggs from corms. Our results are consistent with other reports that ants can cause high levels of predation of pest eggs. For example, *S. geminata* also

removed eggs of two pod-sucking bugs of soybean (Vandenberg et al., 1995). Although well known as an invasiveness and dominant species, *S. geminata* is also recognized as an egg predator of *Diabrotica* spp. on several annual crops in Costa Rica (Risch, 1981) and of *Pseudoplusia includes* Walker on soybean in the United States (Nickerson et al., 1977). The characteristics that allow invasive ants to spread may be advantageous for biological control. Helms et al. (2011) suggest that success of invasive ants is greater when they form associations with honeydew-producing hemipterans whose populations could be supported by a cover crop. Invasive ants often have a strong relationship with honeydew-producing hemipterans, which can supply up to half of the colony's energy requirements (Grover et al., 2008; Helms et al., 2008). An association with honeydew-producing hemipterans could therefore help ensure that *S. geminata* is abundant when *C. sordidus* initially infests the banana plantation. The benefit that the ants acquire from plant-based carbohydrates in honeydew may increase their ability to forage for protein-rich food such as other arthropods, including arthropod pests in agriculture.

4.4. IMPORTANCE OF PRIMARY RESOURCES FOR BIOLOGICAL CONTROL BY NATURAL ENEMIES

In this study, we use a mechanistic approach, which combined stable isotope analyses and measurements of predator abundance and predation rates in the field, to study the increase of pest predation when a cover crop was added to an agroecosystem. The results suggest that *S. geminata* is an important predator of *C. sordidus* eggs in the banana plantations in Martinique. Although predation of the eggs by ants was not quantified, *S. geminata* was observed to carry away eggs that had been artificially deposited at the base of banana trees. Additional research is required to quantify predation of weevil eggs by *S. geminata* and other species. This study also indicates that adding a cover crop increases egg predation. We suspect that it increases egg predation by *S. geminata* by changing the ant's resource pathway and increasing both its abundance and predation rate. Apparent competition could be the underlying mechanism, with the cover crop supporting non-pest alternative prey and thus providing additional nutrients and enabling an increase in *S. geminata* numbers. The effects of non-pest alternative prey on numerical responses of a predator have been demonstrated for a lycosid spider in cereal and leys on organic farms (Kuusk et al., 2010). These authors tested whether the presence of *Collembola* spp. (an alternative food for lycosid spiders) affects aphid predation by these spiders. Their results indicated that *Collembola* spp. increase lycosid spider abundance while reducing lycosid spider predation on cereal aphids. In reviewing the effect of resource addition to agroecosystems on herbivore mortality from predation or parasitism, Russell (1989) showed that nine found that mortality rates were positively related with plant diversity, two found that mortality rates were negatively related with plant diversity, and two found no relationship. Determining the effect of the added resource on predator abundance appears to be important for understanding how plant diversity can enhance biological control by generalist predators. In a banana agroecosystem, fallowing between rotations, and planting a cover crop when the banana trees are planted may provide resource early in the crop cycle, and may thereby promote *S. geminata* establishment. When the pest infests the banana trees, the removal of the cover crop by mowing would suppress honeydew resource and leave high numbers of *S. geminata*, which would presumably attempt to compensate for the lost resource by increasing their predation on arthropods including the pest. Future research should consider the dynamics of *S. geminata* establishment in banana plantations with the goal of optimizing how cover crops are managed so as to maximize biological control.

Additional research is also needed to identify the alternative prey supported by different cover crops in the banana agroecosystem and to quantify predation according to predator species. By using PCR-based analysis of gut contents, researchers can identify diet composition and may be able to characterize the trophic relationships between species (King et al., 2008). Ultimately, this knowledge should help in the development of cropping systems in which pest abundance is reduced by the management of primary resources.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work is part of a Ph.D. thesis funded by the CIRAD. The authors thank Raphaël Achard, Jean-Claude Gertrude, Maurice Alier, and Roger Rieux for the management of the Rivière Lézarde site; Candice Deschamps for help with weevil trapping and rearing; the Leyritz farm for providing a suitable site for experimental trials; and Pr Wolfram Meier-Augenstein from The James Hutton Institute for technical assistance with stable isotope analyses. All of the authors declare that the experiments performed in this study comply with the current laws of France.

REFERENCES

- Abera-Kalibata, A. M., Gold, C. S. & Van Driesche, R. (2008) Experimental evaluation of the impacts of two ant species on banana weevil in Uganda. *Biological Control*, **46**, 147-157.
- Abera-Kalibata, A. M., Gold, C. S., Van Driesche, R. G. & Ragama, P. E. (2007) Composition, distribution, and relative abundance of ants in banana farming systems in Uganda. *Biological Control*, **40**, 168-178.
- Afun, J. V. K., Johnson, D. E. & Russell-Smith, A. (1999) The effects of weed residue management on pests, pest damage, predators and crop yield in upland rice in Cote d'Ivoire. *Biological Agriculture and Horticulture*, **17**, 47-58.
- Barberi, P., Burgio, G., Dinelli, G., Moonen, A. C., Otto, S., Vazzana, C. & Zanin, G. (2010) Functional biodiversity in the agricultural landscape: relationships between weeds and arthropod fauna. *Weed Research*, **50**, 388-401.
- Bates, D., Maechler, M. & Bolker, B. M. (2011) lme4: Linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.999375-39 ed.
- Begon, M., Townsend, C. R. & Harper, J. L. (2005) *Ecology: from individuals to ecosystems*, Oxford, UK.
- Bell, J. R., King, R. A., Bohan, D. A. & Symondson, W. O. C. (2010) Spatial co-occurrence networks predict the feeding histories of polyphagous arthropod predators at field scales. *Ecography*, **33**, 64-72.
- Bolker, B. M., Brooks, M. E., Clark, C. J., Geange, S. W., Poulsen, J. R., Stevens, M. H. H. & White, J.-S. S. (2009) Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, **24**, 127-135.
- Cardinale, B. J., Harvey, C. T., Gross, K. & Ives, A. R. (2003) Biodiversity and biocontrol: emergent impacts of a multi-enemy assemblage on pest suppression and crop yield in an agroecosystem. *Ecology Letters*, **6**, 857-865.
- Carter, P. E. & Rypstra, A. L. (1995) Top-down effects in soybean agroecosystems - spider density affects herbivore damage. *Oikos*, **72**, 433-439.
- Duyck, P.-F., Lavigne, A., Vinatier, F., Achard, R., Okolle, J. N. & Tixier, P. (2011) Addition of a new resource in agroecosystems: Do cover crops alter the trophic positions of generalist predators? *Basic and Applied Ecology*, **12**, 47-55.
- Elton, C. (1927) *Animal Ecology*, Chicago, IL, USA.
- Evans, E. W. & England, S. (1996) Indirect interactions in biological control of insects: Pests and natural enemies in alfalfa. *Ecological Applications*, **6**, 920-930.
- Gold, C. S., Pena, J. E. & Karamura, E. B. (2001) Biology and integrated pest management for the banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). *Integrated Pest Management Reviews*, **6**, 79-155.
- Grover, C. D., Dayton, K. C., Menke, S. B. & Holway, D. A. (2008) Effects of aphids on foliar foraging by Argentine ants and the resulting effects on other arthropods. *Ecological Entomology*, **33**, 101-106.
- Helms, K. R., Hayden, C. P. & Vinson, S. B. (2011) Plant-based food resources, trophic interactions among alien species, and the abundance of an invasive ant. *Biological Invasions*, **13**, 67-79.

- Helms, K. R. & Vinson, S. B. (2008) Plant resources and colony growth in an invasive ant: The importance of honeydew-producing Hemiptera in carbohydrate transfer across trophic levels. *Environmental Entomology*, **37**, 487-493.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. (1990) *The ants*, Cambridge, MA, Press of Harvard University Press.
- Holt, R. D. (1977) Apparent competition and the structure of prey communities. *Theoretical Population Biology*, **12**, 197-229.
- Holt, R. D. & Kotler, B. P. (1987) Short-term apparent competition. *American Naturalist*, **130**, 412-430.
- Jaramayan, S., Ndiege, I. O., Oehlschlager, A. C., Gonzales, L. M., Alpizar, D., Falles, M., Budenberg, W. J. & Ahuya, P. (1997) Synthesis, analysis, and field activity of sordidin, a male-produced aggregation pheromone of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*. *Journal of Chemical Ecology*, **23**, 1145-1161.
- King, R. A., Read, D. S., Traugott, M. & Symondson, W. O. C. (2008) Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. *Molecular Ecology*, **17**, 947-963.
- Koppenhofer, A. M. (1993a) Egg predators of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Col, Curculionidae) in western Kenya. *Journal of Applied Entomology*, **116**, 352-357.
- Koppenhofer, A. M. (1993b) Observations on egg-laying behavior of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **68**, 187-192.
- Koss, A. M. & Snyder, W. E. (2005) Alternative prey disrupt biocontrol by a guild of generalist predators. *Biological Control*, **32**, 243-251.
- Kuusk, A. K. & Ekblom, B. (2010) Lycosid spiders and alternative food: Feeding behavior and implications for biological control. *Biological Control*, **55**, 20-26.
- Mathews, C. R., Bottrell, D. G. & Brown, M. W. (2004) Habitat manipulation of the apple orchard floor to increase ground-dwelling predators and predation of *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Biological Control*, **30**, 265-273.
- Menke, S. B., Suarez, A. V., Tillberg, C. V., Chou, C. T. & Holway, D. A. (2010) Trophic ecology of the invasive argentine ant: spatio-temporal variation in resource assimilation and isotopic enrichment. *Oecologia*, **164**, 763-771.
- Messelink, G. J., Van Maanen, R., Van Holstein-Saj, R., Sabelis, M. W. & Janssen, A. (2010) Pest species diversity enhances control of spider mites and whiteflies by a generalist phytoseiid predator. *Biocontrol*, **55**, 387-398.
- Mooney, K. A. & Tillberg, C. V. (2005) Temporal and spatial variation to ant omnivory in pine forests. *Ecology*, **86**, 1225-1235.
- Nickerson, J. C., Kay, C. A. R., Buschman, L. L. & Whitcomb, W. H. (1977) The presence of *Spissistilus festinus* as a factor affecting egg predation by ants in soybeans. *Florida Entomologist*, **60**, 193-199.
- Oelbermann, K. & Scheu, S. (2002) Stable isotope enrichment ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) in a generalist predator (*Pardosa lugubris*, Araneae : Lycosidae): effects of prey quality. *Oecologia*, **130**, 337-344.
- Peterson, B. J. & Fry, B. (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 293-320.
- Polis, G. A. & Strong, D. R. (1996) Food web complexity and community dynamics. *American Naturalist*, **147**.

- Ponsard, S. & Ardit, R. (2000) What can stable isotopes ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) tell about the food web of soil macro-invertebrates? *Ecology*, **81**, 852-864.
- Post, D. M. (2002) Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. *Ecology*, **83**, 703-718.
- R Development Core Team (2009) R: a Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.
- Risch, S. J. (1981) Ants as important predators of rootworm eggs in the neotropics. *Journal of Economic Entomology*, **74**, 88-90.
- Rosenheim, J. A. (1998) Higher-order predators and the regulation of insect herbivore populations. *Annual Review of Entomology*, **43**, 421-447.
- Russell, E. P. (1989) Enemies hypothesis: a review of the effect of vegetational diversity on predatory insects and parasitoids. *Environmental Entomology*, **18**, 590-599.
- Scherber, C., Eisenhauer, N., Weisser, W. W., Schmid, B., Voigt, W., Fischer, M., Schulze, E. D., Roscher, C., Weigelt, A., Allan, E., Bessler, H., Bonkowski, M., Buchmann, N., Buscot, F., Clement, L. W., Ebeling, A., Engels, C., Halle, S., Kertscher, I., Klein, A. M., Koller, R., König, S., Kowalski, E., Kummer, V., Kuu, A., Lange, M., Lauterbach, D., Middelhoff, C., Migunova, V. D., Milcu, A., Müller, R., Partsch, S., Petermann, J. S., Renker, C., Rottstock, T., Sabais, A., Scheu, S., Schumacher, J., Temperton, V. M. & Tschardt, T. (2010) Bottom-up effects of plant diversity on multitrophic interactions in a biodiversity experiment. *Nature*, **468**, 553-556.
- Staddon, P. L. (2004) Carbon isotopes in functional soil ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **19**, 148-154.
- Styrsky, J. D. & Eubanks, M. D. (2007) Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **274**, 151-164.
- Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D. & Greenstone, M. H. (2002) Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review of Entomology*, **47**, 561-594.
- van Veen, F. J. F., Morris, R. J. & Godfray, H. C. J. (2006) Apparent competition, quantitative food webs, and the structure of phytophagous insect communities. *Annual Review of Entomology*, **51**, 187-208.
- Vandenberg, H., Bagus, A., Hassan, K., Muhammad, A. & Zega, S. (1995) Predation and parasitism on eggs of two pod-sucking bugs, *Nezara viridula* and *Pizodorus hybneri*, in soybean. *International Journal of Pest Management*, **41**, 134-142.
- Vanderklift, M. A. & Ponsard, S. (2003) Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: a meta-analysis. *Oecologia*, **136**, 169-182.
- Wise, D. H., Moldenhauer, D. M. & Halaj, J. (2006) Using stable isotopes to reveal shifts in prey consumption by generalist predators. *Ecological Applications*, **16**, 865-876.

Table 1. Effect of treatment (bare soil or cover crop) on $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, abundance in Pitfall traps, abundance in pseudostem traps and predation rate, analysed by generalised mixed-effect models. All models include two random effects: “sample identifier” and “site”. All models present three degrees of freedom and Δ df = 1. Distribution errors are indicated for each analysed variable. Δ AIC corresponds to the AIC value of the presented model minus AIC of the model without the treatment.

Variables	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Abundance in pitfall traps	Abundance in pseudostem traps	Predation rate
Distribution error	normal	normal	Poisson	Poisson	binomial
AIC	141.35	103.92	79.92	263.38	183.69
Δ AIC	-13.65	0.67	-14.12	-23.02	-9.27
Log-likelihood	-59.85	-48.30	-35.96	-127.69	-87.84
<i>P</i> value	< 0.0001	0.248	< 0.0001	< 0.0001	0.0007

Fig. 1. Abundance (mean \pm SE) of *S. geminata* in banana plots with bare soil or cover crops in two sites assessed by (a) pitfall traps and (b) pseudostem traps. Sample sizes (*n*) are annotated under bars. Statistics are in Table 1.

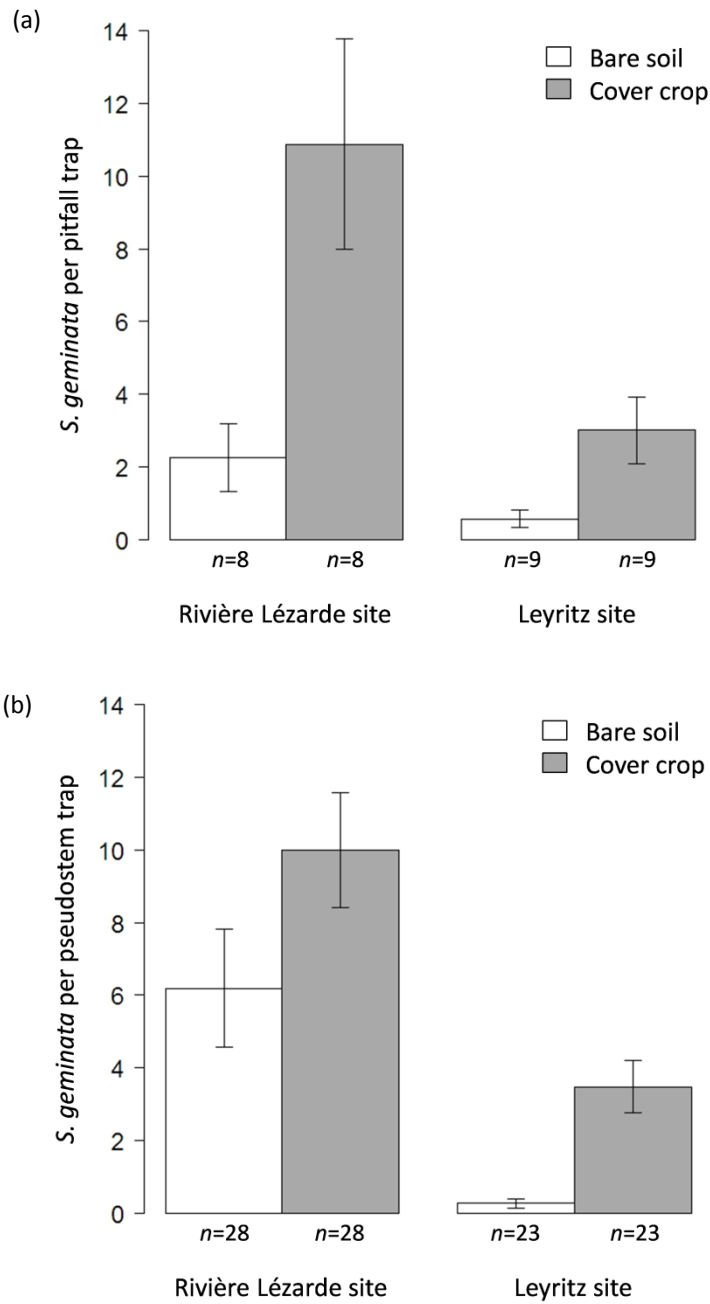
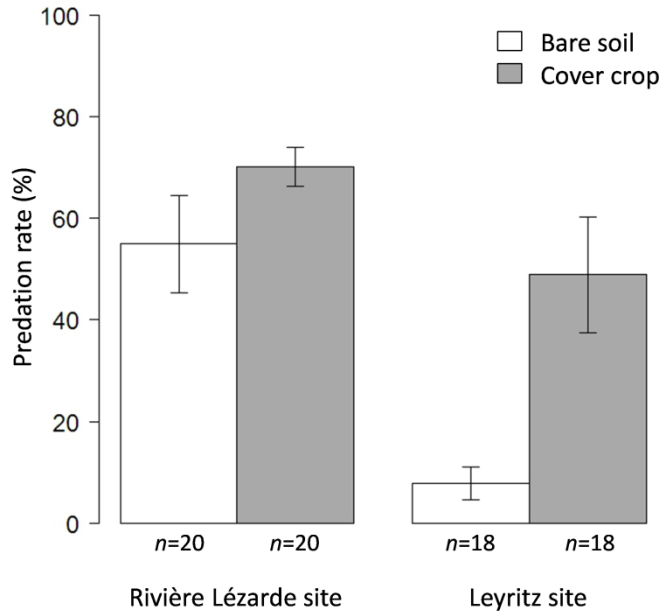


Fig. 2. Percentage (mean \pm SE) of weevil eggs removed from banana corms (predation rate) after one hour of exposure in plots with bare soil or cover crop at two sites (Rivière Lézarde and Leyritz farm). Sample sizes (n) are annotated under bars. Statistics are in Table 1.



CHAPITRE II - CARACTERISATION DU RESEAU TROPHIQUE D'UN AGROECOSYSTEME

L'un des enjeux majeurs concernant les réseaux trophiques est de caractériser l'ensemble des interactions trophiques d'un réseau souvent complexe. La difficulté est grande de pouvoir détecter, observer ou inférer la composition du régime alimentaire d'une espèce donnée, tant les variables impliquées sont diverses. Lors de l'étude d'un réseau multitrophique, ces difficultés sont d'autant plus importantes que le nombre d'espèces est important. L'observation directe ou la détection d'anticorps ou d'ADN sont des techniques qui permettent d'identifier une interaction trophique. La compilation de données par synthèse bibliographique, discutable à cause de la diversité des données sources, les mesures d'abondance, et les mesures de la teneur en isotopes stables, sont souvent utilisées pour inférer la topologie d'un réseau trophique. Aujourd'hui, les nouvelles méthodes de séquençage haut-débit offrent de nouvelles perspectives pour mesurer directement les interactions trophiques complexes.

Ce chapitre repose un article de recherche soumis à *PLoS One* et qui s'intitule **Metabarcoding on arthropods' guts : technical issues and the food web of banana agroecosystems**. L'objectif premier était d'évaluer la capacité du metabarcoding à ADN à décrire les interactions trophiques qui lient les plantes, les arthropodes herbivores et les arthropodes prédateurs. Le metabarcoding à ADN repose sur la grande quantité de séquences d'ADN générée par les séquenceurs de nouvelle génération (technologie 454), et sur l'utilisation du concept de codes-barres à ADN (DNA barcoding), qui permet d'assigner un nom d'espèce à une séquence. Cette approche, récente, a été utilisée avec succès pour décrire le régime alimentaire d'un consommateur donné, ou sur les réseaux bipartites (hôte-parasitoïde). Par contre, son efficacité pour caractériser un réseau trophique complexe, composé de plantes et d'arthropodes, reste à démontrer. La plus grande force de cette approche est de pouvoir traiter le réseau trophique dans son ensemble en peu de temps. En effet, les méthodes basées sur de mesures d'abondance sont très lourde à réaliser, et les approches qui consistent en une synthèse bibliographique sont discutables à cause de la diversité des données sources.

La première étape était de réaliser une librairie de référence qui contient les séquences des codes-barres à ADN de toutes les espèces du réseau. Un code-barres à ADN est une séquence de nucléotides qui varie en fonction des espèces ; elle est entourée par des sites de fixation des amorces qui eux sont conservés sur l'ensemble des espèces étudiées, et qui vont permettre de l'amplifier par PCR (Polymerase Chain Reaction). Par exemple, le code-barres à ADN le plus communément utilisé pour identifier les animaux est une séquence d'ADN génomique d'un gène mitochondrial qui code pour une enzyme de la chaîne respiratoire des électrons, il s'agit de la *cytochrome oxidase I* (ou CO1). Cette séquence est suffisamment différente entre les espèces pour pouvoir les discriminer, alors que les sites de fixation des amorces sont assez conservés pour pouvoir utiliser le même couple d'amorces sur tous les animaux. Au cours de cette thèse, nous avons réalisé des librairies de référence des séquences de CO1 et de trnL (gène chloroplastique, pour les plantes). Ces librairies nous ont permis d'identifier les séquences d'ADN (générées par séquençage haut-débit) qui ont été amplifiées par PCR depuis le contenu stomacal des arthropodes herbivores et prédateurs.

La deuxième étape a donc consisté à réaliser les échantillonnages des individus des différentes espèces, herbivores et prédateurs, dans la bananeraie afin de disséquer leur tube digestif, quand c'était possible. La plus grande difficulté a résidé dans la réalisation de ces échantillonnages et des étapes de biologie moléculaire pour éviter les contaminations croisées, qui aboutissent à des faux-positifs (**Figure 9**). Nous avons ensuite extrait l'ADN total des échantillons avec des kits commerciaux Qiagen : Plant mini

kit pour le contenu stomacal des herbivores, et DNeasy blood and tissue pour le contenu stomacal des prédateurs. Les extraits d'ADN ont été amplifiés par PCR avec des amorces taguées (7 nucléotides) à l'extrémité 5', ce qui a permis de retrouver l'origine des amplicons après le pooling équimolaire. Pour les échantillons issus du tube digestif des herbivores, nous avons choisi d'amplifier une portion du *trnL*, la boucle P6 qui fait 40 paires de bases (bp), la technologie 454 ne permettant pas de séquencer la totalité de la séquence du *trnL* (environ 700bp). Pour les échantillons issus des contenus stomacaux des prédateurs, nous avons choisis d'amplifier une portion de *CO1*, le mini-*CO1* qui fait 127bp. Pour limiter les biais au cours du pyroséquençage, les quantités d'amplicons ont été homogénéisées par une analyse de gels d'électrophorèse, purifiés, puis poolés avant d'être envoyés pour le pyroséquençage dans un laboratoire aux Etats-Unis (Beckman Coulter Genomics, Danvers, MA). Les échantillons d'herbivores et de prédateurs ont été traités séparément.

La dernière étape était d'assigner les séquences issues du pyroséquençage à un nom d'espèce à l'aide d'une analyse bio-informatique. Cette étape a été réalisée avec le logiciel SE|S|AM|E BARCODE (SEquence Sorter and AMplicon Explorer, version BARCODE) développé au CBGP à Montpellier. Le logiciel trie les séquences et les assigne à nom d'espèce contenu dans la librairie de référence. Nous avons donc obtenu la composition du régime alimentaire, à une échelle individuelle, d'environ un millier d'arthropodes échantillonnés sur le terrain. En calculant le nombre d'individus révélés positifs pour une ressource donnée, nous avons reconstitué le réseau trophique quantitatif des arthropodes de la bananeraie.

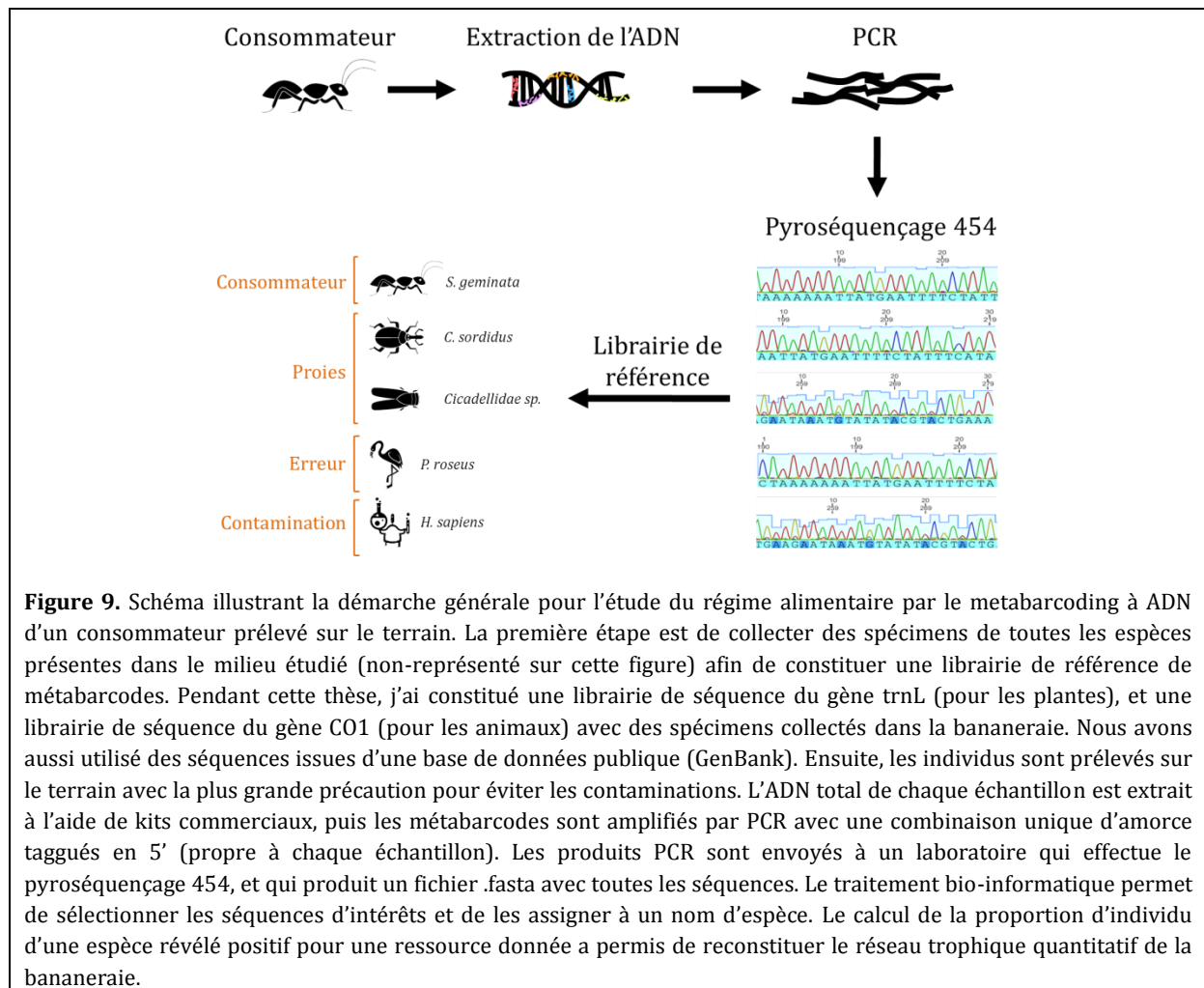


Figure 9. Schéma illustrant la démarche générale pour l'étude du régime alimentaire par le metabarcoding à ADN d'un consommateur prélevé sur le terrain. La première étape est de collecter des spécimens de toutes les espèces présentes dans le milieu étudié (non-représenté sur cette figure) afin de constituer une librairie de référence de metabarcodes. Pendant cette thèse, j'ai constitué une librairie de séquence du gène *trnL* (pour les plantes), et une librairie de séquence du gène *CO1* (pour les animaux) avec des spécimens collectés dans la bananeraie. Nous avons aussi utilisé des séquences issues d'une base de données publique (GenBank). Ensuite, les individus sont prélevés sur le terrain avec la plus grande précaution pour éviter les contaminations. L'ADN total de chaque échantillon est extrait à l'aide de kits commerciaux, puis les metabarcodes sont amplifiés par PCR avec une combinaison unique d'amorce tagués en 5' (propre à chaque échantillon). Les produits PCR sont envoyés à un laboratoire qui effectue le pyroséquençage 454, et qui produit un fichier .fasta avec toutes les séquences. Le traitement bio-informatique permet de sélectionner les séquences d'intérêts et de les assigner à un nom d'espèce. Le calcul de la proportion d'individu d'une espèce révélé positif pour une ressource donnée a permis de reconstituer le réseau trophique quantitatif de la bananeraie.

Metabarcoding on arthropods' guts: technical issues and the food web of banana agroecosystems

MOLLOT G.¹, DUYCK P.-F.¹, CANARD, E.¹, LESCOURRET F.², MARTIN J.-F.³, PIRY S.⁴ and TIXIER P.¹

1 CIRAD, UR 26 Systèmes de culture à base de bananiers, plantains et ananas, PRAM CIRAD Petit Morne, BP 214, 97285 Le Lamentin cedex 2, Martinique, FWI.

2 INRA, UR-1115 Plantes et Systèmes de culture Horticoles, Domaine St. Paul, Site Agroparc, F-84914 Avignon Cedex 9, France.

3 Montpellier-SupAgro, UMR CBGP, F-34988 Montferrier-sur-Lez, France

4 INRA, UMR1062 CBGP, F-34988 Montferrier-sur-Lez, France

Corresponding author:

Grégory MOLLOT

PRAM CIRAD Petit Morne, BP 214, 97285 Le Lamentin cedex 2, Martinique, FWI

Tel : +596 596 423 046

Fax : +596 596 423 001

E-mail: gregory.mollot@cirad.fr

ABSTRACT

Although an understanding of food web structure and function is required to improve ecological services in agroecosystems, food web research has suffered from a lack of efficient and comprehensive methods to measure trophic links. In a banana agroecosystem in Martinique, we determined trophic links by combining pyrosequencing with the barcoding of plant DNA (trnL chloroplast gene) and animal DNA (mini-CO1 mitochondrial gene) detected from the gut contents of arthropods. We deduced 753 consumption links at the individual scale, corresponding to 33 taxa (n=928 individuals sampled) and 98 trophic links. The blind exploration of trophic links with DNA metabarcoding enabled the detection of several consumed taxa at the same time, including taxa that were not identified by sampling. Interestingly, the results indicate the dominance of weak interactions (the frequency of consumption was < 5% for one-third). The quantitative description of our food web revealed that the consumption of scarce plants can be essential to reinforce generalist predators' guild by favouring alternative herbivores in the field. The DNA metabarcoding approach enables the identification of two predators species (*Euborellia caribea* and *Camponotus sexguttatus*) involved in the top-down regulation of herbivores including a primary pest of bananas. Advantages and limitations of pyrosequencing and DNA barcoding are discussed.

Keywords: diet assessment, environmental DNA barcoding, next generation sequencing, tropical agroecosystem, herbivory, predation

1. INTRODUCTION

1.1. ECOSYSTEMS SERVICES

Declining biodiversity can alter ecosystem functioning and performance (Hooper *et al.*, 2005) and thereby greatly affects human well-being (Díaz *et al.*, 2006). Many ecosystems are being increasingly manipulated for agricultural purposes (Tilman *et al.*, 2002), while their functions (e.g., primary production, biodiversity conservation, or water storage) and properties (e.g., stability resulting from resistance to perturbation or recovery after perturbation) (Cardinale *et al.*, 2006) need to be maintained for social and ecological sustainability. Agriculture faces various challenges today: providing more food and energy while adapting to climate change and mitigating environmental impacts. One of the most promising approaches to meet these challenges is to design new agroecosystems based on the management of ecological processes rather than on application of fertilizers and pesticides (Tilman *et al.*, 2002). For instance, the regulation of crop pests through top-down and bottom-up effects remains a potential alternative to improve ecologically agroecosystems compatible with production constraints (Letourneau *et al.*, 2011). However, a precise knowledge on trophic interactions that links crop pest with primary producers and potential predators is needed to implement effects of these regulations on the entire food web functioning.

1.2. HOW FOOD WEBS ARE STUDIED

In spite of the substantial research conducted in the last decade, food web ecology suffers from a lack of efficient and comprehensive methods to measure multitrophic interactions with accuracy and to thereby develop suitable strategies for biodiversity conservation and ecosystem management. To date, empirical food webs have been inferred by abundance measurements of consumers and resources (Blanchard *et al.*, 2009; Cohen *et al.*, 2003; Jennings et Mackinson, 2003; Jonsson *et al.*, 2005; van Veen *et al.*, 2008), stable isotope analyses (Cabana et Rasmussen, 1996; Fry, 1988; Peterson *et al.*, 1985; Ponsard et Ardit, 2000; Post, 2002; Vander Zanden et Rasmussen, 1999b; Vander Zanden et Rasmussen, 2001), and protein electrophoretic approaches (Harwood *et al.*, 2007). These methods have been used with success for some food webs, but omit theoretically important components affecting food web structure and function, such as weak interactions that can have major stabilizing effects (Berlow, 1999; Berlow *et al.*, 2004; Emmerson et Yearsley, 2004; McCann *et al.*, 1998). Recently, the DNA metabarcoding approach might provide other interesting improvements, such as the possibility to detect trophic links that were not expected (Pompanon *et al.*, 2012), and thereby leads to a greater description of food web structure.

Food web structure is usually examined with statistical metrics that measure the topological properties of the network (Banasek-Richter *et al.*, 2009; Bersier *et al.*, 2002). The simplest ones describe the number of species (S), the number of links (L), the linkage density ($LD=L/S$), and the connectance ($C=L/S^2$). These metrics have been extensively used to describe the degree of connectivity among species in food webs (Scotti *et al.*, 2009). Other metrics have been designed to determine the characteristics of species in food webs, such as generality (G), which indicates the diversity of resources for a species, and vulnerability (V), which indicates the diversity of consumers of a species (Schoener, 1989). The nature of the data set, i.e., binary or quantitative, changes the accuracy at which the topology of the food web is studied. An interesting quantitative metric is the evenness of interaction (EI) in the food web, which assesses the homogeneity of the occurrence of interactions between species and may thereby reveal a skew in the distribution of interactions.

1.3. METHODOLOGICAL ASPECTS

The theory of food web topology has made exceptional progress in recent decades (Cohen *et al.*, 2003; May et MacArthur, 1972; Paine, 1980; Pimm, 1978; Williams et Martinez, 2008), and ecologists must now acquire the quantitative data that will test and advance the theory. Although recent molecular

approaches, like multiplex-PCR, have enabled identification of specific resources in gut contents and faeces of a wide range of animals (King *et al.*, 2008), these methods are limited to the study of specific resources and consumers and fail to detect unexpected resources (Harper *et al.*, 2005). Recently, Next Generation Sequencing (NGS) technology have been used to examine the specific composition of the diet of a given consumer and to describe two-level food webs (for a review, see Pompanon *et al.*, 2012), but the efficiency of these methods for unravelling multitrophic interactions remains unexplored. The development of DNA metabarcoding now enables researchers to measure trophic links without *a priori* knowledge of the consumed species, to determine the diet of each individual (Pompanon *et al.*, 2012), and to simultaneously screen several trophic levels. Here, we combined the large number of DNA sequences generated by 454 pyrosequencing with the DNA barcoding to identify taxa (most often to species level) in the gut contents of consumers and to thereby generate a quantitative description of food webs.

1.4. THE BANANA AGROECOSYSTEM

In most tropical areas, including Martinique, banana is cropped as a semi-perennial herbaceous plant, and although intensive monoculture currently prevails, there is a strong demand for new cropping systems that reduce fertilizer and pesticide inputs (Blazy *et al.*, 2010). Tropical conditions dampen the variability of abiotic factors compared to temperate zone, and a banana tree produces several bunches throughout the cropping period (up to more than 10 years): favourable abiotic conditions and the steady supply of food enables arthropod communities to establish and reach equilibrium in the system. One such herbivore, the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* Germar, can cause severe damage (Gold *et al.*, 2001). Trophic interactions between plants and arthropods are poorly understood in banana agroecosystems. Few studies report potential predators from the native zone of the banana weevil (Abera-Kalibata *et al.*, 2006), whereas interactions between others species of plants and arthropods are largely unknown. Spontaneous weeds in banana fields are currently removed by herbicide applications to facilitating the work of farmers, and are generally low-abundant. The potential benefits of these alternative resources to support a complex arthropods community, including a reinforcement of generalist predators' guild, have not been considered for the biological control of *C. sordidus*. However, the elucidation of the food web by considering the contribution of scarce plants seems to be a key to understanding how pest herbivores can be regulated by generalist predators (Abera-Kalibata *et al.*, 2006; Duyck *et al.*, 2011a; Mollot *et al.*, 2012b).

1.5. DESCRIPTION OF THE STUDY

In this study, we use the DNA metabarcoding approach to determine the multitrophic interactions between plants and arthropods in a banana agroecosystem in Martinique. We also characterize the food web structure by computing the following qualitative and quantitative metrics: linkage density, connectance, generality, vulnerability, and evenness of interactions. We discuss the ecological implications (including pest regulation) arising from the analyses of the quantitative food web and related metrics. Finally, we consider the advantages and limitations of using DNA metabarcoding to unravel multitrophic arthropod food webs.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. ETHICS STATEMENT

All of the authors declare that the experiments performed in the present study comply with the current laws of France. No specific permits were required for the described field study that involved sampling of invertebrates and plant species. No specific permits were required to perform the described study in this location, which is an experimental farm owning to the CIRAD. All of the authors confirm that

the location is not privately-owned or protected in any way, and that the field studies did not involve endangered or protected species.

2.2. OVERVIEW OF THE PROCEDURE

The procedure was designed to assess the diet of arthropods in a food web. The first step was to build references databases of DNA barcodes for species of plants (based on the trnL gene, as described later) and arthropods (based on the CO1 gene, as described later) of our system. Then, herbivores and predators were sampled daily for 6 months with different sampling methods to screen a large spectrum of the biodiversity found in two adjacent experimental plots of a total of 668 m². The conditions of these plots were representative of production situations occurring in Martinique and of most banana fields cropped for export worldwide. The sampled arthropods were dissected to recover gut contents if arthropods were ≥ 5 mm long; if arthropods were < 5 mm long, the whole body was used. Plant and animal DNA were extracted from gut contents or whole bodies with commercial kits. Each DNA extract was then PCR amplified with a unique combination of tags added to the 5' end of the primers, allowing a bioinformatics assignment of sequences to respective samples after pooling. The concentrations of amplicons were homogenized according to four classes of signal intensity resulting from agarose gel electrophoresis (null, low, medium, and strong); then they were pooled and purified. Bioinformatic processing of raw sequences led to an assignment of barcodes to the reference database, which is a library of DNA barcoding sequences built with taxa found in the plots. The number of resource sequences in the gut contents was not linearly related to the quantity of resource consumed (see *Relationship between quantity of resource consumed and number of sequences detected* in the Materials and Methods). We therefore converted the number of sequences found in a given individual into a binary data set with presence/absence of a given resource (minimum 3 sequences). Trophic links were quantified by measuring the number of individuals tested for the presence of a given resource among the population.

2.3. FIELD SAMPLING

Sampling was conducted in Martinique (French West Indies) between January and June 2011. Specimens were collected from an experimental farm in Rivière Lézarde (14°39'45.04"N; 60°59'59.08"W) in two adjacent plots of 300 m² and 368 m², respectively. The size of the plots was chosen to maximize the ratio between sampling time costs and the significance of the trial. Both plots were in the sixth year of banana production, and several spontaneous weeds could be found between the crops (see Table S1 to plant taxa sampled). The sampling was designed to capture a maximum of the biodiversity found in banana agroecosystems. We sampled the crop and the cover crop (2 species), spontaneous weeds (8 taxa), and we analysed the diet of herbivores (9 taxa) and predators (8 taxa) found in our plots (see Table S2 for samples sizes). The risk of DNA cross-contamination was reduced by using PCR-clean tubes and devices when processing plants and arthropods samples. The recovery of DNA from the gut content of arthropods was optimized by placing samples in a portable cooler in the field. Plant specimens for the construction of the bank of sequences were collected with a clean scalpel and were individually placed in a sterile plastic bag. Soil-surface arthropods were collected with dry pitfall traps and pseudostem traps (one-half of a section of fresh banana pseudostem, 50 cm long), which were distributed at 4-m intervals over the plots. Flying arthropods were collected with a suction sampler (D-vac®, Rincon-Vitova Insectaries, Inc., Ventura, California, USA). We also directly collected specimens with clean forceps to obtain arthropods that were not trapped by pitfall traps, pseudostem traps, or vacuum sampling. Specimens were immediately placed in separate tubes in 96% ethanol; the tubes were temporarily kept in a portable cooler until they were transported to the laboratory and stored at -20°.

2.4. CONSTRUCTION OF THE *trnL* BANK OF SEQUENCES

Herbivory was studied by targeting the chloroplastic *trnL* (UAA) intron, which has been often used for phylogenetic study of closely related plant species or for plant identification (Taberlet *et al.*, 2007). We used the long fragment of the *trnL* intron (575 bp for *Musa* spp.) for the construction of the bank of *trnL* sequences and for rapid identification of plant family. The long fragment of the *trnL* intron was amplified with primers *c* and *d* from Taberlet *et al.* (1991). For the construction of the *trnL* sequence bank, two to four frozen specimens of each plant species were lyophilized for 48 h, ground into a fine powder, and stored at -20°C before DNA extraction. Total plant DNA was extracted with the DNeasy Mini Plant kit (Qiagen, Germany), following the manufacturer's protocol. Amplification was performed in a 20- μ l volume containing 0.5 U of HotStarTaq plus DNA polymerase (Qiagen), 3 mM MgCl₂, 400 μ M of each dNTP, 10 μ M of each primer, and 8 μ l of plant DNA extract. The long fragment of the *trnL* intron was amplified with an activation step of 5 min at 95°C for the enzyme (Qiagen); five cycles of 30 s at 95°C, 30 s at 50°C, and 2 min at 72°C; 30 cycles of 30 s at 95°C, 30 s at 55°C, and 2 min at 72°C; and a final extension of 5 min at 72°C. The long fragment of the *trnL* marker was sequenced on both strands and for each species with ABI3730XL (Applied Biosystems) using the MacroGen capillary sequencing service (Seoul, South Korea). Sequences were assembled and aligned with Geneious Pro 5.5.3 (Biomatters, New Zealand) from which the short sequences of the *trnL* P6 loop (40 bp) were extracted. We deposited nine new sequences of *trnL* corresponding to plant family barcodes in GenBank (**Table S1**).

2.5. CONSTRUCTION OF THE MINI-CO1 BANK OF SEQUENCES

Predation was studied by targeting the mitochondrial *cytochrome c oxidase I* (COI) gene, which is currently used for species-level identification of animals (Hebert *et al.*, 2003). Legs of two to four frozen specimens of each arthropod species were used for the construction of the COI sequence bank. We used the long fragment of COI (669 bp for *C. sordidus*) for the construction of the bank of COI sequences and for the rapid identification of arthropod taxa. The long fragment of COI was amplified with universal primers LCO1490 and HCO2198 from Folmer (1994). Total arthropod DNA was extracted with the DNeasy Blood and Tissue kit (Qiagen, Germany) following the manufacturer's protocol. Amplification was performed in 20- μ l volume containing 0.5 U of HotStarTaq plus DNA polymerase (Qiagen), 3 mM MgCl₂, 400 μ M of each dNTP, 10 μ M of each primer, and 8 μ l of arthropod DNA extract. The long fragment of COI was amplified with an activation step of 5 min at 95°C for the enzyme (Qiagen); 5 cycles of 1 min at 95°C, 1 min at 45°C, and 1.5 min at 72°C; followed by 30 cycles of 1 min at 95°C, 1 min at 48°C, and 1.5 min at 72°C; and a final extension of 5 min at 72°C. The long fragment of the COI marker was sequenced on both strands and for each species with the ABI3730XL analyser (Applied Biosystems) using the MacroGen capillary sequencing service (Seoul, South Korea). Sequences were assembled and aligned with Geneious Pro 5.5.3 (Biomatters, New Zealand) from which the sequences of the mini-CO1 marker were extracted. We deposited 15 new sequences of COI in GenBank, which include the sequences of two new species recorded in GenBank (**Table S1**).

2.6. PREPARATION OF THE *trnL* SAMPLES FOR 454 PYROSEQUENCING

Herbivorous arthropods were dissected to recover gut contents. We used a shortened fragment of the *trnL* intron (47 bp for *Musa* spp.), the P6 loop, to highlight the diet of herbivorous arthropods. The P6 loop was amplified with primers *g* and *h* from Taberlet (2007). Total plant DNA was extracted with the DNeasy Mini Plant kit (Qiagen, Germany), following the manufacturer's protocol. Amplification was performed in a 20- μ l volume containing 0.5 U of HotStarTaq plus DNA polymerase (Qiagen), 3 mM MgCl₂, 400 μ M of each dNTP, 10 μ M of each primer, and 8 μ l of plant DNA extract. The P6 loop was amplified with an activation step of 5 min at 95°C for the enzyme (Qiagen); 35 cycles of 30 s at 95°C, 30 s at 59°C, and 2 min at 72°C; and a final extension of 5 min at 72°C.

2.7. PREPARATION OF THE MINI-CO1 SAMPLES FOR 454 PYROSEQUENCING

Predaceous arthropods were dissected to recover gut contents. We used a shortened fragment of COI, the mini-COI fragment (127 bp), to highlight the diet of predaceous arthropods. The mini-COI was amplified with primers Uni-MinibarF1 and Uni-MinibarR1 from Meusnier (2008). Total arthropod DNA was extracted with the DNeasy Blood and Tissue kit (Qiagen, Germany) following the manufacturer's protocol. Amplification was performed in 20- μ l volume containing 0.5 U of HotStarTaq plus DNA polymerase (Qiagen), 3 mM MgCl₂, 400 μ M of each dNTP, 10 μ M of each primer, and 8 μ l of arthropod DNA extract. The mini-COI fragment was amplified with an activation step of 5 min at 95°C for the enzyme (Qiagen); five cycles of 60 s at 95°C, 60 s at 46°C, and 30 s at 72°C; 35 cycles of 60 s at 95°C, 60 s at 53°C, and 30 s at 72°C; and a final extension of 5 min at 72°C. PCR products from gut contents of predaceous arthropods were pooled and purified from agarose gels using the QIAquick Gel Purification kit (Qiagen) following the manufacturer's protocol.

2.8. 454 PYROSEQUENCING OF PCR PRODUCTS FROM GUT CONTENTS

Each sample was amplified with its respective pair of primers that had a specific tag (seven nucleotides) on the 5' end, allowing an assignment of each sequence to its respective sample with an exact blast on the tag sequence. Sequences of tags differed in at least three nucleotides, which reduced the risk of incorrect assignment of sequences to sample ID in case of a sequencing error in the tag. According to Claesson *et al.* (2010) 454 pyrosequencing errors in the 200 first base pairs of the 16S rRNA occur with a rate ranging between 0.3% and 0.4%. Thus three errors among the 7 bp of one given tag should occur with a probability ranging between 5.67×10^{-6} and 13.44×10^{-6} . PCR products from gut contents of arthropods were pyrosequenced using the 454 GS FLX Titanium platform (Roche, Basel, Switzerland) of Beckman Coulter Genomics (Danvers, MA, USA).

2.9. BIOINFORMATIC PROCESSING OF RAW SEQUENCES OBTAINED WITH 454 PYROSEQUENCING

Pyrosequencing outputs were analysed with |SE|S|AM|E| BARCODE, an original software especially designed to process the large amount of DNA sequences generated by pyrosequencing (Megléczy *et al.*, 2010; Piry *et al.*, 2012). The software loads a table in which the sequence of each tag is recorded for each sample and the FASTA file provided by the pyrosequencing. Sequences of interest are recovered by the blast of each raw sequence to a consensus sequence of the marker (threshold E-value = 1×10^{-2} , which is low to recover a maximum of sequences), which was obtained by the alignment of all sequences in the sequence bank. In this way, chimerical sequences derived from the fusion of pieces of degraded sequences were removed. Marker-assigned sequences were blasted with an exact match of the seven nucleotide tag to recover the sample ID. Sequences were aligned and trimmed on the marker. For trnL analysis and for mini-COI analysis, sequences with fewer than 25 nucleotides and 100 nucleotides (without primers), respectively, were removed.

2.10. RESOURCE IDENTIFICATION VIA DNA BARCODING AND TAXONOMIC RESOLUTION

For trnL, sequences retained by bioinformatics were blasted against assigned taxa from the local bank of sequences. The blast of trnL sequences against all the trnL sequences available on GenBank failed to recover additional plant taxa, likely because of the low efficiency of the BLAST algorithm to process short sequences (~40 bp). For the mini-COI, we first blasted all of our sequences against GenBank to identify taxa that were not included in our local bank of sequences. Second, we included the barcoding sequences of species obtained from GenBank (thus missed from sampling) into our local bank of sequences and we therefore made the "ad-hoc" bank of sequences. And third, we blasted all of our sequences against this "ad-hoc" bank of sequences for taxa assignment. The trnL and mini-COI barcodes

were assigned to taxa with a 90% similarity threshold and a minimum of three sequences per taxon. The 90% similarity threshold was chosen in order to recover informative assignments, even for genus and family rank, whereas a 95% similarity threshold was more precise but excluded genus and family assignments.

2.11. RELATIONSHIP BETWEEN QUANTITY OF RESOURCE CONSUMED AND NUMBER OF SEQUENCES DETECTED

The following experiments indicated a lack of linear relationship between the quantity of resource consumed and the number of sequences detected, and hence, the need to convert the number of sequences detected into a binary qualitative data set. We created positive control samples with one, two, and three eggs of *C. sordidus* to assess the relationship between the quantity of biological material and the number of DNA sequences recovered. We found a non-proportional increase in the number of *C. sordidus* DNA sequences recovered with the increase in the number of eggs extracted (**Table 1**). We then checked the recovery of DNA of *C. sordidus* eggs when *Euborellia caraibea* (the Caribbean earwig) and *Odontomachus bauri* (the trap-jaw ant) were fed with one *C. sordidus* egg in the laboratory. First, individuals of these two predator species (trapped in the field) were placed in a 2-ml sterile tube without food for 48 h at 25°C. Second, some individuals were kept without food for an additional 72 h (for a total of 120 h) whereas others were fed one *C. sordidus* egg. DNA was extracted after 24 h of exposure (all eggs were consumed). Additional predators that were not fed during 96 h were combined with one *C. sordidus* egg immediately before DNA extraction. For the trial with *E. caraibea*, we recovered a large number of *E. caraibea* DNA sequences and some DNA sequences of *C. sordidus* (**Table 1**). For the trial with *O. bauri*, we recovered no DNA sequences of *O. bauri*, some sequences of *E. caraibea*, and only a few DNA sequences of *C. sordidus* only when the predator had not consumed a *C. sordidus* egg in the laboratory and had been combined with a *C. sordidus* egg before DNA extraction (**Table 1**).

In additional tests with positive controls, we determined the recovery of *C. sordidus* egg DNA when DNA extracts of *Solenopsis geminata* and DNA extracts of eggs were mixed together before (pre-PCR test) and after (post-PCR) the PCR processing (**Table S2**). In each test, there were three ratios (v:v) of *S. geminata* DNA to *C. sordidus* egg DNA: 90:10, 80:20, and 50:50. With either pre-PCR or post-PCR processing, the number of *C. sordidus* DNA sequences was unrelated to the ratio of *C. sordidus* DNA in the sample. In addition, no *S. geminata* DNA was detected. The failure to detect *O. bauri* DNA in the previous test and the failure to detect no *S. geminata* DNA in these two tests suggests that, in our trials, the method failed to pyrosequence hymenopteran DNA barcodes (see Discussion). In these tests, we also recovered DNA sequences from *E. caraibea*, suggesting they were consumed by *S. geminata* (**Table 1**).

We also tested 10 negative controls filled with water instead of DNA extract for the trnL and five for mini-CO1. Two contaminating sequences were recovered from two of our five negative controls for mini-CO1 (see Discussion). No human DNA sequence was pyrosequenced in this study, indicating the absence of contamination by human DNA.

2.12. CONSTRUCTION OF THE QUANTITATIVE FOOD WEB

Although the number of sequences found for each resource was determined for each consumer sample, this quantitative information cannot be processed directly as indicated in the previous section and by Pompanon *et al.* (2012). The number of sequences found for a given resource was converted into binary information (presence/absence), and the trophic links were quantified by measuring the number of individual consumers that were positive for each resource.

2.13. FOOD-WEB METRICS

Based on the presence/absence of the interaction between pairs of species, we computed the following binary metrics:

- linkage density (LD), the average number of links per species (Cohen *et al.*, 1990);
- connectance (C), the number of links normalized by the square of the number of species ($C=L/S^2$) (Pimm, 1984);
- generality (G), the mean number of resource species per consumer (Memmott *et al.*, 2000);
- vulnerability (V), the mean number of consumer species per resource (Williams et Martinez, 2000).

We also computed their quantitative equivalents, LDq , Cq , Gq , and Vq (Bersier *et al.*, 2002), which are based on the calculation of a Shannon diversity index instead of the number of interactions (Shannon, 1948). In addition, we computed the quantitative evenness of interactions (EIQ), which measures the homogeneity of the distribution of the interactions. All of these metrics were computed with R 2.15.0 (R Development Core Team, 2012).

3. RESULTS

3.1. PROCESSING RAW SEQUENCES

Pyrosequencing resulted in 36,639 sequences (13.95% of the total) that were assigned to the chloroplastic trnL P6 loop (indicating herbivory) and 72,709 sequences (41.04% of the total) that were assigned to mitochondrial mini-CO1 markers (indicating predation) (**Table S2**). As shown by Soininen *et al.* (2009), the resolution of trnL approach depends greatly on the study system. Considering plant taxa found in banana agroecosystems, the trnL barcode enable an assignment to the family level for 6 taxa, and to the species level for *Musa AAA cv. Cavendish* (the crop), *Brachiaria decumbens*, *Momordica charantia* and *Ipomoea tiliacae*. A total of 34 distinct and ranked taxa were assigned to the mini-CO1 marker (animals and micro-organisms); 60.5% were assigned to the species rank, 13.9% to genus, 13.9% to family, and 11.6% to higher taxonomic ranks. Among the 34 taxa assigned, 9 were identified from the BLAST against our local library and 25 from the subset of CO1 recorded in GenBank (**Figure 1; Tables S3 and S4**). The CO1 barcodes enable identification of micro-organisms associated with sampled arthropods including acanthamoeba, chlorophyta, diatoma, rotifera, acariformes, fungi, oomycetes, and nematoda. These microorganisms would include consumed prey and also endo- and exo-parasites.

3.2. TOPOLOGY AND METRICS OF THE FOOD WEB

We succeeded to 98 trophic links among 33 taxa in the food web (**Figure 2, Tables S7**) with 10.27% and 10.33% of assigned sequences (**Tables S5 and S6**) for herbivory and predation links, respectively. The number of taxa in the food web was obtained by excluding micro-organisms, and including taxa identified by sampling even if they were not retrieved from the DNA metabarcoding. Among the 928 arthropods specimens sampled; we measured 753 consumption links at the individual scale. Considering the strength of interactions, the analysis of the quantitative matrix of interactions (**Figure 3**) indicated that 34.02% and 49.48% of the total number of trophic interactions had frequencies of consumption < 5% and < 10%, respectively. Only 2.06% and 1.03% of the total number of trophic interactions had frequencies of consumption > 50% and > 75%, respectively.

Qualitative analysis showed that the 98 links detected represented 9% of the possible links (connectance = 0.090). Species were connected by an average of almost three interactions (LD = 2.970), and consumers had more interactions than resources (i.e., generality was higher than the vulnerability). In addition, quantitative analysis indicated a heterogeneous distribution of interaction strengths (evenness = 0.901; see **Table 2** for all qualitative and quantitative food web metrics).

4. DISCUSSION

4.1. TOPOLOGY OF THE FOOD WEB

We have provided the first representation of the complex structure of an arthropod food web in a tropical agroecosystem (**Figure 2**). The diversity of arthropods species found in our agroecosystem is concordant with Duyck *et al.* (2011b). Our results also provide new information about the general architecture of arthropod networks, especially on the occurrence of weak interactions, which are often under-considered by other approaches. The blind exploration of trophic links by DNA metabarcoding enabled the detection of consumed taxa that were not identified by our sampling methods. The identification of trophic links without *a priori* knowledge of the consumed species is rarely possible with others approaches, particularly in the case of organisms as small as arthropods.

Qualitative metrics of our food web were similar to the ones generally observed in other food webs (Gravel *et al.*, 2011). Although our methods detected weak interactions, the connectance was not higher than that commonly reported for food webs (Williams et Martinez, 2008). The quantitative description of our food web revealed that the frequency of consumption of a particular plant species was independent of that plant's relative abundance in the field. For instance, spontaneous weeds (e.g., *Cucurbitaceae* sp.) had a low biomass but were frequently consumed by herbivores like *Cicadellidae* sp. (83.3% of sampled individuals were positive) and *Alegoria castelnaui* (61.9%). Diet assessment of herbivores revealed a high degree of generalism (6.3 links per herbivore in average). This is in line with previous studies that showed tropical herbivores sharing one-third of their food sources (Novotny *et al.*, 2002). We found a high degree of intraguild predation at the higher trophic level; intraguild predation represented approximately 50% of the all predation links detected.

We also detected interactions between taxa that were unexpected according to current knowledge. Interestingly, we identified Caribbean earwigs (*Euborellia caraibea*) and the carpenter ant (*Camponotus sexguttatus*) as important species of predators. These two species consumed *C. sordidus* (an important pest of banana plants). DNA metabarcoding also showed that, although worker ants are assumed to feed mainly on plants and hemipteran exudates (Fontaine *et al.*, 2009), worker ants (*Camponotus sexguttatus*, *Solenopsis geminata*, *Wasmannia auropunctata*, and *Odontomachus bauri*) also consume flies (*Drosophila* sp., *Tachinidae* sp.). Worker ants forage and carry protein-rich food into the colony to feed larvae but they evidently consume such food more commonly than previously thought. For agricultural applications, our results suggest that scarce plants, such as spontaneous weeds, can be greatly consumed and therefore support an increased biodiversity of herbivorous arthropods. Consequently, the generalist predators' guild is more diverse than banana fields where spontaneous weeds are periodically removed. Furthermore, a precise knowledge of the trophic interactions occurring between predators (intraguild predation) enables a better assessment of interferences that can disturb predators involved in herbivores pest regulation.

Our results illustrate the high frequency of weak interactions in food webs in that one-third of the total number of interactions had frequencies of consumption < 5% (and one-half were < 10%). The prevalence of weak interactions is usually considered to be stabilizing (McCann *et al.*, 1998). We also found that strong interactions (> 50% of consumption of one taxon) were rare (about 2% of total

interactions); this is consistent with the theory that most food webs have a low occurrence of strong interactions because strong interactions tend to destabilize (Paine, 1992).

4.2. DNA CONTAMINATION AND PYROSEQUENCING ERROR

The reliability of the current results depends on the minimization of DNA cross-contamination and on bioinformatics processing that minimizes the risk of wrong taxa assignment because of sequencing errors. While universal primers that amplify mini-CO1 were assumed to bind with human DNA, we did not recover any sequence of human DNA, reflecting the care with which samples were processed in the field and in the laboratory. Efficiency of the pyrosequencing of the trnL P6 loop was relatively low (13.95% of assigned sequences vs. 41.04% for mini-CO1), we hypothesized that this sequence folded back to reform the loop. The presumed folding back of the sequence during the pyrosequencing processing might have generated shortened sequences, which were not assigned to plant taxa. Only two contaminating sequences were recovered in two water samples of the mini-CO1 experiment. These two sequences could result from pyrosequencing error on the tag that led to the incorrect assignment of raw sequences to sample ID, although the probability was low.

4.3. POSITIVE CONTROLS

We found no proportional relationship between the quantity of starting materials and the number of mini-CO1 sequences recovered (**Table S7**), which indicated that the number of DNA sequences recovered for a given animal resource did not reflect the quantity of that resource consumed. These results justify the conversion of the quantitative data into a binary data set with the presence/absence of a given resource. Trials designed to check the recovering of DNA resource after predator ingestion showed that the DNA from a *C. sordidus* egg was detected in the gut content of *E. caraibea* but not in *O. bauri*. We also recovered *C. sordidus* DNA in *E. caraibea* that were not fed with *C. sordidus* eggs in the laboratory, most likely because the *E. caraibea* had ingested *C. sordidus* in the field before they were collected and because the *C. sordidus* DNA persisted in the guts; contamination, however, cannot be excluded as a possible explanation. This result suggests that, depending on the taxa, the technique can be highly sensitive and that the rate of DNA degradation in the gut can be highly variable. High variability in DNA persistence was also indicated by the pre-PCR and post-PCR tests of positive controls.

4.4. EFFICIENCY OF THE PYROSEQUENCING

Because it provides high resolution and is comprehensive, DNA metabarcoding is a powerful method for unravelling trophic interactions in complex food webs. In contrast to the study of feeding behaviour in the laboratory, DNA metabarcoding detects trophic links in the field, even for scarce resources and rare links. In this study, we faced one limitation resulting from the use of the trnL barcode, which presumably folded back during 454 pyrosequencing in our experiment (trnL sequences removed because shorter than 25bp) resulting in a reduced number of sequences assigned to trnL. Surprisingly, we did not recover additional trnL barcoding sequences with the blast on GenBank, perhaps we actually sampled all plants presents in our plots. Another explanation may stand on the choice of the alignment algorithm that would be unsuitable for very short sequences as trnL P6 loop. Another limitation was that the mini-CO1 barcodes of Hymenopterans were not pyrosequenced, most likely because of the competition between molecules during the PCR. Because we found worker ants feeding on others arthropods, we thus probably underestimated the intraguild predation in which they are involved. Specific primers can be designed and used in a traditional multiplex-PCR approach to achieve the detection of taxa that were not pyrosequenced. The yield of pyrosequencing run could be enhanced by using DNA probes that match with unwanted sequences, such as host DNA. In the future, the combination of several barcodes appears to be a promising solution to increase the confidence in species assignation (Valentini *et al.*, 2009). Relating the

number of DNA sequences detected to the amount of material ingested appears to be an intractable issue. We showed, however, that trophic interactions can be quantified by converting the binary data into quantitative data at the population scale (with a large sample size). Finally, a large number of DNA sequences remain unassigned because of the presumed incompleteness of the banks of sequences and because some taxa are not yet recorded in the GenBank database.

In conclusion, disentangling trophic interactions is essential for understanding ecosystem resilience and persistence following disturbances (Berlow *et al.*, 2004). DNA metabarcoding provides a data set of multitrophic interactions and enables quantitative analysis of the trophic interactions. Although the method presents today some technical limitations, it remains one of the greatest approaches to unravel arthropods food webs. Here, we identified new and unexpected trophic interactions in arthropod networks. The accurate determination of trophic networks will challenge current models of trophic interactions and will contribute to food web theory and ecosystem management. In addition to its application to individual food webs, this technique could be used to link different food webs, such as those that describe micro-organisms, plants, arthropods, and larger animals.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Raphaël Achard and his technical team for managing the experimental farm and for providing expertise on plants; Prof. Jacques Hubert Charles Delabie, and Laurent Soldati for arthropod determination; Safia Guénifi for her involvement in the trnL experiment; and Florian Bardou for discussions about technical and philosophical aspects of molecular biology. This research is a part of a Ph.D funded by the CIRAD and funded by the project "sustainable cropping systems design" from E.U. FEFER (grant PRESAGE n°30411).

REFERENCES

- Abera-Kalibata, A. M., A. Hasyim, C. S. Gold, and R. Van Driesche. 2006. Field surveys in Indonesia for natural enemies of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar). *Biological Control* **37**:16-24.
- Banasek-Richter, C., L. F. Bersier, M. F. Cattin, R. Baltensperger, J. P. Gabriel, Y. Merz, R. E. Ulanowicz, A. F. Tavares, D. D. Williams, P. C. De Ruiter, K. O. Winemiller, and R. E. Naisbit. 2009. Complexity in quantitative food webs. *Ecology* **90**:1470-1477.
- Berlow, E. L. 1999. Strong effects of weak interactions in ecological communities. *Nature* **398**:330-334.
- Berlow, E. L., A. M. Neutel, J. E. Cohen, P. C. de Ruiter, B. Ebenman, M. Emmerson, J. W. Fox, V. A. A. Jansen, J. I. Jones, G. D. Kokkoris, D. O. Logofet, A. J. McKane, J. M. Montoya, and O. Petchey. 2004. Interaction strengths in food webs: issues and opportunities. *Journal of Animal Ecology* **73**:585-598.
- Bersier, L. F., C. Banašek-Richter, and M. F. Cattin. 2002. Quantitative descriptors of food-web matrices. *Ecology* **83**:2394-2407.
- Blanchard, J. L., S. Jennings, R. Law, M. D. Castle, P. McClooghrie, M. J. Rochet, and E. Benoît. 2009. How does abundance scale with body size in coupled size-structured food webs? *Journal of Animal Ecology* **78**:270-280.
- Blazy, J. M., P. Tixier, A. Thomas, H. Ozier-Lafontaine, F. Salmon, and J. Wery. 2010. BANAD: A farm model for ex ante assessment of agro-ecological innovations and its application to banana farms in Guadeloupe. *Agricultural Systems* **103**:221-232.
- Cabana, G. and J. B. Rasmussen. 1996. Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93**:10844-10847.
- Cardinale, B. J., D. S. Srivastava, J. E. Duffy, J. P. Wright, A. L. Downing, M. Sankaran, and C. Jouseau. 2006. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature* **443**:989-992.
- Claesson, M. J., Q. Wang, O. O'Sullivan, R. Greene-Diniz, J. R. Cole, R. P. Ross, and P. W. O'Toole. 2010. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Research* **38**.
- Cohen, J. E., F. Briand, and C. M. Newman. 1990. *Community food webs: data and theory*. Heidelberg & New York: Springer-Verlag.
- Cohen, J. E., T. Jonsson, and S. R. Carpenter. 2003. Ecological community description using the food web, species abundance, and body size. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100**:1781-1786.
- Díaz, S., J. Fargione, F. S. Chapin, and D. Tilman. 2006. Biodiversity loss threatens human well-being. *PLoS Biology* **4**:1300-1305.
- Duyck, P.-F., A. Lavigne, F. Vinatier, R. Achard, J. N. Okolle, and P. Tixier. 2011a. Addition of a new resource in agroecosystems: Do cover crops alter the trophic positions of generalist predators? *Basic and Applied Ecology* **12**:47-55.
- Duyck, P. F., A. Lavigne, F. Vinatier, R. Achard, J. N. Okolle, and P. Tixier. 2011b. Addition of a new resource in agroecosystems: Do cover crops alter the trophic positions of generalist predators? *Basic and Applied Ecology* **12**:47-55.
- Emmerson, M. and J. M. Yearsley. 2004. Weak interactions, omnivory and emergent food-web properties. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **271**:397-405.

- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, and R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* **3**:294-297.
- Fontaine, C., E. Thébault, and I. Dajoz. 2009. Are insect pollinators more generalist than insect herbivores? *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* **276**:3027-3033.
- Fry, B. 1988. Food web structure on Georges Bank from stable C, N, and S isotopic compositions. *Limnology & Oceanography* **33**:1182-1190.
- Gold, C. S., J. E. Pena, and E. B. Karamura. 2001. Biology and integrated pest management for the banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). *Integrated Pest Management Reviews* **6**:79-155.
- Gravel, D., E. Canard, F. Guichard, and N. Mouquet. 2011. Persistence increases with diversity and connectance in trophic metacommunities. *PLoS ONE* **6**:e19374.
- Harper, G. L., R. A. King, C. S. Dodd, J. D. Harwood, D. M. Glen, M. W. Bruford, and W. O. C. Symondson. 2005. Rapid screening of invertebrate predators for multiple prey DNA targets. *Molecular Ecology* **14**:819-827.
- Harwood, J. D., M. R. Bostrom, E. E. Hladilek, D. H. Wise, and J. J. Obrycki. 2007. An order-specific monoclonal antibody to Diptera reveals the impact of alternative prey on spider feeding behavior in a complex food web. *Biological Control* **41**:397-407.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball, and J. R. DeWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* **270**:313-321.
- Hooper, D. U., F. S. Chapin Iii, J. J. Ewel, A. Hector, P. Inchausti, S. Lavorel, J. H. Lawton, D. M. Lodge, M. Loreau, S. Naeem, B. Schmid, H. Setälä, A. J. Symstad, J. Vandermeer, and D. A. Wardle. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* **75**:3-35.
- Jennings, S. and S. Mackinson. 2003. Abundance-body mass relationships in size-structured food webs. *Ecology Letters* **6**:971-974.
- Jonsson, T., J. E. Cohen, and S. R. Carpenter. 2005. Food Webs, Body Size, and Species Abundance in Ecological Community Description. Pages 1-84 *Advances in Ecological Research*.
- King, R. A., D. S. Read, M. Traugott, and W. O. C. Symondson. 2008. Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. *Molecular Ecology* **17**:947-963.
- Letourneau, D. K., I. Armbrrecht, B. S. Riviera, J. M. Lerma, E. J. Carmona, M. C. Daza, S. Escobar, V. Galindo, C. Gutiérrez, S. D. Lopez, J. L. Mejia, A. M. Rangel, J. H. Rangel, L. Rivera, C. A. Saavedra, A. M. Torres, and A. R. Trujillo. 2011. Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. *Ecological Applications* **21**:9-21.
- May, R. M. and R. H. MacArthur. 1972. Niche overlap as a function of environmental variability. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **69**:1109-1113.
- McCann, K., A. Hastings, and G. R. Huxel. 1998. Weak trophic interactions and the balance of nature. *Nature* **395**:794-798.
- Megléc, E., S. Piry, E. Desmarais, M. Galan, A. Gilles, E. Guivier, N. Pech, and J. Martin. 2010. Sesame (SEquence Sorter & AMplicon Explorer): Genotyping based on high-throughput multiplex amplicon sequencing. *Bioinformatics* **27**:277-278.

- Memmott, J., N. Martinez, and J. E. Cohen. 2000. Predators, parasites and pathogens: species richness, trophic generality, and body sizes in a natural food web. *Journal of Animal Ecology* **69**:1-15.
- Meusnier, I., G. A. C. Singer, J. F. Landry, D. A. Hickey, P. D. N. Hebert, and M. Hajibabaei. 2008. A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. *BMC Genomics* **9**.
- Mollet, G., P. Tixier, F. Lescourret, S. Quilici, and P. F. Duyck. 2012. New primary resource increases predation on a pest in a banana agroecosystem. *Agricultural and Forest Entomology*.
- Novotny, V., Y. Basset, S. E. Miller, G. D. Weiblen, B. Bremer, L. Cizek, and P. Drozd. 2002. Low host specificity of herbivorous insects in a tropical forest. *Nature* **416**:841-844.
- Paine, R. T. 1980. Food webs: linkage, interaction strength and community infrastructure. *Journal of Animal Ecology* **49**:666-685.
- Paine, R. T. 1992. Food-web analysis through field measurement of per capita interaction strength. *Nature* **355**:73-75.
- Peterson, B. J., R. W. Howarth, and R. H. Garritt. 1985. Multiple stable isotopes used to trace the flow of organic matter in estuarine food webs. *Science* **227**:1361-1363.
- Pimm, S. L. 1978. An experimental approach to the effects of predictability on community structure. *American Zoologist* **18**:797-808.
- Pimm, S. L. 1984. The complexity and stability of ecosystems. *Nature* **307**:321-326.
- Piry, S., E. Guivier, A. Realini, and J.-F. Martin. 2012. |SE|S|AM|E BARCODE: a NGS-oriented software for amplicon characterization - application to species and environmental barcoding. *Molecular Ecology Resources*:in Press.
- Pompanon, F., B. E. Deagle, W. O. C. Symondson, D. S. Brown, S. N. Jarman, and P. Taberlet. 2012. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Molecular Ecology* **21**:1931-1950.
- Ponsard, S. and R. Arditì. 2000. What can stable isotopes ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) tell about the food web of soil macro-invertebrates? *Ecology* **81**:852-864.
- Post, D. M. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. *Ecology* **83**:703-718.
- R Development Core Team. 2012. R: a Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Schoener, T. W. 1989. Food webs from the small to the large: the Robert H. MacArthur award lecture. *Ecology and Society* **70**:1559-1589.
- Scotti, M., C. Bondavalli, A. Bodini, and S. Allesina. 2009. Using trophic hierarchy to understand food web structure. *Oikos* **118**:1695-1702.
- Shannon, C. E. 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell system technical journal* **27**:379-423 and 623-656.
- Soininen, E. M., A. Valentini, E. Coissac, C. Miquel, L. Gielly, C. Brochmann, A. K. Brysting, J. H. Sonstebo, R. A. Ims, N. G. Yoccoz, and P. Taberlet. 2009. Analysing diet of small herbivores: the efficiency of DNA barcoding coupled with high-throughput pyrosequencing for deciphering the composition of complex plant mixtures. *Frontiers in Zoology* **6**.

- Taberlet, P., E. Coissac, F. Pompanon, L. Gielly, C. Miquel, A. Valentini, T. Vermat, G. Corthier, C. Brochmann, and E. Willerslev. 2007. Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research* **35**:e14.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou, and J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* **17**:1105-1109.
- Tilman, D., K. G. Cassman, P. A. Matson, R. Naylor, and S. Polasky. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* **418**:671-677.
- Valentini, A., F. Pompanon, and P. Taberlet. 2009. DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology & Evolution* **24**:110-117.
- van Veen, F. J. F., C. B. Müller, J. K. Pell, and H. C. J. Godfray. 2008. Food web structure of three guilds of natural enemies: predators, parasitoids and pathogens of aphids. *Journal of Animal Ecology* **2008**:191-200.
- Vander Zanden, M. J. and J. B. Rasmussen. 1999. Primary consumer $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology* **80**:1395-1404.
- Vander Zanden, M. J. and J. B. Rasmussen. 2001. Variation in $\delta^{15}N$ and $\delta^{13}C$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography* **46**:2061-2066.
- Williams, R. J. and N. D. Martinez. 2000. Simple rules yield complex food webs. *Nature* **404**:180-183.
- Williams, R. J. and N. D. Martinez. 2008. Success and its limits among structural models of complex food webs. *Journal of Animal Ecology* **77**:512-519.

Table 1. Number of sequences recovered by pyrosequencing and barcoding for positive controls. In the first test, DNA was extracted from one to three *Cosmopolites sordidus* eggs and sequences of *C. sordidus* and two predators (*Euborellia caraibea* and *Odontomachus bauri*) were quantified. In the second test, DNA was extracted from one *E. caraibea* that had been captured in the field and fed zero or one *C. sordidus* egg (or that had been combined with one *C. sordidus* egg just before extraction) and sequences were quantified. The third test was identical to the second but was conducted with *O. bauri*.

Test	Treatment	n	Number of sequences recovered			
			Unassigned	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>Euborellia caraibea</i>	<i>Odontomachus bauri</i>
Eggs of <i>Cosmopolites sordidus</i>	1 egg	9	527	106	346	0
	2 egg	3	245	116	1	0
	3 egg	3	131	164	5	0
<i>Euborellia caraibea</i>	0 eggs	4	28	5	2112	0
	combined with 1 egg	5	60	2	889	0
	fed 1 egg	5	60	1	2133	0
<i>Odontomachus bauri</i>	0 eggs	2	208	0	5	0
	combined with 1 egg	4	170	65	191	0
	fed 1 egg	4	31	0	121	0

Table 2. Qualitative and quantitative metrics computed on the food web matrix of frequencies of consumption. Qualitative metrics are based on the presence/absence of the interaction; quantitative metrics are based on a Shannon diversity index.

Food web metric	Qualitative	Quantitative
Number of links	98	76.118
Linkage density	2.970	2.307
Connectance	0.093	0.070
Generality	2.062	2.461
Vulnerability	3.300	2.152
Evenness of interaction	NA	0.882

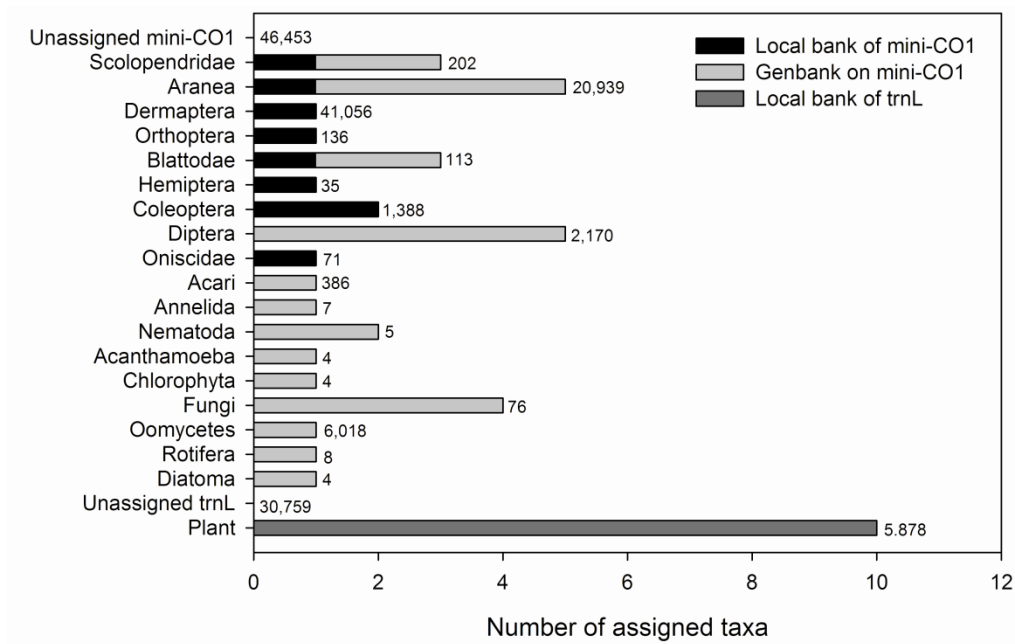


Figure 1. Number of assigned taxa and related number of sequences for each taxonomic group. Data were derived from 454 pyrosequencing runs, and sequences were assigned to taxa with SE|S|AM|E BARCODE (minimum of three sequences, 90% similarity threshold). Stacked bar charts indicate the number of taxa assigned based on our local bank of sequences (black) and on the blasting of GenBank (grey). The value adjacent to each bar is the total number of assigned sequences obtained for all taxa belonging to each taxonomic group.

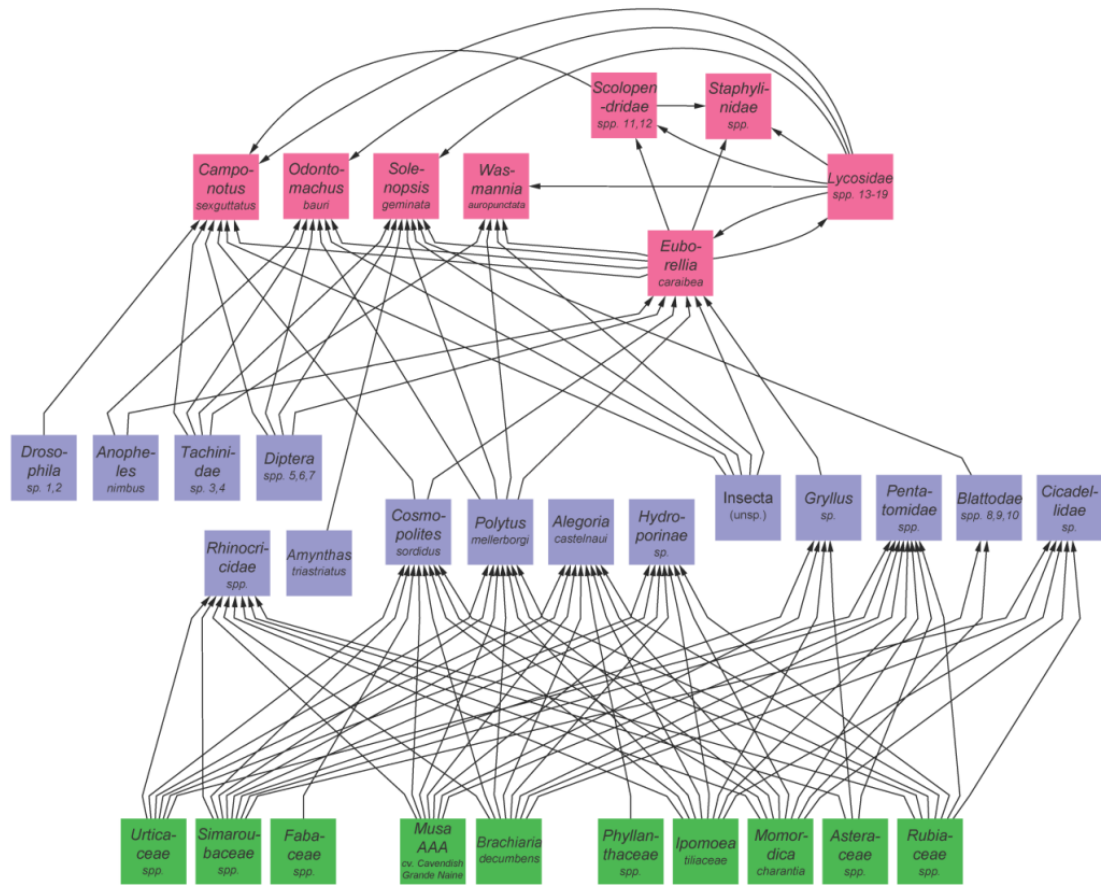


Figure 2. Arthropods food web in a banana agroecosystem. In this food web, nodes are taxa, and arrows are trophic interactions (feeding relationships). The direction of the arrows shows the flow of matter. All links were determined by 454 pyrosequencing (Roche, Switzerland) and DNA barcoding of consumer gut contents. Taxa assignments were done with blast on the “ad-hoc” libraries of barcode sequences (trnL P6 loop for plants, and mini-CO1 for animals) with 90% similarity threshold, and a minimum of three sequences. The colour of boxes represents trophic classes of taxa, i.e. green, blue and red for plants, herbivores and predators, respectively. (1: *Drosophila melanica*. 2: *Drosophila Anceps*. 3: *Gymnocheta viridis*. 4: *Calliphora vomitoria*. 5: *Resseliella yagoi*. 6: *Rheotanytarsus sp.* 7: *Diptera spp.* (unspecified). 8: *Blattodeae spp.* 9: *Blatella germanica*. 10: *Phyllodromica iberica*. 11: *Ethmostigmus rubripes*. 12: *Rhysida longipes*. 13: *Pardosa lapidicina*. 14: *Pirata minutes*. 15: *Trochosa ruricola*. 16: *Hogna snodgrassi*. 17: *Schizocosa uetzi*. 18: *Rabidosa rabida*. 19: *Lycosidae spp.*)

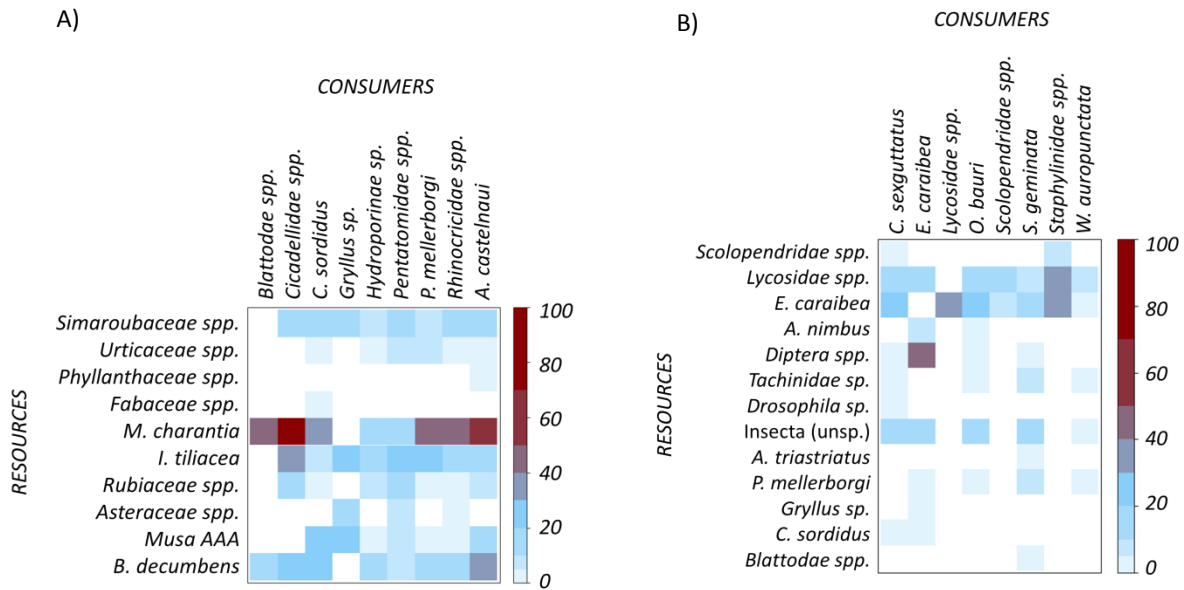


Figure 3. Quantitative matrices of interactions. Both grid plots display the frequencies of consumption of each resource by (A) links derived from trnL experiments (herbivory) and by (B) links derived from the mini-CO1 experiment (predation). Color of cells in the plot represents the numerical value of the weighted links, from white (0% of consumers positive) to dark red (100% of consumers positive). Quantitative interactions were determined by calculating the frequencies of individuals found positive for a given resource.

SUPPLEMENTARY MATERIALS

Table S1. List of taxa considered in this study, with their respective common name, taxonomic rank, trophic group and accession number in GenBank.

Taxon	Common name	Rank	Trophic group	Accession
Asteraceae	Aster	Family	Plant	JX113265
Convolvulaceae	Bindweed family	Family	Plant	JX113266
Cucurbitaceae	Cucurbit	Family	Plant	JX113267
<i>Musa</i> AAA cv. Cavendish	Banana	Cultivar	Plant	JX113269
Simaroubaceae	Tree-of-Heaven	Family	Plant	JX113272
Poaceae	Grass	Family	Plant	GU594590
Fabaceae	Pea	Family	Plant	JX113268
Phyllanthaceae	-	Family	Plant	JX113270
Rubiaceae	Coffee family	Family	Plant	JX113271
Urticaceae	Nettle family	Family	Plant	JX113273
<i>Camponotus sexguttatus</i>	Carpenter ant	Species	Predator	JX113276
<i>Cicadellidae</i> sp.	Leafhopper	Family	Flying Herbivore	JX113277
<i>Cosmopolites sordidus</i>	Banana weevil	Species	Ground Herbivore	JX113278
<i>Euborellia caraibea</i>	Caribbean earwig	Species	Predator	JX113279
<i>Hydrophilinae</i> sp.	Water beetle	Subfamily	Detritivore	JX113281
<i>Odontomachus bauri</i>	Trap-jaw ant	Species	Predator	JX113282
<i>Gryllus</i> sp.	Field cricket	Genus	Ground herbivore	JX113280
<i>Pentatomidae</i> sp.	Stink bug	Family	Ground herbivore	JX113283
<i>Polytus mellerborgi</i>	Little banana weevil	Species	Ground herbivore	JX113284
<i>Blattodea</i> sp.	Cockroach	Order	Detritivore	JX113275
<i>Scolopendra</i> sp.	Centipede	Genus	Predator	JX113285
<i>Staphylinidae</i> sp.	Rove beetle	Family	Predator	JX113287
<i>Alegoria castelnaui</i>	Mealworm beetle	Species	Ground herbivore	JX113274
<i>Solenopsis geminata</i>	Fire ant	Species	Predator	JX113286
<i>Wasmannia auropunctata</i>	Little fire ant	Species	Predator	JX113288
<i>Pardosa lapidicina</i>	Wolf spider	Species	Predator	HQ924476.1
<i>Pirata minutes</i>	Wolf spider	Species	Predator	GU682501.1
<i>Trochosa ruricola</i>	Wolf spider	Species	Predator	HQ924501.1
<i>Hogna snodgrassi</i>	Wolf spider	Species	Predator	HM171118.1
<i>Schizocosa uetzi</i>	Wolf spider	Species	Predator	EF112525.1
<i>Rabidosa rabida</i>	Wolf spider	Species	Predator	EU271654.1
<i>Ethmostigmus rubripes</i>	Centipede	Species	Predator	AF370836.1
<i>Rhysida longipes</i>	Centipede	Species	Predator	AB614644.1
<i>Blatella germanica</i>	Cockroach	Species	Detritivore	HM996892.1
<i>Phyllodromica iberica</i>	Cockroach	Species	Detritivore	AM600690.1
<i>Uvarus alluaudi</i>	Water beetle	Species	Detritivore	FJ819593.1
<i>Resseliella yagoi</i>	Fly	Species	Flying Herbivore	AB506002.1
<i>Anopheles nimbus</i>	Mosquito	Species	Flying Herbivore	HM022409.1
<i>Rheotanytarsus</i> sp.	Midge	Genus	Flying Herbivore	AM398767.1
<i>Drosophila melanica</i>	Fruit fly	Species	Flying Herbivore	EU493611.1
<i>Drosophila anceps</i>	Fruit fly	Species	Flying Herbivore	DQ471598.1
<i>Gymnocheta viridis</i>	Fly	Species	Flying Herbivore	GQ409327.1
<i>Calliphora vomitoria</i>	Fly	Species	Flying Herbivore	FR719156.1
<i>Amyntas triastriatus</i>	Earthworm	Species	Detritivore	EF077537.1
<i>Homo sapiens</i>	Human	Species		HQ260949.1

Table S2. The number of samples for each taxon and their respective trapping methods. To screen a large spectrum of the diversity present in our plot, we used in some cases two trapping methods.

Taxa	n	Trapping methods
<i>C. sordidus</i>	66	Pitfall, pseudostem
<i>P. mellerborgi</i>	65	Pitfall, pseudostem
Rhinocricidae sp.	93	Pseudostem
Blattoda sp.	6	Direct capture
<i>A. castelnaui</i>	42	Pseudostem, direct capture
Gryllus sp.	8	Vacuum
Hydroporinae sp.	48	Pseudostem
Pentatomidae sp.	15	Vacuum
Cicadellidae sp.	18	Vacuum
<i>C. sexguttatus</i>	103	Direct capture
<i>E. caraibea</i>	83	Pseudostem, direct capture
Lycosidae sp.	25	Direct capture
<i>O. bauri</i>	87	Direct capture
Scolopendridae sp.	5	Direct capture
<i>S. geminata</i>	145	Pseudostem, direct capture
<i>W. auropunctata</i>	109	Pseudostem, direct capture
Staphylinidae sp.	10	Pseudostem, direct capture

Table S3. Number of DNA sequences detected by pyrosequencing when DNA extract from the ant *Solenopsis geminata* was mixed with DNA extract from *Cosmopolites sordidus* eggs (at ratios of 90:10, 80:20, and 50:50) before and after PCR.

Before or after PCR	Ratio of ant DNA extract: egg DNA extract	Number of sequences				
		n	unassigned	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>Euborellia caraibea</i>	<i>Solenopsis geminata</i>
Before	90:10	4	193	1	22	0
	80:20	4	389	0	2	0
	50:50	4	246	0	5	0
After	90:10	4	444	0	0	0
	80:20	4	447	13	25	0
	50:50	4	310	0	25	0

Table S4. Number of sequences associated with each marker (chloroplastic trnL and mitochondrial mini-CO1) and for each bank of sequences used. “Marker-assigned sequences” are the number of raw sequences that match the consensus marker (BLAST+). “Sample-assigned sequences” are marker-assigned sequences that have the exact tags of our samples. “Samples with sequences” are samples that had sample-assigned sequences. “Variants” are distinct sequences in the sample-assigned sequences. “Distinct variants” are variants with >25 bp for trnL and with >100 bp for mini-CO1. “Assignments” are the variants assigned with a 90% similarity threshold on the corresponding bank of sequences.

Bioinformatic steps	Library			
	trnL	CO1		
	local	Ad-hoc	local	GenBank
Raw sequences	262737	177186	177186	177186
Marker-assigned sequences	257099	175959	175959	175959
Sample-assigned sequences	96446	119133	119133	119133
Variants	12373	23621	23621	23621
Distinct variants	4953	12368	12368	12368
Assignments	2204	16683	11368	14465

Table S5. Ad-hoc trnL bank of sequences used in this study.

Taxon	Sequence
Asteraceae	ATCACGTTTTCCGAAAACAAACAAAGATTCAGAAAGCGAAAAAAAAAAAAA
Convolvulaceae	ATCCTGTTTTCCGAAAACAAACAAAAGTTAAGAAAAAAAAAG
Cucurbitaceae	ATCCTTTTTCCGAAAACAAAAGGGG
<i>Musa</i> AAA	ATCCTTATTTTGAGAAAACAAAGGTTTATAAACTAGAAATTTAAAAG
Simaroubaceae	ATCTTCTTTTCCAAGAACAACAAGGGTTCAGAAAGTGAAAAGGGA
Poaceae	ATCCCTCTTTTGAAAAACAAGTGTTCTCAAACCTAGAACCCAAAGGAAA AG
Fabaceae	ATCCTGTTTTCCGAAAACAAAGAAAAGTTCAGAAAGCAAAAAAAAAACAAC TCC
Phyllanthaceae	ATCCGGTTTTCCAAAAACAAACAAAGGTTTCGTATTATACAGATAGAATAA AAAAG
Rubiaceae	ATCCTATTTTCCGCAAACAAAAAAGGGTTCAGAAAGTGAAAAGGG
Urticaceae	ATCCGGTTTTATGAAAACAACAAGGGTTCAGAAAGCGATAATAAAAAAG GAAAG

Table S6. Ad-hoc mini-CO1 bank of sequences used in this study.

Taxon	Sequence
<i>Camponotus sexguttatus</i>	ATTATATTTTATTTTTGCAATCTGAGCAGGTATAATAGGATCCTCAAT AAGAATAATTATTCGATTAGAATTAGGATCCCCAATTCACATAATCTTA AATGATCAAACCTTTAATTCTATTGTAACA
<i>Cicadellidae</i> sp.	TCTATATTTTATTTTTGGTATTTGGTCAGGTATAGTTGGTATAATGTT AAGTATAATTATTCGAATTGAACTCGCCCAACCAGGACCATTTTTAATA AATGATCAACTTTATAACGTAATTGTTACA
<i>Cosmopolites sordidus</i>	TCTATACTTTATTTTTGGTTCCCTGAGCAGGAATAGTAGGCACCTCCCTT AGTATACTTATCCGTACAGAACTAGGCAGGCCTGGCTCCCTTATCGGTA ACGACCAAATCTATAACGTAATTGTAACA
<i>Euborellia carai-bea</i>	TTTATATTTTGTTCGGGGCTTGATCTGGGATAGTAGGAACATAATAT AAGACTCTTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGTTTCATTGATCGGT GATGATCAAATTTATAATGTTATTGTTACG
<i>Hydroporinae</i> sp.	GCTCTATTTTATTTTTGGTGCTTGAGCAGGTATAGTAGGCACATCATTG AGAATTTTAATCCGAGCTGAATTAGGTAATCCAGGGTCACTGATTGGT GATGATCAAATTTATAATGTTATTGTAACC
<i>Odontomachus bauri</i>	TTTATATTTTATTTGCTATTTGATCTGGTWWAATTGGTTCTTCTAT AAGAATATTAATTCGATTAGAATTAGGAACCTGTAATCTGTAATATT TAATGATCAAATTTATAATTCATTAATTACA
<i>Gryllus</i> sp.	ACTATATTTTCATTTTGGGGCTTGGGCAGGAATAGTAGGAACATCATT AAGAATTTTAATTCGAACCTGAACTTGGTCAACCTGGATATTTAATCGG AGATGACCAAACGTACAATGTTATTGTAACA
<i>Pentatomidae</i> sp.	ACTGTACTTCTTATTCGGAATATGGGCTGGAATAGTAGGATCCGCTATA AGATTAATTAATTCGAATTGAATTAGGTCAACCCGGAAGATTTATTGGG GATGATCAAATCTATAATGTAGTAGTTACA
<i>Polytus mellerborgi</i>	TTTATACTTTATCCTTGGAACTTGATCAGGAATAATTGGAACCTCTTTA AGTTTACTGATTCGGGCAGAATTAGGAAACCCTGGATCATTAAATCGGA GATGATCAAATTTACAATGTAATTGTAACA
<i>Blattodae</i> sp.	CTTATACTTCATTTTTGGAGCTTGATCAGGAATAGTAGGAACCTCACTT AGTATACTTATTCGAGCAGAACTTAATCAACCCGGATCTCTTATTGGAG ATGATCAAATTTATAATGTTATTGTAACA
<i>Scolopendra</i> sp.	TATATATTTAATTTTCGGAGCTTGGGCTTCAATAGTAGGGACAGGATT AAGCTTATTAATTCGATTAGAATTAAGCCAACCAGGAAGATTAATTGG AGATGACCAAACATATAATGTAGTTGTTACA
<i>Staphylinidae</i> sp.	TTTATACTTTATTTTTGGAGCTTGGGCCGGAATAGTAGGAACCTCCTTA AGAATACTTATTCGAGCCGAATTAGGAAACCCCGAACTCTAATCGGCG ATGATCAAATTTATAATGTCATTGTAACCT
<i>Alegoria castelnaui</i>	ATTATACTTTATTTTTGGAGCATGGTCAGGAATAGTAGGGACTTCATT AAGTATACTAATTCGAGCTGAATTAGGAACGCCCGGTGCATTAATTGG TGACGATCAAATTTATAATGTTATTGTTACT
<i>Solenopsis geminata</i>	TTTATATTTTATTTCTTGCAATTTGAGCAGGAATAATCGGTTCTTCAATA AGAATGATCATTCGATTAGAANTAGGATCCTGCAATTCCTAATTAAT AATGATCAAATTTATAACTCCTTAGTTACC
<i>Wasmannia auropunctata</i>	TCTATATTTTATTTTAGCAATTTGATCAGGATTAATTGGATCTTCTATA AGTATAATTAATTCGATTAGAACTAGGCTCATGCGGACCTATGATTAAT AATGACCAAATCTATAATACTTTAGTTACT
<i>Pardosa lapidicina</i>	TTTATATTTAATATTTGGGGTTTGATCGGCTATGATAGGGACTGCTAT AAGAGTATTAATTCGAATGGAATTAGGAAATCCTGGGAGATTATTAGG TGATGATCATTTATATAATGTAATAGTTACT

<i>Pirata minutes</i>	ATTATATTTAATTTTTGGTGTATGATCGGCTATAATTGGAAGTCAAT AAGAGTATTAATTCGAATAGAATTAGGGCATTCTGGAAGTTTATTAGG AGATGATCATTTATATAATGTTATAGTAACT
<i>Trochosa ruricola</i>	TTTATATTTAATATTTGGTGTATGATCTGCTATAGTGGGGACTGCTAT AAGAGTGTAAATTCGTTTGAATTAGGAAATCTGGAAGTTTATTAGG AGATGATCATTTATATAATGTTATAGTTACT
<i>Hogna snodgrassi</i>	TTTATATTTAATGCTTGGTGTGGTCTGCTATAATGGGGACTGCTATA AGAGTGTGATTTCGAATGGAATTAGGTAATCCTGGAAGTTTATTAGGG GATGATCATTTATATAATGTGATAGTTACA
<i>Schizocosa uetzi</i>	TTTAATATTTGGTGTGGTCTGCAATATTAGGAACTGCTATAAGTGT ATTGATTCGAATGGAATTAGGTAATCTGGAAGTTTATTAGGAGATGA TCATTTATATAATGTTATGGTAACTGCTCAT
<i>Rabidosia rabida</i>	TTTATATTTAATATTTGGTGTGTGATCTGCAATAATAGGTAAGTCAAT AAGAGTATTAATTCGAATGGAATTAGGAAATCCTGGAAGTTTATTAGG GGATGATCATCTATATAATGTGATGGTTACT
<i>Ethmostigmus rubripes</i>	TATATATTTAATTTTTGGAGCTTGAGCTTCAATAGTAGGCACTGGATT AAGATTATTAATTCGATTAGAATTGAGACAGCCAGGAAGATTAATTGG AGACGACCAAACCTACAATGTAGTAGTTACA
<i>Rhysida longipes</i>	TTGGAGCCTGAGCCTCTATAGTAGGTACAGGATTAAGACTACTTATTCCG TCTAGAGTTAAGCCAGCCAGGGACCTTAATTGGAGATGACCAGACATA TAACGTAATTGTTACAGCCCATGCTTTTGT
<i>Blatella germanica</i>	CTTATATTTTCAATTTTTGGGGCTTGATCAGGAATAGTAGGAACTTCACTT AGTATACTTATTCGAGCGGAACCTAATCAACCCGGATCTCTTATTGGAG ATGATCAAATCTATAATGTAATTGTAACA
<i>Phyllodromica iberica</i>	AGTAGGCACTTCTTTAAGTATATTAATTCGCACTGAATTAATCAACCG GGTTCATTAATTGGTGTGATCAAATTTATAATGTTATTGTTACAGCT CATGCATTTATTATAATTTTCTTTATAGTT
<i>Uvarus alluaudi</i>	TTTATACTTCCATTTTGGAGCTTGATCAGGAATAGTAGGAACTTCATTA AGTATACTAATTCGAGCAGAATTAGGAAATCCAGGTTCTTTAATTGGA GATGATCAAATTTATAATGTTATTGTAACA
<i>Resseliella yagoi</i>	TTTATATTTTATTTTTGGAATTTGATCTGGAATATTAGGAACTTCTTT AAGAATTTTAATTCGATTAGAATTAAGAACAATCTCAAATTTAATTGG AAATGATCAAATTTATAATGTAATTGTTACA
<i>Anopheles nimbus</i>	ACTATACTTTGTGTTTGGGGCTTGATCAGGAATAGTTGGGACTTCATTA AGAATTTTAAATTCGAGCTGAATTAGGTACCCAGGGCTTTTAATTG GGGATGATCAAATTTATAATGTTATTGTTA
<i>Rheotanytarsus sp.</i>	TTGATCAGGAATAGTAGGAACTTCATTAAGAATATTAATTCGAGCAGA ATTAGGACATCCAGGAACATTTATTGGGGATGATCAAATTTATAATGT TATTGTTACAGCTCATGCATTTATTATAATT
<i>Drosophila melanica</i>	TTTATATTTTATTTTTGGTGTGGTCTGAGCTGGAATAGTTGGAACATCATT AAGAATTTTAATTCGAGCAGAATTAGGTCACCCAGGAGCTTTAATTGG GGATGATCAAATTTATAATGTAATTGTTACA
<i>Drosophila anceps</i>	TTTATACTTTATTTTTGGAGCTTGAGCAGGAATAGTTGGAACCTCATT AAGAATTTTAAATTCGAGCTGAATTAGGACACCCAGGTGCTTTAATTGG TGATGATCAAATTTATAATGTAATTGTTACA
<i>Gymnocheta viridis</i>	TTTATATTTTATTTTTGGAGCTTGATCTGGAATAGTAGGAACTTCTTTA AGAATTTTAAATTCGAGCAGAATTAGGTCATCCTGGTGCATTAATTGGA GATGATCAAATTTATAATGTTATTGTAACA
<i>Calliphora vomitoria</i>	TTTATACTTTATTTTTGGAGCTTGATCAGGAATGATTGGAACCTCATT AAGAATTTTAAATTCGAGCTGAACTAGGGCATCCTGGAGCATTAAATTGG

	AGATGATCAAATTTATAATGTAATTGTTACA
<i>Amyntas triastriatus</i>	CCTGGGAATTTGAGCAGGAATAATTGGTGCAGGAATAAGACTACTTAT TCGTATTGAACTAAGACAACCGGGATCCTTCCTTGGTAGAGACCAACTA TATAATACAATTGTAACAGCACATGCATTC
<i>Homo sapiens</i>	ACTATACCTATTATTCGGCGCATGAGCTGGAGTCCTAGGCACAGCTCTA AGCCTCCTTATTCGAGCCGAGCTGGGCCAGCCAGGCAACCTTCTAGGTA ACGACCACATCTACAACGTTATCGTCACA

Table S7. Number of trnL sequences assigned in our local bank of sequences.

Taxon	Number of trnL sequences
Unassigned	30759
<i>Musa</i> AAA	622
Poaceae	990
Fabaceae	27
Asteraceae	43
Convolvulaceae	821
Cucurbitaceae	2621
Urticaceae	104
Phyllanthaceae	14
Rubiaceae	163
Simaroubaceae	473

Table S8. Number of mini CO1 sequences assigned to each taxonomic group for ad-hoc, local, and GenBank libraries. Some taxa have different number of assigned sequence as a function of the library used. This is the result of an assignation to a sequence from a different taxonomic rank.

Taxon	Number of mini CO1 sequences unassigned or assigned per taxon and library		
	Ad-hoc	Local	GenBank
Unassigned	46424	54343	88435
Acanthamoeba	4	0	4
Chlorophyta	57	0	57
Fungi	76	0	76
Oomyceta	6018	0	6034
Diatoma	4	0	4
Rotifera	8	0	8
Nematoda	5	0	5
Annelida	7	0	7
Unassigned neoptera	29	0	39
Oniscidae	71	71	0
Acariformes	386	0	1
Orthoptera	136	136	0
Blattaria	113	112	113
Cicadellidae	35	35	0
Diptera	2170	0	2135
Dermaptera	41056	41057	0
Coleoptera	1388	1379	511
Lepidoptera	5	0	5
Arachnida	20939	21430	21295
Scolopendridae	202	570	404

CHAPITRE III - DETECTION DES ELEMENTS

STRUCTURAUX D'UN RESEAU TROPHIQUE ET INFERENCE

SUR SON FONCTIONNEMENT

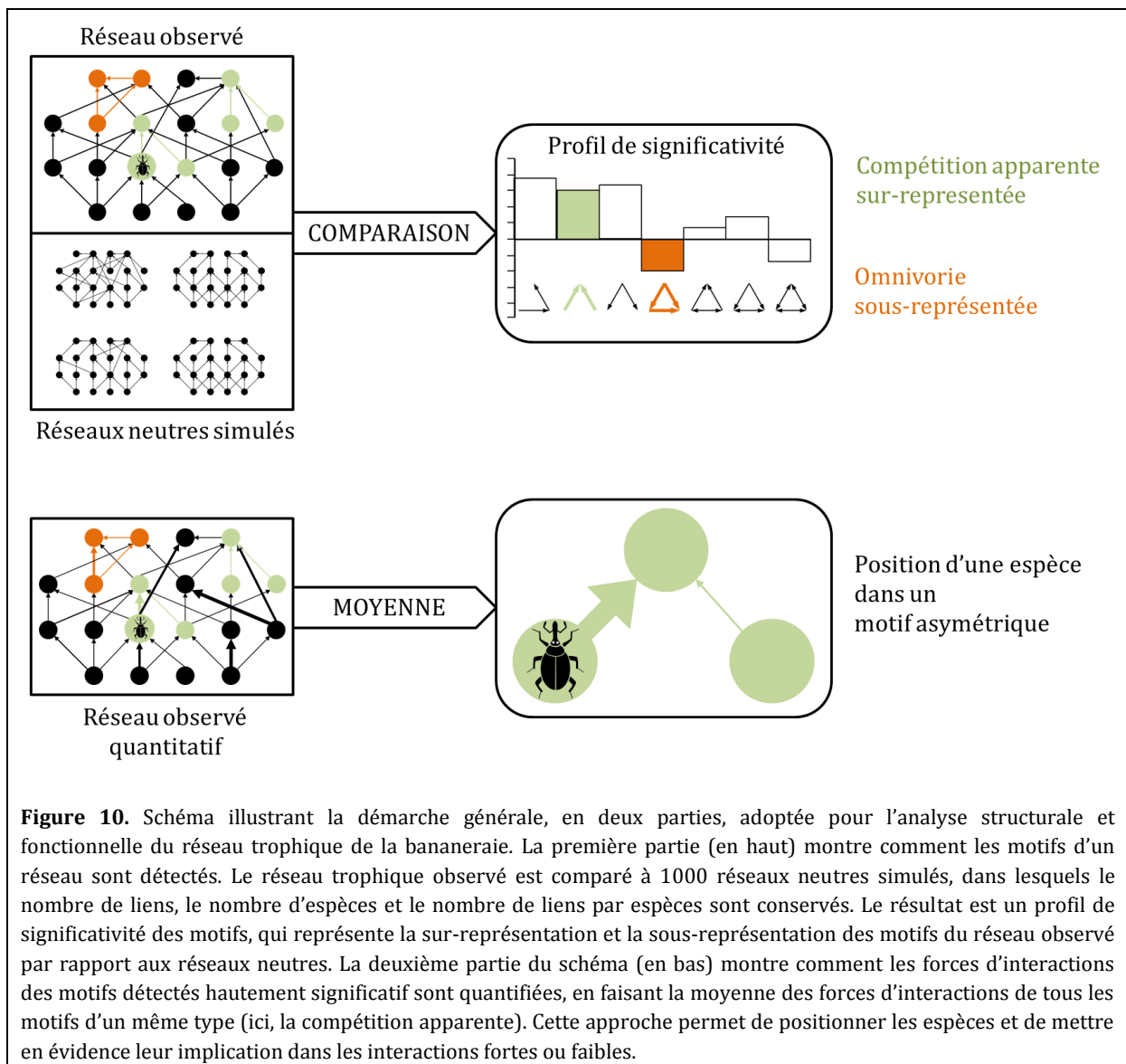
La question centrale de la thèse est de savoir comment nous pouvons déduire le fonctionnement d'un réseau trophique à partir de sa structure, afin d'optimiser la régulation d'un bioagresseur. Pour cela la mise en évidence des motifs qui reflètent des fonctions bien connues, comme la compétition apparente ou la compétition d'exploitation, permet de relier structure et fonctions au sein d'un réseau.

Ce chapitre repose un article de recherche à soumettre à *Functional Ecology* et qui s'intitule **Unequal distribution of strengths within key motifs shapes the structure of an agroecosystem food web**. La démarche générale était de soumettre les réseaux trophiques quantitatifs issus du metabarcoding à ADN à une analyse structurale afin de comprendre les différences de structure engendrées par les pratiques culturales. La comparaison de la structure des deux réseaux m'a permis d'inférer leurs fonctionnements, et d'émettre des hypothèses sur les modalités de la régulation du bioagresseur, notamment sur son statut de « proie préférée » dans les motifs de compétition apparente (**figure 10**). Je me suis appuyé sur la détection des motifs de taille 3, qui sont abondamment étudiés, et sur les motifs de taille 4, moins connus, pour approfondir mon analyse.

Le premier objectif était d'étudier la structure au sens propre des réseaux trophiques des bananeraies en fonction du type de gestion des ressources primaires, sur sol nu et sur sol enherbé. Pour cela, nous avons calculé différents indices qui caractérisent la structure des réseaux trophiques, comme le nombre de liens par espèces, la connectance, la vulnérabilité, la généralité et l'homogénéité de la distribution des liens. Le calcul de l'homogénéité de la distribution des liens a permis de montrer les différences de répartition des liens au sein des réseaux complets. J'ai aussi comparé les sous réseaux communs composés uniquement des espèces présentes dans les deux réseaux, dans le but de s'affranchir de l'effet de la diversité dans nos calculs. J'ai montré que toutes les espèces ne contribuent pas de la même façon à cette différence de distribution des liens, en calculant la dissimilarité du régime alimentaire d'une espèce d'un réseau à l'autre. En effet, certaines espèces ont exactement le même régime alimentaire quel que soit le mode de gestion des ressources primaires, alors que d'autres espèces changent fortement la composition de leurs ressources.

Le deuxième objectif était de détecter des motifs dans une matrice d'interactions. J'ai utilisé un logiciel nommé Mfinder, basé sur un algorithme de détection qui simule des réseaux neutres ($n=1000$) dans lesquels les interactions sont distribuées de façon à conserver le nombre de liens, le nombre de nœuds et le nombre moyen de lien par nœud. Ces contraintes sur la conception des réseaux neutres étaient importantes pour générer des réseaux comparables à des réseaux trophiques. La fréquence d'occurrence des motifs du réseau trophique observé a ensuite été comparée à la fréquence moyenne d'occurrence des motifs dans tous les réseaux neutres. Différents seuils statistiques (*P*-value, *z*-score, Uniqueness et Mfactor) ont été appliqués pour comparer l'occurrence des motifs avec le modèle neutre. Les *z*-scores des différents motifs peuvent être représentés sous forme d'histogrammes, appelés « profil de significativité ». De cette façon nous avons pu établir les profils de significativité des motifs de taille 3 et 4, et détecter trois motifs de taille 4 hautement significatifs dans le réseau trophique de la bananeraie sur sol enherbé.

Le troisième objectif était de quantifier les forces d'interactions moyennes constitutives des trois motifs de taille 4 détectés hautement significatifs sur sol enherbé, pour déterminer les tendances relatives à la distribution des liens forts et faibles dans le réseau et la position du bioagresseur dans ces motifs. Nous avons mis au point un algorithme qui permet d'attribuer les forces d'interactions à chacun des motifs détectés dans le réseau observé, grâce à Mfinder qui fournit l'identité des espèces à chaque position des motifs détectés. Cette approche nous a permis de mettre en évidence l'asymétrie des forces d'interactions qui existe au sein de ces motifs, expliquée par la théorie de la niche écologique. J'ai aussi pu mettre en évidence la position de *C. sordidus* au sein de ces motifs, et conclure sur son statut de « proie préférée », qui est une condition pour le succès de sa régulation dans le cadre du concept de la compétition apparente.



Unequal distribution of strengths within key motifs shapes the structure of an agroecosystem food web

MOLLOT G.¹, TIXIER P.¹, LESCOURRET F.², DUYCK P.-F.¹, CANARD, E.¹

1 CIRAD, UR 26 Systèmes de culture à base de bananiers, plantains et ananas, PRAM CIRAD Petit Morne, BP 214, 97285 Le Lamentin cedex 2, Martinique, FWI.

2 INRA, UR 1115 Plantes et Systèmes de culture Horticoles, Domaine St. Paul, Site Agroparc, F-84914 Avignon Cedex 9, France.

Corresponding author:

Grégory MOLLOT

PRAM CIRAD Petit Morne, BP 214, 97285 Le Lamentin cedex 2, Martinique, FWI

Tel : +596 596 423 046

Fax : +596 596 423 001

E-mail: gregory.mollot@cirad.fr

ABSTRACT

1. The assemblage of trophic interactions shapes the complex structure of networks that contribute to the ecosystem functions and stability. Analysis of network motifs appears to be a useful tool to examine ecological functions of networks. Although combinations of size-3 network motifs has been found to be recurrent in food webs, larger motifs, such as size-4 motifs, have been weakly investigated in ecological networks, whereas it could enhance our understanding of networks functions.

2. Comprehensive studies that link structural element to ecological functions remain scarce in the literature due to the lack of suitable datasets. However, advances of DNA-based methods recently change and improve the way that trophic interactions are described and quantified from the nature.

3. In this paper, we used quantitative food webs of plants and arthropods in tropical agroecosystems to infer ecological functions with structural elements of the agroecosystem. We address this question comparing agroecosystems from similar environment but with contrasted plant managements, i.e. bare soil versus cover cropping managements.

4. Our results show that primary resource management has a major effect on the assembly of the interaction network. Particularly, three size-4 motifs were detected in the cover crop food web. Furthermore, the quantitative description of these three key motifs showed an unequal distribution of interaction strengths between the consumers and the resources.

5. Finally, we discussed the applications resulting from structural network analyses by examining the position of the main banana pest, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera, Curculionidae), within these motifs.

Key-words: food web, arthropods, cover crop, ecological niche, banana, dissimilarity of diet.

1. INTRODUCTION

Food webs refer to the ecological networks drawn with the set of trophic interactions that connect species together within an ecosystem (May, 1974a; Pimm *et al.*, 1991). Basically, in food webs, basal species (primary resources) transform CO₂ and mineral matter into organic matter that provides energy to primary consumers, and this energy propagates until top species, passing through intermediate species (Elton, 1927; Polis et Strong, 1996b). The assemblage of trophic interactions shapes the complex structure of networks and contributes to the ecosystem functions and stability (May, 1974b; Pimm, 2002). Much effort has been made to describe this structure through various statistical metrics (Bersier *et al.*, 2002), and recurrent patterns have arisen across many food webs (Ings *et al.*, 2009). In order to explore the mechanisms behind structural patterns, several food webs models have been proposed, mostly based on the ecological niche theory (Cattin *et al.*, 2004; Cohen *et al.*, 2003; Stouffer, 2010; Williams et Martinez, 2000), i.e. assuming that a consumer should feed on a range of resources belonging to lower niche values, compared to its own theoretical value (along a niche axis). These food web models have successfully reproduced many food web patterns (Williams et Martinez, 2008). However, it remains unclear which functions are associated with structural elements of networks, and how structural analyses of network may be useful to ecosystems management.

At a small scale of organization, analysis of network motifs appears to be a suitable tool to examine ecological functions of networks (Bascompte et Melian, 2005; Stouffer et Bascompte, 2010). Network motifs are size- n sub-graphs, in which n is the number of species involved (Milo *et al.*, 2002). Particular organization and functions of a network may be revealed by highlighting motifs that are significantly more frequent in the empirical network than in random networks. For instance, combinations of size-3 network motifs have been found to be recurrent in food webs, in particular, those reflecting well known ecological functions as apparent competition, exploitative competition, omnivory, and intraguild predation. Recent papers dealing with niche-based models have highlighted the ecological meaning of these primary building blocks of food webs (Bascompte et Melian, 2005; Stouffer *et al.*, 2007). Larger motifs, such as size-4 motifs, have been little investigated in ecological networks (but see Milo *et al.*, 2002), whereas it could enhance our understanding of food web by linking ecological functions of size-3 motifs.

Despite active researches conducted on ecological networks, comprehensive studies that link structural elements to ecological functions remain scarce in the literature due to the lack of suitable datasets. Notably, the description of real food webs often lacks accuracy, especially for the detection of weak interactions, due to the difficulty to observe feeding relationships in the nature. Consequently, one major limit of network structure analyses is the use of qualitative data (presence/absence), while quantitative datasets (weighted) shall enable a better description of trophic interactions, and improve the reliability of network motifs analysis. Moreover, weak interactions have been shown to have major importance in network stability (Berlow, 1999), that contribute to increase the need of new methods to measure feeding relationships.

Recently, trophic interactions in food webs can be described from the DNA metabarcoding approach, i.e. the combination of the large amount of DNA sequences generated by high throughput sequencing with the accuracy of DNA barcoding for taxa identification from the gut contents, and feces, of consumers (Pompanon *et al.*, 2012). This DNA metabarcoding approach brings the evidence of feeding relationships occurring in the nature, even for weak interactions. Furthermore, the DNA metabarcoding enables the quantification of the interaction strength (weighted link) by calculating the frequencies of individuals within a population found positive for a given resource. Another benefit with this approach lies in its ability to screen simultaneously the diet of thousands of individuals, which increase the reliability of analyses at the same time the cost is reduced. Mollot *et al.* (2012a) successfully applied the DNA metabarcoding method to describe trophic interactions between plants and arthropods in a banana agroecosystem.

In this paper, we used the quantitative description of the food webs of banana agroecosystems (Mollet *et al.*, 2012a), in order to infer ecological functions from the structural elements of the food web. We addressed this question by comparing food webs from agroecosystems with a similar environment but with contrasted plant managements, i.e. bare soil versus cover cropping managements. We first compared the global structure of the two food webs using new metrics of beta-diversity of interaction and by measuring the dissimilarity of diet arising from the change of habitat. Then, we focused on the detection of network motifs appearing significantly more than in random networks in relation to the management (bare soil vs. cover crop). Finally, we discussed the applications resulting from structural network analyses by examining the position of the main banana pest, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera, Curculionidae), within the motifs.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. DATASETS

We used the arthropods' food web of banana fields in Martinique obtained by 454 pyrosequencing of the gut contents of herbivorous and predaceous arthropods (Mollet *et al.*, 2012a). Quantitative interactions were measured in bare soil (BS in the following) and cover crop (CC in the following) management between plants, herbivores and predators. In the BS management, we measured 24 taxa linked by 54 trophic interactions, and primary producers were mainly banana plants and few spontaneous weeds. In the CC management, we measured 32 taxa linked by 78 trophic interactions, and primary producers were composed of banana plants, a major herbaceous weed (the cover crop), and several spontaneous weeds at lower densities. Herbivorous arthropods found in banana fields included Coleoptera (weevils and beetles), Diptera (flies, mosquitoes and midges), Hemiptera (stink bugs and leafhoppers), Orthoptera (field crickets), and Blattoptera (cockroaches). The predator level included Hymenoptera (ants), Coleoptera (rove beetles), Dermaptera (Caribbean earwig), Aranea (wolf spiders) and Scolopendra (centipedes). We performed the analysis on four food web datasets: the two original food webs, and their respective subsets in which only shared species are retained. Taxa composition between BS and CC differs at the plant level (7 vs. 10), at the herbivore level (8 vs. 13) and at the predator level (8 vs. 7). Subsets of both food webs enable to relax the effect of the diversity of taxa, and lead to food web of equal size (7 plants, 8 herbivores and 7 predators).

2.2. COMPARISONS OF NETWORK METRICS

We conducted a comparative analysis of the two arthropod food webs measured in BS and CC treatments. We first calculated classical metrics of network structure, including link density LD , connectance C , mean generality G and vulnerability V of taxa, using both binary and qualitative interactions (see Supplementary Materials Table S1 for more details). These metrics inform about the global structure of the network regardless to species identities. We then compared the interactions realized by species between the two networks measuring the beta-diversity of interaction, which is an application at the network level of the dissimilarity index for community introduced by Whittaker (1960). The difference of interactions between networks could be induced by the different taxa compositions in networks, and by differences of interactions between the same two taxa in distinct networks. In order to explore those two aspects of network dissimilarity, we conducted the analysis on (i) the two complete networks (CC and BS), and also (ii) on common sub-networks, i.e. networks with only taxa that were actually present in the two treatments (CC_{com} and BS_{com}). Differences arising from common sub-networks reveal changes in taxa interactions that are strictly related to the treatment and not to the taxa occurrence. We then scaled down at the species level, measuring the dissimilarity of interaction realized by each taxa occurring in both treatments, representing the diet dissimilarity for consumer taxa.

2.3. MOTIFS DETECTION AND SIGNIFICANCE

We explored the occurrence of all possible size-3 and size-4 network motifs occurring in the food webs with the Mfinder software (Kashtan *et al.*, 2005). The algorithm computed random networks ($n=1000$) with number of species and number of links as input parameters. To test the significance of the occurrence of a particular motif, the number of occurrences N_{real} of a motif in the real network is compared to the mean number of occurrences \bar{N}_{rand} in the set of randomized networks. This comparison yields the z-score for each detected motif:

$$z = \frac{N_{real} - \bar{N}_{rand}}{\sqrt{\sigma_{rand}^2}}$$

where σ_{rand}^2 is the variance of N_{rand} in the set of random networks. Note that random networks derived from a randomization of links between species while the number of links per species is maintained, providing a strong test for the motif detection. Then, we used three complementary thresholds to assess the significance of the motifs. The first one is the P -value (calculated from t test) associated to the z-score, which has to be below 0.01 for significance with 99% confidence according to Wong *et al.* (2012). The second one is the Uniqueness threshold U , set to 4; the uniqueness, which should be greater than U , is the number of occurrences of ‘independent’ motifs, i.e. motifs having completely different sets of nodes (Milo *et al.* 2002). The third one is the M-factor, set to 1.1; N_{real} should be greater than $\bar{N}_{rand} \times M$ according to Kashtan *et al.* (2005).

2.4. MOTIF ANALYSIS

We first examined the distribution of herbivory, predation, and intraguild predation interactions inside each significant motif. For that, we counted the number of occurrences of each interaction type (i.e. involving plants, herbivores and predators) inside the motifs. Then we assigned a strength value to each interaction of a given motif. The strength of interaction issued from the food web quantitative matrix established by the pyrosequencing of DNA barcodes of consumers’ gut contents. Within each motif, we sorted the interactions strength in descending order and calculated their mean values. In order to produce comparable values in the same motif, we normalized interaction strength according to the consumer. Finally, we examined the positions of *Cosmopolites sordidus* within the size-4 motifs, among the four possible positions as consumer (C) of plants taxa, and as resource (R) for predators.

3. RESULTS

3.1. FOOD WEB STRUCTURE CHANGES WITH PLANT MANAGEMENT

The network reported in the cover crop management was richer in terms of species number ($S_{CC} = 32$, **Figure 1, Table S1**) and number of interactions ($L_{CC} = 78$) than the one from the bare soil management ($S_{BS} = 25$; $L_{BS} = 54$). It displayed a slightly higher number of interaction per species ($LD_{CC} = 2.44$; $LD_{BS} = 2.16$) and a lower connectance ($C_{CC} = 0.08$; $C_{BS} = 0.09$), as expected for a richer network (Schmid-Araya *et al.*, 2002). In terms of species community composition, all taxa except *Staphylinidae* found in the BS were also found in the CC. Mean generality was equal in both managements ($G = 4.9 \pm 0.02$), but species from the common pool showed a lower generality in the CC ($G_{CC} = 4.0$; $G_{BS} = 5.1$). Mean vulnerability was higher in the CC considering overall species or only shared species ($V_{CC} = 3.9$ and $V_{BS} = 3.0$, and $V_{CC} = 3.5$ and $V_{BS} = 2.8$, respectively). We found dissimilarities of interaction between managements when considering interactions of the entire networks ($\beta = 0.48$) or interactions of the common sub-networks ($\beta_{COM} = 0.34$). At the species level, we found that each taxon contributed differently to those dissimilarities of interaction (**Figure 2; Figure S1**), from taxa having a constant diet (*Alegoria castelnaui* with $\beta_{COM} = 0$, *Euborellia carai-bea* with $\beta_{COM} = 0.08$ and only one of the seven prey items changing in relation with the primary

resources management) to taxa having three-quarters of their diet changed: the diets of *Ondontomachus bauri* ($\beta_{COM} = 0.75$) and of *Wasmannia auropunctata* ($\beta_{COM} = 0.67$) changed from seven and five species consumed in the bare soil treatment, respectively, to only one species consumed in the cover crop treatment. The banana weevil (*C. sordidus*) exhibited a high dissimilarity of diet ($\beta_{COM} = 0.56$, with only two of the seven plant species consumed in the cover crop treatment consumed in the bare soil treatment) compared to other herbivore taxa ($0 < \beta_{COM} < 0.27$).

3.2. SIGNIFICANT MOTIFS ARE DETECTED ONLY IN THE COVER CROP FOOD WEB

For complete food webs, the CC showed high values of z-scores for size-3 motifs related to tri-trophic chain (S1), apparent competition (S4), and exploitative competition (S5), and low values for omnivory (S2), while no significant motif was detected in BS (**Figure 3**). Interestingly, this trend held when comparing the common food webs. For size-4 motifs, we observed the same trend of higher occurrence of motifs in CC than in BS, in both complete and common food webs (**Figure S2**).

While no size-4 motif was found highly significant in the bare soil food web, we detected three ones in the cover crop food web: “bi-fan”, “generalism”, and “vulnerability” motifs (**Table 1**). The “bi-fan” motif was the most frequent (frequency=17.4% of all the detected motifs); it is composed of two consumers feeding on two resources. The “generalism” motif, with one consumer feeding on three resources, was detected at the frequency of 15.2%. The “vulnerability” motif, with three consumers sharing the same resource, was detected at the frequency of 14.4%.

3.3. HERBIVORY IS HIGHLY INVOLVED IN KEY SIZE-4 MOTIFS

Among the 3192 interactions featured within the three size-4 motifs (detected highly significant), 3106 interactions were related to herbivory (**Table 1**). Predation was mostly represented in the “generalism” motif as a predator feeding on three herbivores (56 interactions), while we detected a unique “bi-fan” motif including predation interactions. Intraguild predation was detected both in the “generalism” motif and in the “vulnerability” motif.

3.4. DISTRIBUTION OF INTERACTION STRENGTHS WITHIN KEY SIZE-4 MOTIFS

In the quantitative “bi-fan” motif, we found that one consumer exploited significantly more often one of the two resources (approximately 70% vs. 30%, **Table 2**), whereas the second consumer equally consumed the two resources (approximately 53% vs. 47%). The quantitative “generalism” motif was composed of a strong interaction (54.4%), an intermediate interaction (30.4%), and a weak interaction (15.6%). The distribution of interaction strength in the “vulnerability” motif displayed a slightly decreasing order of frequency for the three interactions (**Table 2**).

The higher occurrence of *C. sordidus* inside the quantitative motifs was always associated with the higher interaction strength (**Figure 4**). In the “bifan”, we found *C. sordidus* occurring more frequently as the main consumer (C1) than in C2 (97 times vs. 11), and was never reported in a resource position. In the “generalism” and in the “vulnerability” motifs, the banana weevil was found mainly in position C1.

4. DISCUSSION

The two arthropod food webs, differing by the management of primary resources, displayed altered set of interactions. While variation observed in taxa community compositions partially explained these differences, we still found dissimilarity of interactions between the two common food webs, showing that

same species pairs interact differently in the two managements. This suggests that the new habitat created by the addition of the cover crop in the agroecosystem can considerably change the foraging behavior of species. Interestingly, species contributed to the dissimilarity of interaction with different amplitudes, illustrating the different abilities of species in an ecosystem to adapt their diet to perturbations. For instance, ants species *Odontomachus bauri* and *Wasmannia auropunctata* strongly switched to different prey items when habitat changed. In this specific case, ants hunted more other arthropods (protein-rich food) in the bare soil than in the cover crop management probably because of the greater accessibility of these prey items when the soil is kept free from any spontaneous weeds and others plant. Under cover cropping, there are more hiding locations for arthropods that enable them to avoid predation, whereas predators should feed more frequently on vegetal materials to maintain their nutrient intake. Surprisingly, adults of the banana weevil (*C. sordidus*) exhibited a high dissimilarity of diet compared to other herbivore taxa ($0 < \beta_{COM} < 0.27$). Although this pest were considered to feed exclusively on banana materials (Gold *et al.*, 2001), Mollot *et al.* (2012a) showed that adults can forage on a variety of resources. Here, our results support the hypothesis that the adults of banana weevil can also adapt their diet depending on the primary resources management, which could interfere with the positive effect of cover crop observed on the predation rate of eggs of banana weevil (Mollot *et al.*, 2012b). On the other hand, adults are assumed to feed rarely, and can stay without food for several months (Gold *et al.*, 2001), whereby the feeding behavior of adults should not have major impact on weevil populations.

We found that primary resource management (adding a cover crop) had major effects on the structure of the interaction network. First, size-3 motifs profile of the bare soil food web did not differ from the profiles obtained with random networks. In the cover crop management, the structure of the food web is built with the tri-trophic chain, the apparent competition, and the exploitative competition, and the omnivory is avoided. This size-3 motifs profile in cover crop management matches the profile of 6 food webs analyzed by Stouffer *et al.* (2007). As found for these 6 food webs, an under-representation of the omnivory goes against prediction of both generalized cascade and niche models. However, depending on the authors and the food webs analyzed (Bascompte et Melian, 2005; McCann *et al.*, 1998; Stouffer *et al.*, 2007), omnivory is expected to have stabilizing or destabilizing impact on the food web structure. Here, the lack of omnivory interactions as structural element of our food webs may be due to the ‘artificial’ nature of agricultural systems.

Second, the structure of the cover crop food web displayed particular size-4 motifs, including the “bi-fan”, the “generalism”, and the “vulnerability” motifs, which appeared to be important structural elements of the agroecosystem network. Typically, the “bi-fan” motif was found significant in other types of network, including transcriptional gene regulation, neurons, and electronic circuits (Milo *et al.*, 2002). Thus, the cover cropping seemed to contribute to a stronger structuration of the interaction network than did the bare soil management. We can assume that the restoration of the structure of the food webs of agroecosystems through primary resources management may be interesting when facing to perturbations. The underlying hypothesis is that the stability of networks is linked to the relative abundance of network motifs (Prill *et al.*, 2005). Remarkably, S4 and S5 are the building blocks of the “bi-fan” motifs, showing the prevalence and the association of apparent competition and exploitative competition in our food webs. The association between these two ecological functions is promoted when cover cropping is practiced in the plot.

In terms of network functions, herbivory interactions were strongly involved in the three main size-4 motifs (especially in the “bi-fan” motifs) unlike predation and intraguild predation interactions. This could be explained by the high vulnerability of plants, illustrating the generalist behavior of herbivore taxa found in the banana agroecosystem. That could demonstrate that predation events are opportunistic, while herbivores having a lower access to protein must consume plants more frequently. This complex structuration at the level of herbivory interactions suggests the importance of bottom-up effects on food web structure and functions, as showed by Scherber *et al.* (2010a). This emphasizes that even a moderate

difference in plant richness between bare soil and cover crop managements radically changes the structure of the whole food web.

The quantitative description of three main size-4 motifs shows the unequal distribution of interaction strengths between the consumers and the resources. The quantitative “bi-fan” motif exhibited that one consumer had a preferred prey (70% and 30%), while the second consumer had not (50% and 50%). This structure enables the distribution of strong and weak interactions over the entire food web (McCann *et al.*, 1998; Rooney *et al.*, 2006). This asymmetry is consistent with the prediction of the niche theories (**Figure 5**). While feeding on the same species, consumers do it with different frequencies according to their niche and to the niche value of resources. This asymmetry of interaction strength is clearly interesting to restore a natural regulation of the main banana pest (*Cosmopolites sordidus*). In the generalism motif, *C. sordidus* was always the preferred resource. The status of a pest as “the preferred resource” was shown as a central aspect of the success of its regulation (Evans et England, 1996; Koss et Snyder, 2005; Polis et Strong, 1996b). Since Mollot *et al.* (2012b) showed that *C. sordidus* is involved in apparent competition with other herbivores through generalist predators, this study support the feasibility of the top-down control of this pest by generalist predators. Furthermore, the asymmetry of herbivory interactions when *C. sordidus* was in a consumer position (in bi-fan and generalism motifs) showed that basal resource management can be essential for the bottom-up control of the pest.

Our study illustrates the interest of the network motif approach to inform on the structure of food webs. The quantitative analysis of motifs revealed the unequal distribution of interaction strengths in the food web. Such patterns of food web organization have often been told to increase community stability (Rooney *et al.*, 2006). We showed the importance of primary resources on the structuration and functions of food webs. This suggests that the analysis of agroecosystem’ food webs can help identifying the strategies of primary resources management that could favor natural pest regulation.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research is a part of a Ph.D funded by the CIRAD, and by the project "sustainable cropping systems design" from E.U. FEFER (grant PRESAGE n°30411).

REFERENCES

References

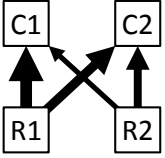
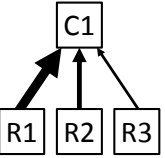
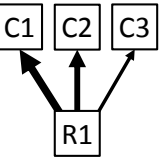
- Bascompte, J. & Melian, C. J. (2005) *Simple trophic modules for complex food webs*. *Ecology*, **86**, 2868-2873.
- Berlow, E. L. (1999) *Strong effects of weak interactions in ecological communities*. *Nature*, **398**, 330-334.
- Bersier, L. F., Banašek-Richter, C. & Cattin, M. F. (2002) *Quantitative descriptors of food-web matrices*. *Ecology*, **83**, 2394-2407.
- Cattin, M. F., Bersier, L. F., Banasek-Richter, C., Baltensperger, R. & Gabriel, J. P. (2004) *Phylogenetic constraints and adaptation explain food-web structure*. *Nature*, **427**, 835-839.
- Cohen, J. E., Jonsson, T. & Carpenter, S. R. (2003) *Ecological community description using the food web, species abundance, and body size*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 1781-1786.
- Elton, C. (1927) *Animal Ecology*. Chicago, IL, USA.
- Evans, E. W. & England, S. (1996) *Indirect interactions in biological control of insects: Pests and natural enemies in alfalfa*. *Ecological Applications*, **6**, 920-930.
- Gold, C. S., Pena, J. E. & Karamura, E. B. (2001) *Biology and integrated pest management for the banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae)*. *Integrated Pest Management Reviews*, **6**, 79-155.
- Ings, T. C., Montoya, J. M., Bascompte, J., Bluthgen, N., Brown, L., Dormann, C. F., Edwards, F., Figueroa, D., Jacob, U., Jones, J. I., Lauridsen, R. B., Ledger, M. E., Lewis, H. M., Olesen, J. M., van Veen, F. J. F., Warren, P. H. & Woodward, G. (2009) *Ecological networks - beyond food webs*. *Journal of Animal Ecology*, **78**, 253-269.
- Kashtan, N., Itzkovitz, S., Milo, R. & Alon, U. (2005) Mfinder v.1.2. (ed[^](eds.
- Koss, A. M. & Snyder, W. E. (2005) *Alternative prey disrupt biocontrol by a guild of generalist predators*. *Biological Control*, **32**, 243-251.
- May, R. M. (1974a) *On the theory of niche overlap*. *Theoretical Population Biology*, **5**, 297-332.
- May, R. M. (1974b) *Stability and Complexity in Model Ecosystems*. Princeton University Press, Princeton.
- McCann, K., Hastings, A. & Huxel, G. R. (1998) *Weak trophic interactions and the balance of nature*. *Nature*, **395**, 794-798.
- Milo, R., Shen-Orr, S., Itzkovitz, S., Kashtan, N., Chklovskii, D. & Alon, U. (2002) *Network motifs: Simple building blocks of complex networks*. *Science*, **298**, 824-827.
- Mollot, G., Duyck, P. F., Canard, E., Lescourret, F., Martin, J.-F., Piry, S. & Tixier, P. (2012a) *Metabarcoding on arthropods diet: technical issues and the quantitative food web of bananas*. *Soumis à Methods in Ecology and Evolution*, **XX**, XX-XX.
- Mollot, G., Tixier, P., Lescourret, F., Quilici, S. & Duyck, P. F. (2012b) *New primary resource increases predation on a pest in a banana agroecosystem*. *Agricultural and Forest Entomology*.
- Pimm, S. L. (2002) *Food Webs*. The University of Chicago Press, Chicago.

- Pimm, S. L., Lawton, J. H. & Cohen, J. E. (1991) *Food web patterns and their consequences*. *Nature*, **350**.
- Polis, G. A. & Strong, D. R. (1996) *Food web complexity and community dynamics*. *American Naturalist*, **147**, 813-846.
- Pompanon, F., Deagle, B. E., Symondson, W. O. C., Brown, D. S., Jarman, S. N. & Taberlet, P. (2012) *Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing*. *Molecular Ecology*, **21**, 1931-1950.
- Prill, R. J., Iglesias, P. A. & Levchenko, A. (2005) *Dynamic properties of network motifs contribute to biological network organization*. *PLoS Biology*, **3**, 1881-1892.
- Rooney, N., McCann, K., Gellner, G. & Moore, J. C. (2006) *Structural asymmetry and the stability of diverse food webs*. *Nature*, **442**, 265-269.
- Scherber, C., Eisenhauer, N., Weisser, W. W., Schmid, B., Voigt, W., Fischer, M., Schulze, E. D., Roscher, C., Weigelt, A., Allan, E., Beler, H., Bonkowski, M., Buchmann, N., Buscot, F., Clement, L. W., Ebeling, A., Engels, C., Halle, S., Kertscher, I., Klein, A. M., Koller, R., König, S., Kowalski, E., Kummer, V., Kuu, A., Lange, M., Lauterbach, D., Middelhoff, C., Migunova, V. D., Milcu, A., Müller, R., Partsch, S., Petermann, J. S., Renker, C., Rottstock, T., Sabais, A., Scheu, S., Schumacher, J., Temperton, V. M. & Tschardtke, T. (2010) *Bottom-up effects of plant diversity on multitrophic interactions in a biodiversity experiment*. *Nature*, **468**, 553-556.
- Schmid-Araya, J. M., Schmid, P. E., Robertson, A., Winterbottom, J., Gjer v, C. & Hildrew, A. G. (2002) *Connectance in stream food webs*. *Journal of Animal Ecology*, **71**, 1056-1062.
- Stouffer, D. B. (2010) *Scaling from individuals to networks in food webs*. *Functional Ecology*, **24**, 44-51.
- Stouffer, D. B. & Bascompte, J. (2010) *Understanding food-web persistence from local to global scales*. *Ecology Letters*, **13**, 154-161.
- Stouffer, D. B., Camacho, J., Jiang, W. & Amaral, L. A. N. (2007) *Evidence for the existence of a robust pattern of prey selection in food webs*. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **274**, 1931-1940.
- Whittaker, R. H. (1960) *Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California*. *Ecological Monographs*, **30**, 279-338.
- Williams, R. J. & Martinez, N. D. (2000) *Simple rules yield complex food webs*. *Nature*, **404**, 180-183.
- Williams, R. J. & Martinez, N. D. (2008) *Success and its limits among structural models of complex food webs*. *Journal of Animal Ecology*, **77**, 512-519.
- Wong, E., Baur, B., Quader, S. & Huang, C. H. (2012) *Biological network motif detection: Principles and practice*. *Briefings in Bioinformatics*, **13**, 202-215.

Table 1. Detection of size-4 network motifs in the cover crop food web. The table displays the number of occurrences of motifs found significantly more present in the real food webs than in random networks of equal size ($n_{\text{rand}}=1000$, $U>3$, $m_{\text{factor}}>1.1$). Percentage values under brackets report the percentage of the corresponding motif among the total number of motifs found in the real food webs. The columns H (herbivory), P (predation) and IGP (intraguild predation) display the number of occurrences of the corresponding interaction inside the motifs.

	Obs.	Mean Random	SD Rando m	P value	z score	H	P	IGP
	351 (17.4%)	138.9	15.6	<0.001	13.56	1400	2	2
	307 (15.2%)	249.7	13.3	<0.001	4.29	851	56	14
	290 (14.4%)	206.1	13.5	<0.001	6.22	855	0	12

Table 2. Quantitative analyses of size-4 motifs detected highly significant in the cover crop food web. The table displays the percentage (mean \pm SE) of the standardized mean interaction strength for each pairwise interaction.

Motifs	Management	Standardized mean interaction strength			
		R1C1	R2C1	R1C2	R2C2
	Cover crop	71.30 \pm 0.65	28.70 \pm 0.65	52.56 \pm 1.35	47.44 \pm 1.35
		R1C1	R2C1	R3C1	
	Cover Crop	54.40 \pm 1.21	30.02 \pm 0.85	15.57 \pm 0.57	
		R1C1	R1C2	R1C3	
	Cover Crop	42.60 \pm 0.86	35.84 \pm 0.52	21.56 \pm 0.54	

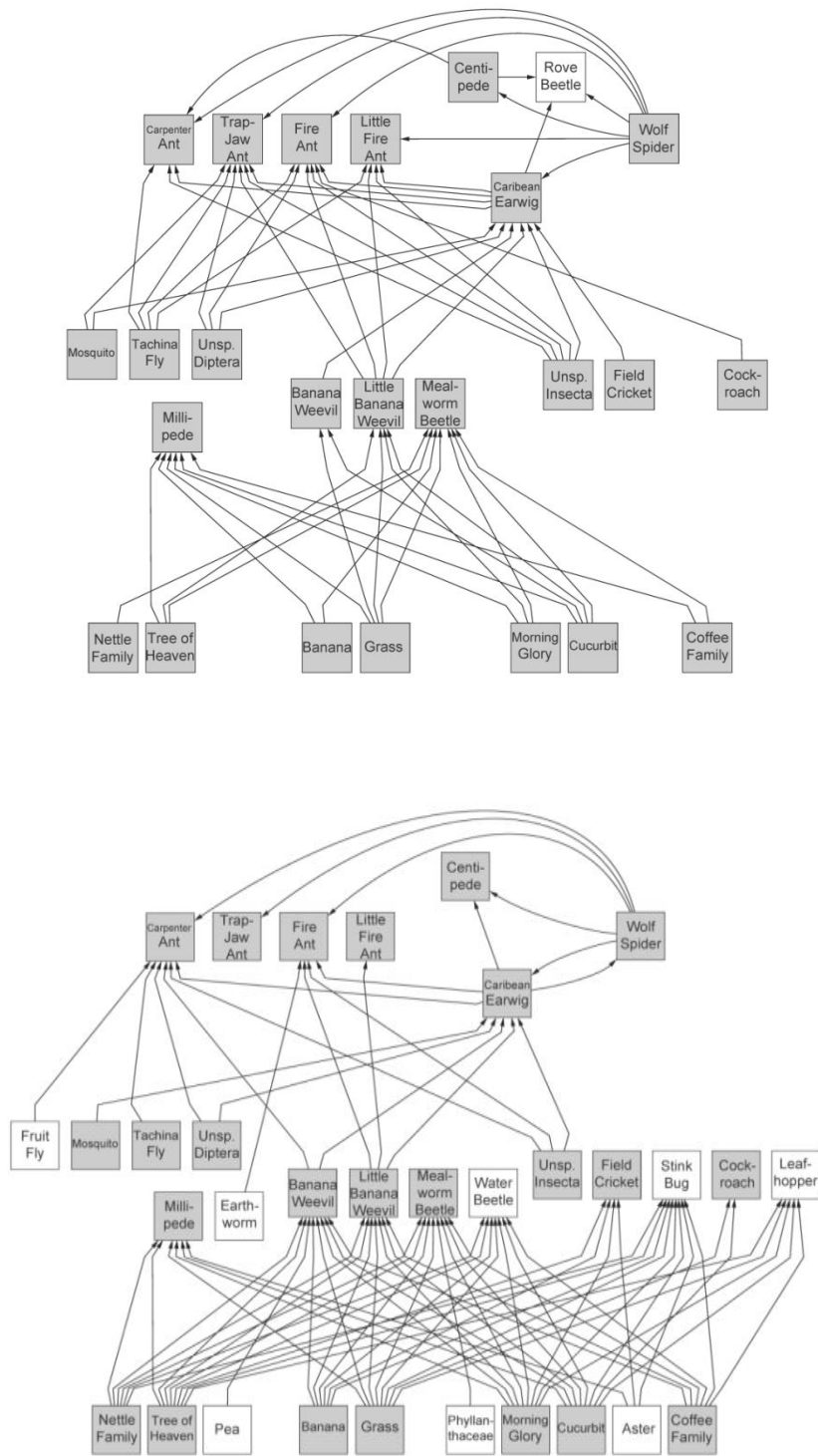


Figure 1. Arthropods food webs measured in banana field with A) bare soil management, and B) cover crop management. Boxes represent taxa, and directed arrows represent the direction of the flow of matter (trophic interaction). All links have been determined by 454 pyrosequencing (Roche, Switzerland) and DNA barcoding of consumer gut contents. Grey boxes represent taxa shared by both food webs, while white boxes represent unshared taxa.

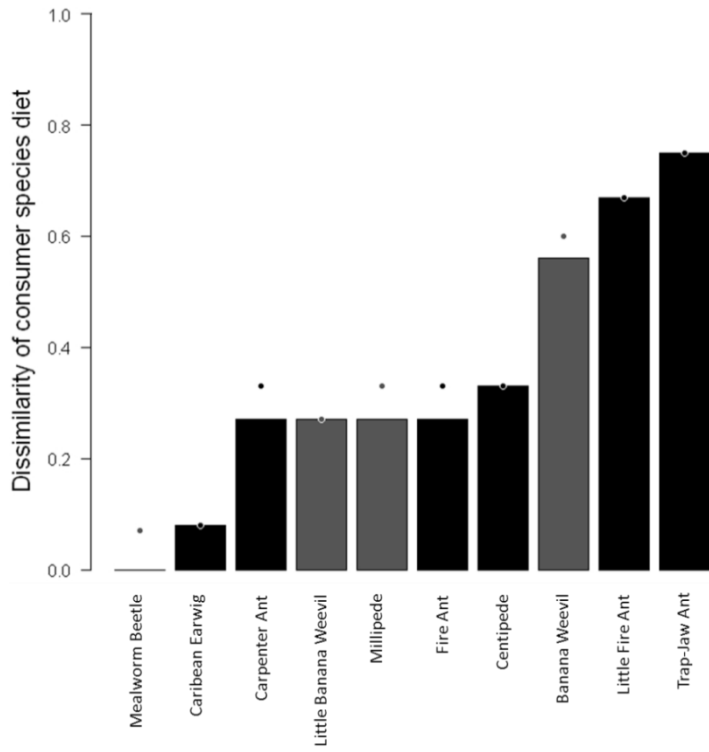


Figure 2. Dissimilarity of consumer’s species diets realized between the cover crop and the bare soil treatments. Diet of herbivore (grey) and predator (black) species are calculated between common sub-networks composed of the same species set in both treatments (bars), and between the entire networks of each treatment (points).

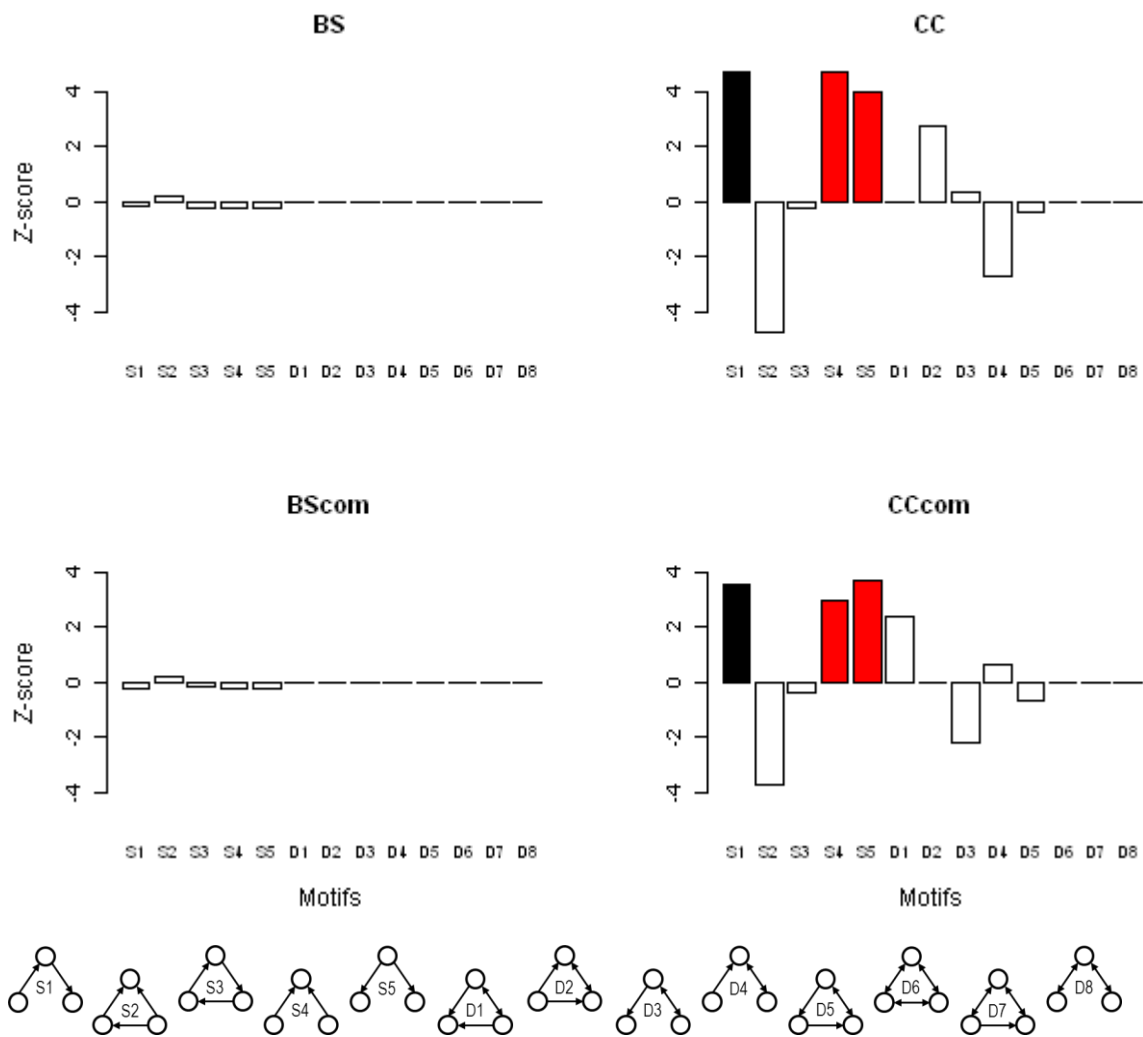


Figure 3. Z-score for each size-3 motif found in the whole BS and CC network, and in the common sub-networks BS_{com} and CC_{com}. Colors indicate whether the motif was not significant (white bars), significant according to the P-value (black bars) or significant according to the p-value and displayed a uniqueness value U greater than 4 (red bars).

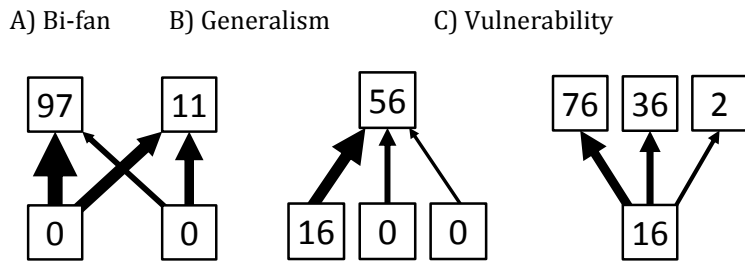


Figure 4. Position of the weevil within the three significant size-4 motifs found in the cover crop food web. Upper boxes represent the consumer position, and lower boxes represent the resource position. Directed arrows represent the direction of the flow of matter (trophic interactions), and the width of arrows is related to the average strength of the interaction. The number inside each box is the number of occurrences of the banana weevil at each position.

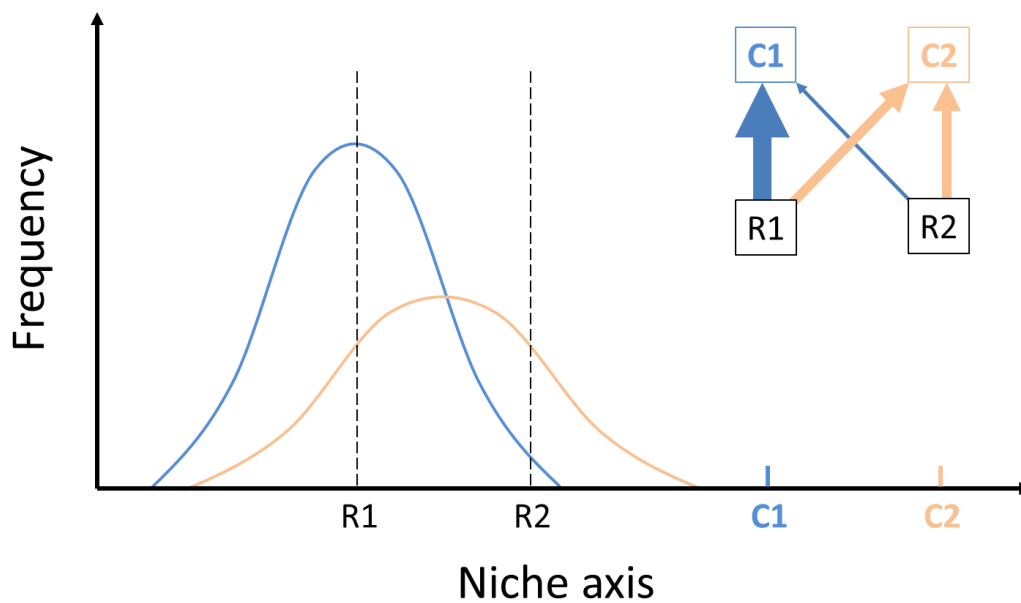


Figure 5. Schema of resource niches overlapping. The graph shows the frequency of consumption of resources R for consumers C as a function of the niche axis, which represents an ecological niche value for each species.

SUPPLEMENTARY MATERIALS

Table S1. Structure of networks from A) binary and B) quantitative interactions. Qualitative structure is described with the number of species S in the network, the number of interaction L , the interaction density per species Ld , the direct connectance C and the corrected connectance C_{cor} (connectance calculated by excluding cannibalistic links and primary resources links as consumers), the mean and the standard deviation of species generality G and G_{sd} , the mean and the standard deviation of species vulnerability V and V_{sd} . Quantitative structure index are quantitative equivalents of binary indices according to Bersier et al (2002), and IE is the interaction evenness as introduced by Tylianakis et al (2007).

A) QUALITATIVE STRUCTURE

	S	L	Ld	C	C_{cor}	G	G_{sd}	V	V_{sd}
BS	25.00	54.00	2.16	0.09	0.21	4.91	2.17	3.00	1.68
CC	32.00	78.00	2.44	0.08	0.16	4.88	2.68	3.90	2.73
BS_{COM}	24.00	51.00	2.13	0.09	0.22	5.10	2.18	2.83	1.54
CC_{COM}	24.00	52.00	2.17	0.09	0.17	4.00	2.45	3.47	1.46

B) QUANTITATIVE STRUCTURE

	S	L	Ld	C_q	G	V	IE
BS	25.00	43.08	1.72	0.07	1.61	1.83	0.91
CC	32.00	63.35	1.98	0.06	1.84	2.12	0.89
BS_{COM}	24.00	40.89	1.70	0.07	1.57	1.84	0.90
CC_{COM}	24.00	42.19	1.76	0.07	1.63	1.89	0.88

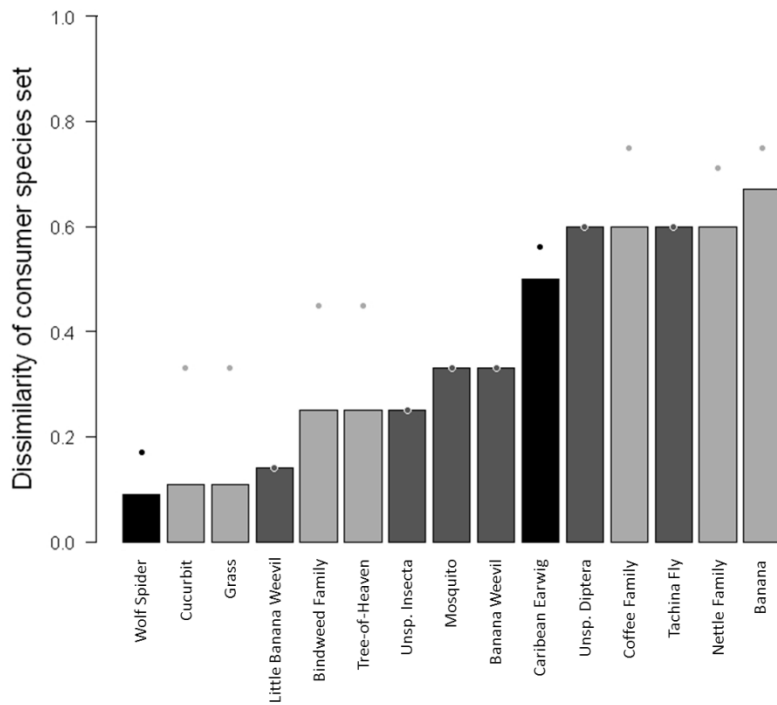


Figure S1. Dissimilarity of interactions set for each resource taxa between the cover crop and the bare soil treatment. The dissimilarity of consumer for plant (grey), herbivore (dark grey) and predator (black) species are calculated between common sub-networks composed of the same taxa set in both management (bars), and between the entire networks of each management (points).

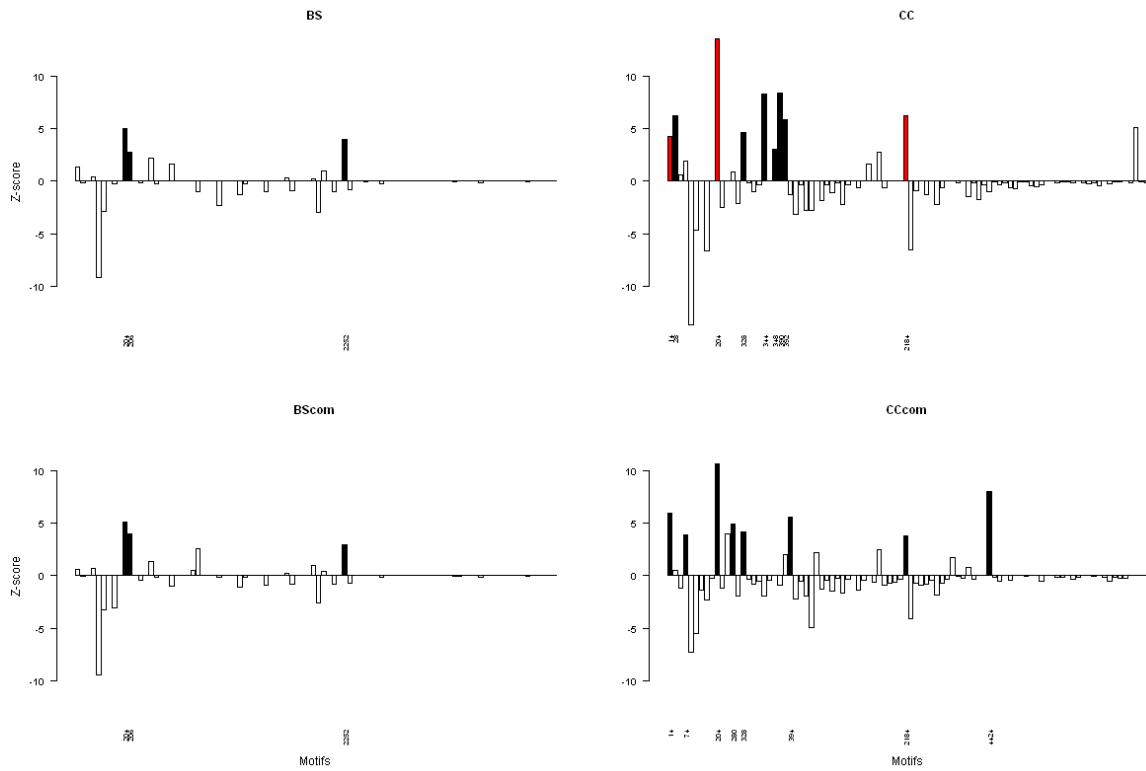


Figure S2. Z-score for each size-4 motifs found in the whole BS and CC network, and in the common sub-networks BS_{com} and CC_{com}. Colors indicate whether the motif is no significant (white bars), significant according to the p-value (black bars) or significant according to the p-value and display a uniqueness value U greater than 4 (red bars). Motifs for which the Z-score were null for the 4 networks are hidden in the profile (107 motifs), and name of no significant motifs are not shown.

CHAPITRE IV - DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION

1. LES APPORTS DE LA THESE

L'objectif général de la thèse était de comprendre l'effet de la structure du réseau trophique de la bananeraie sur la régulation de *C. sordidus*, en lien avec la gestion du couvert végétal. Premièrement, pour déterminer si la prédation des œufs de *C. sordidus* était bien assurée de façon efficace par les prédateurs généralistes naturellement présents dans le champ, il était nécessaire de mesurer le taux de prédation des œufs de *C. sordidus* en conditions réelles. Deuxièmement, pour déterminer le régime alimentaire de chaque espèce et construire le réseau trophique, nous avons échantillonné un large spectre de la diversité des plantes et des arthropodes des bananeraies. Nous avons ensuite caractérisé le régime alimentaire des herbivores et des prédateurs par une analyse moléculaire de leurs contenus stomacaux. Enfin, une analyse de la structure des réseaux trophiques de la bananeraie (en sol nu et en sol enherbé) a permis de détecter les éléments de structure dans lesquels *C. sordidus* était impliqué, et l'influence de la couverture végétale sur la structuration et le fonctionnement du réseau.

1.1. RELATIONS ENTRE GESTION DES RESSOURCES PRIMAIRES ET LA REGULATION DE *C. SORDIDUS*

1.1.1. SYNTHÈSE DES RESULTATS

Ce travail nous a permis de démontrer que la plante de couverture a eu pour effet de provoquer un changement de régime alimentaire des prédateurs, d'augmenter leurs abondances et d'augmenter les taux de prédation du bioagresseur. En effet, les résultats montrent que *S. geminata* a changé de régime alimentaire suite à l'ajout de la plante de couverture. L'analyse statistique montre un effet du traitement (sol nu ou sol enherbé) sur la valeur du $\delta^{13}\text{C}$ de *S. geminata*. Ces résultats suggèrent que *S. geminata* utilise des proies alternatives, supportées par la plante de couverture. Des échantillonnages supplémentaires à l'aide d'un aspirateur ont permis d'identifier des cicadelles (Homoptera, Cicadellidae) comme proies alternatives potentielles.

Deux méthodes de piégeage ont permis d'estimer les abondances de *S. geminata* dans nos 2 sites, et dans chacun des traitements : les pièges à fosse (pitfall trap) et les pièges à pseudotrunc. Dans les 2 cas, les résultats montrent que l'abondance de *S. geminata* est toujours plus élevée dans les parcelles enherbées par rapport aux parcelles sur sol nu, quel que soit le site ou la méthode de piégeage. Nous faisons l'hypothèse que cette augmentation est liée à la disponibilité des cicadelles comme proies alternatives. En plus d'être potentiellement une proie pour *S. geminata*, les cicadelles produisent du miellat qui peut favoriser l'augmentation d'abondance du prédateur.

L'augmentation d'abondance du prédateur se traduit par une prédation plus forte du bioagresseur. Nous avons estimé les taux de prédation des œufs de *C. sordidus* par les prédateurs généralistes au champ en infestant artificiellement des bulbes de bananier. Les résultats montrent que les taux de prédation sont 1.8 fois plus élevés sur sol enherbé que sur sol nu à Rivière Lézarde, et 6.3 fois plus élevés à l'Habitation Leyritz. L'analyse statistique montre un effet du traitement ($\Delta Dev_{1,74}=35.9$, $P<0.001$) et du site

($\Delta Dev_{1,73}=59.4$, $P<0.001$). Bien que la prédation par les différentes espèces de prédateurs n'ait pas été quantifiée, nous avons observés *S. geminata* déplaçant les œufs de *C. sordidus* de bulbes artificiellement infestés.

1.1.2. IMPLICATIONS POUR LA REGULATION DE *C. SORDIDUS*

Cette étude montre que la prédation des œufs de *C. sordidus* est plus importante lorsqu'une plante de couverture est ajoutée au système, et que *S. geminata* est fortement impliquée dans la régulation de *C. sordidus*. L'étude suggère que l'addition de la plante de couverture augmente la prédation des œufs de *C. sordidus* en changeant le régime alimentaire du prédateur et en permettant son augmentation en nombre, via une proie alternative. Un changement de régime alimentaire suite à l'augmentation des ressources alternatives a été documenté pour différentes espèces (Duyck *et al.*, 2011a; Kuusk et Ekbohm, 2010; Messelink *et al.*, 2010; Wise *et al.*, 2006). De plus, Duyck *et al.* (2011a) ont démontré un changement de la position trophique des prédateurs généralistes de la bananeraie avec l'ajout d'une plante de couverture. La compétition apparente est le mécanisme sous-jacent qui permet d'expliquer l'effet de la plante de couverture sur l'augmentation de la régulation du bioagresseur. Le charançon du bananier et les proies alternatives sont en compétition indirecte par l'intermédiaire des ennemis naturels qu'elles partagent. Une diversification des ressources des prédateurs généralistes est essentielle pour obtenir une composition optimale des différents nutriments (Kuusk et Ekbohm, 2010). Le succès de l'augmentation de la prédation de *C. sordidus* est dépendant de son statut de proie préférentielle pour les prédateurs. En effet, il a été montré que le statut de proie préférentielle est une condition importante pour le succès du contrôle biologique (Evans et England, 1996; Koss et Snyder, 2005; Polis et Strong, 1996b). Une application intéressante de ces résultats serait de favoriser l'augmentation du nombre de prédateurs généralistes dans une parcelle en jachère en pratiquant une couverture végétale. Au moment de la plantation des bananiers, la tonte de la plante de couverture diminuerait la quantité de proies alternatives, tout en maintenant une abondance de prédateurs élevée, ce qui exercerait une pression de prédation élevée sur *C. sordidus*. Les recherches futures devront identifier les proies alternatives supportées par différentes plantes de couverture, et quantifier la contribution de chacune des espèces prédatrices au contrôle de *C. sordidus*.

1.1.3. PORTEE GENERALE DES RESULTATS

D'une manière générale, cette étude illustre les effets de la diversification végétale sur les communautés d'arthropodes dans un agroécosystème. Ces effets se traduisent par une augmentation de l'abondance des prédateurs généralistes et une modification de leur régime alimentaire, ce qui peut avoir des conséquences importantes sur la régulation des organismes phytophages. Par l'action conjointe des régulations bottom-up et top-down (Elton, 1927; Rosenheim, 1998), la restauration de la diversité végétale dans les agroécosystèmes constitue une application de complexification écologique qui vise à favoriser les processus de régulation naturelle des communautés (Simon *et al.*, 2009).

1.2. APPLICATIONS DU PYROSEQUENÇAGE POUR L'ETUDE DES RESEAUX TROPHIQUES

1.2.1. SYNTHÈSE DES RESULTATS

L'approche moléculaire permettant d'identifier les liens trophiques qui a été développée combine l'avantage du grand nombre de séquences d'ADN générées par le séquençage haut-débit (technologie 454) avec le concept des codes-barres à ADN. Les nouvelles techniques de séquençage haut débit permettent

d'obtenir un mélange de séquences cibles issues d'un même échantillon. Un échantillon correspond au contenu stomacal d'un spécimen. En calculant le nombre d'individus de la population échantillonnée révélés positifs pour les ressources, nous avons pu quantifier la force des interactions trophiques. L'application de cette méthode nous a permis de construire le réseau trophique de la bananeraie, composé de 33 taxa végétales et animales, qui sont connectées par 98 interactions trophiques. Le marqueur *trnL* a permis d'identifier 6 familles et 4 espèces de plantes. Le marqueur *mini-CO1* a permis d'identifier plusieurs taxa dont 60,5% au rang de l'espèce, 13,9% au genre, 13,9% à la famille et 11,6% à des rangs taxonomiques supérieurs. Parmi ces taxa, des micro-organismes ont été identifiés dont des amibes, des nématodes, des acariens, des rotifères, des diatomées, des chlorophytes, et des oomycètes. Ces micro-organismes peuvent être des exo- ou des endoparasites, ou des proies ingérées. Les métriques calculées sur le réseau trophique ont montré que 9% des interactions possibles étaient effectivement réalisées (Connectance = 0,09), que les espèces sont impliquées dans 3 interactions en moyenne (Densité de Lien = 2,97), et que les consommateurs sont plus impliqués dans des interactions trophiques que les ressources (Généralité > Vulnérabilité). L'analyse quantitative a révélé une forte hétérogénéité de la distribution de la force des interactions au sein du réseau (Homogénéité des interactions = 0,90). Concernant la force des interactions, les interactions faibles prédominent dans le réseau puisque 34,02% et 49,48% du nombre total des interactions avaient des fréquences de consommation inférieures à 5% et à 10%, respectivement. À l'inverse les interactions fortes sont plutôt rares, car seulement 2,06% et 1,03% du nombre total des interactions avaient des fréquences de consommation supérieures à 50% et à 75%, respectivement.

Le pyroséquençage associé au code-barres à ADN est une méthode efficace pour décrire un réseau multitrophique complexe. La plus grande force de cette démarche est de pouvoir sonder le régime alimentaire des individus sans aucun *a priori* (Pompanon *et al.*, 2012). En revanche, nous avons été confrontés à des difficultés techniques comme le faible nombre de séquences de *trnL* qui ont été assignées à une famille de plantes. De plus, aucun hyménoptère n'a été séquencé pendant cette expérience, nous n'avons donc pas pu quantifier la prédation sur les fourmis, qui joue probablement un rôle important dans la régulation de toutes les communautés du système. Les études futures devront se concentrer sur l'identification des prédateurs des fourmis.

Malgré ces difficultés techniques, qui pourront être solutionnées par la suite, par le perfectionnement des séquenceurs, et par l'utilisation de plusieurs code-barres à ADN simultanément afin d'augmenter la confiance sur l'identification (Valentini *et al.*, 2009), cette nouvelle méthode est très prometteuse pour l'étude des réseaux trophiques. Les études futures pourront connecter les différentes échelles d'observation pour construire un réseau trophique complet alliant les micro-organismes, les plantes, les insectes et toutes les espèces du système.

1.2.2. IMPLICATIONS POUR LA REGULATION DE *C. SORDIDUS*

L'analyse moléculaire du contenu stomacal des prédateurs généralistes échantillonnés dans les bananeraies a permis de détecter l'ADN de *C. sordidus* dans des spécimens de *Camponotus sexguttatus* (fourmis charpentières) et d'*Euborellia carai-bea* (forficules caribéens). Ces espèces sont manifestement des prédateurs de *C. sordidus* au champ et sont donc potentiellement intéressantes pour une régulation directe du bioagresseur. Cependant d'autres études sont nécessaires afin de préciser quels stades de développement de *C. sordidus* sont consommés par ces prédateurs. Ces espèces ne représentent pas de contraintes directes pour les agriculteurs, contrairement à d'autres espèces (comme les fourmis feu) dont les piqûres peuvent être très douloureuses. Les colonies de *C. sexguttatus* ont été retrouvées fréquemment au niveau du pseudotrunc des bananiers. La position de leur habitat semble appropriée à une stratégie qui vise à les favoriser car les colonies sont à proximité des sites de ponte de *C. sordidus*, ce qui constitue une situation favorable d'autant que la gestion de la couverture végétale n'interfère pas avec les colonies. Certains spécimens de *C. sexguttatus* ont été révélés positifs pour l'ADN d'*E. carai-bea*, qui est également prédateur de *C. sordidus*. Les spécimens d'*E. carai-bea* ont été retrouvés au niveau du sol de la bananeraie,

et bien qu'ils consomment *C. sordidus*, ils représentent aussi une proie pour *C. sexguttatus*. Des études supplémentaires sont nécessaires pour identifier les prédateurs de *C. sexguttatus*, qui n'ont pas pu être déterminés au cours de la présente étude. Une connaissance plus approfondie des interactions entre tous les prédateurs généralistes du réseau trophique, notamment ceux qui réalisent la prédation intra-guille, permettrait de préciser le potentiel de ces deux espèces pour la régulation de *C. sordidus*.

Contrairement à nos attentes, les individus de *S. geminata* étaient négatifs pour l'ADN de *C. sordidus*, alors que cette espèce de fourmi feu était suspectée d'être prédatrice des œufs de *C. sordidus* (Mollet *et al.*, 2012b). Comme nous avons observé cette espèce emporter les œufs de *C. sordidus* depuis des bananiers artificiellement infestés, il est possible que les ouvrières rapportent cette ressource à la colonie pour nourrir les larves ; expliquant que les ouvrières de cette espèce n'aient pas été détectées comme positives à l'ADN de *C. sordidus*. Par ailleurs, le potentiel de *S. geminata* pour réguler *C. sordidus* est à nuancé par sa nature agressive et nuisible pour les agriculteurs.

L'analyse moléculaire du contenu stomacal des herbivores échantillonnés dans les bananeraies a permis de caractériser le régime alimentaire des adultes de *C. sordidus*. Alors que nous pensions que cette espèce était strictement inféodée aux espèces du genre *Musa* (Gold *et al.*, 2001), certains adultes de *C. sordidus* ont été révélés positifs pour une variété de plantes présentes dans la bananeraie, dont la plante de couverture. Ceci dit, une consommation stricte de *Musa* ne fait aucun doute pour les larves de *C. sordidus*. De plus, neuf espèces de phytophages sur dix qui ont été analysées, dont *C. sordidus*, étaient positives pour *Momordica charantia*, une cucurbitacée sauvage en très faible densité dans les parcelles. Les cucurbitacées sont connues pour une molécule qu'ils synthétisent, la cucurbitacine, qui semble avoir des effets positifs sur une grande partie des arthropodes qui en consomment (Halaweish *et al.*, 1999). Cette molécule pourrait augmenter la vigueur des herbivores, en favorisant leur croissance et leur reproduction, en renforçant leurs défenses immunitaires. L'interaction trophique entre *C. sordidus* et *M. charantia* reste à préciser, pour connaître les effets de la cucurbitacine sur les populations de charançon du bananier. D'un autre côté, l'ADN des espèces de la famille des *Phyllanthaceae* et des *Asteraceae* n'a pas été retrouvé dans les contenus stomacaux des adultes de *C. sordidus* analysés, alors que d'autres herbivores en consomment. Ces familles de plantes peuvent être intéressantes pour la gestion de la couverture du sol de la bananeraie, en défavorisant les adultes de *C. sordidus*, et en favorisant d'autres proies alternatives, qui peuvent être consommées par les prédateurs généralistes. D'ailleurs, elles pourraient aussi être utilisées pour limiter les populations de *M. charantia*. Cependant, il faudrait évaluer les effets des espèces de ces familles de plantes sur la croissance du bananier.

D'une manière générale, la construction du réseau trophique de la bananeraie, et la connaissance des interactions trophiques entre plantes, arthropodes herbivores et arthropodes prédateurs ont apporté de multiples informations sur le fonctionnement de l'agroécosystème. Ces informations ouvrent des perspectives sur les régulations potentielles du bioagresseur et figurent des pistes de recherche particulièrement prometteuses avec l'étude des interactions à l'échelle spécifique (plante-insecte, insecte-insecte, ou interactions tri-trophiques)

1.2.3. PORTEE GENERALE DES RESULTATS

Cette étude démontre la faisabilité de l'approche metabarcoding à ADN pour déterminer le régime alimentaire des arthropodes dans la nature. Malgré les difficultés techniques rencontrées, les seuils de significativité élevés qui ont été appliqués lors du traitement bio-informatique des séquences ont permis de caractériser 98 interactions trophiques dans un réseau composé de 33 taxa. L'un des atouts majeurs de cette approche est de pouvoir détecter des proies consommées à un niveau individuel sans aucune connaissance *a priori* du régime alimentaire de l'espèce considérée. Cet atout est particulièrement intéressant dans le cas des arthropodes parce que beaucoup d'entre eux peuvent avoir des régimes alimentaires complexes et variés, difficilement observables. Un aspect tout aussi intéressant de cette approche est de pouvoir quantifier la force des liens par le calcul de la fréquence d'individus révé-

positifs pour une proie donnée. Cette démarche est générique et peut être appliquée pour la construction de tous types de réseaux trophiques impliquant des arthropodes et des plantes, pas seulement dans les agroécosystèmes. L'utilisation de cette technique a aussi permis de caractériser le rôle des ressources rares (en faible densité), qui peuvent être consommées par une large gamme d'espèces, bien qu'elles soient presque indétectables au champ. De plus, la grande sensibilité de la détection de l'ADN peut permettre de mettre en évidence des ressources consommées en très faible quantité dans le régime alimentaire des espèces. Nous avons aussi détecté des micro-organismes associés à nos arthropodes. De plus en plus d'études montrent les liens qui existent entre les communautés du sol et les communautés aériennes, avec des conséquences importantes sur le fonctionnement des écosystèmes (van der Putten *et al.*, 2009). Tous les avantages offerts par le metabarcoding à ADN ouvrent la voie à la construction de réseaux trophiques qui lient le fonctionnement aérien et souterrain, en intégrant aussi les relations de parasitisme, qui sont souvent étudiées indépendamment. D'un autre côté, cette partie du travail a aussi soulevé les limites de la méthode, qui peut négliger toute une famille d'espèces (ici, aucun hyménoptère n'a été séquencé), et qui peut souffrir d'un rendement assez faible pour certains barcodes (nombre de séquences assignées par rapport au nombre de séquences totales).

1.3. ANALYSES STRUCTURALES QUANTITATIVES ET FONCTIONNEMENT

1.3.1. SYNTHÈSE DES RESULTATS

Nous avons caractérisé la structure du réseau trophique de la bananeraie sur sol nu et sur sol enherbé par différents indices. Nous avons montré que le nombre d'espèces (S), le nombre d'interactions (L), la densité de liens (LD) étaient plus élevés sur le sol enherbé que sur le sol nu. A l'inverse, la connectance (C) était plus faible sur le sol enherbé. La totalité des espèces présentes sur le sol nu étaient aussi présentes sur le sol enherbé, excepté les Staphylinus, qui n'ont pas été trouvés sur le sol enherbé. Nous avons montré une dissimilarité des interactions entre les deux réseaux, c'est-à-dire que les mêmes espèces interagissent différemment en fonction des pratiques culturales. De plus, nous avons montré que les espèces contribuent différemment à la dissimilarité des interactions observées. En effet, quand certaines d'entre elles ont un régime alimentaire constant (par exemple *Alegoria castelnaui*: $\beta_{COM} = 0$), d'autres changent fortement la composition de leur régime alimentaire quand la bananeraie est enherbée (*Ondontomachus bauri*: $\beta_{COM} = 0.75$). Pour préciser les différences de structuration du réseau trophique suite à l'ajout d'une plante de couverture, nous avons ensuite détecté les motifs de taille 3 et établi leurs profils de significativité, pour repérer les motifs dont les occurrences étaient significativement différentes de celles attendues dans des réseaux aléatoires simulés (Milo *et al.*, 2002; Wong *et al.*, 2012). Les réseaux aléatoires étaient simulés de façon à conserver le nombre de liens, le nombre d'espèces, et le nombre de liens par espèces, pour être comparables à nos réseaux observés (Kashtan *et al.*, 2005). Nous avons mis en évidence une forte structuration du réseau observé sur sol enherbé, alors que le réseau sur sol nu était semblable aux réseaux aléatoires simulés. Les motifs de taille 3 de « chaîne tri-trophique simple », de « compétition apparente », et de « compétition d'exploitation » sont apparus significativement plus souvent dans le réseau sur sol enherbé que dans les réseaux aléatoires simulés. Nous avons conclu que ces interactions étaient structurantes dans le réseau trophique, et qu'elles étaient favorisées par l'ajout de la plante de couverture. A l'inverse, le motif « d'omnivorie » était sous-représenté sur le réseau enherbé par rapport aux réseaux aléatoires simulés. Cela illustre le fait que l'omnivorie est une interaction « exclue » du réseau de l'agroécosystème, alors que nous nous attendions à ce que ce soit une interaction stabilisante, comme le prédisent les modèles de structure basés sur la théorie de la niche écologique (McCann *et al.*, 1998). Cependant, le rôle stabilisant de l'omnivorie est encore débattu dans la littérature, car c'est une interaction souvent retrouvée sous-représentée dans certains réseaux (Stouffer *et al.*, 2007).

Nous avons ensuite détecté les motifs de taille 4 qui étaient significativement plus fréquents dans les réseaux observés que dans les réseaux aléatoires simulés. Nous avons mis en évidence trois motifs de taille 4, le « bi-fan », le « généralisme » et la « vulnérabilité » dans le réseau trophique sur sol enherbé, alors que le réseau sur sol nu ne présentait aucun motif de taille 4 significatif. Il était intéressant de constater que ces motifs de taille 4 sont des combinaisons des différents motifs de taille 3 révélés significatifs. Cette analyse conforte l'hypothèse d'une plus forte structuration du réseau trophique sur sol enherbé comparé au réseau sur sol nu. Nous avons cherché à caractériser les interactions qui composent ces motifs de taille 4 afin de déterminer quelles types d'interaction étaient responsables de cette forte structuration. Nous avons compté les interactions impliquant de l'herbivorie, de la prédation et de la prédation intra-guille dans la totalité de ces motifs significatifs. Nous avons mis en évidence la forte fréquence des interactions d'herbivorie dans ces motifs, qui représentaient 97,3% de toutes les interactions dans les 3 motifs confondus.

Nous avons enfin cherché à quantifier les interactions qui composent ces motifs de taille 4 afin de mettre en évidence la position de « proie préférée » de *C. sordidus* dans les motifs structurants. Nous avons mis en évidence une inégalité de la distribution des forces d'interactions au sein de ces motifs, qui étaient souvent composés d'une interaction forte en balance avec une interaction faible. Nous avons compté l'occurrence de *C. sordidus* à chacune des positions possibles de ces motifs quantitatifs, en tant que consommateur ou de ressource.

1.3.2. IMPLICATIONS POUR LA REGULATION DU *C. SORDIDUS*

Cette analyse a permis de mettre en évidence les différences de structuration du réseau trophique des arthropodes de la bananeraie suite à l'ajout d'une plante de couverture. Elle nous a aussi permis de caractériser la position de *C. sordidus* dans les motifs structurants, qui se trouvait en position de proie préférée dans le motif de taille 4 de « généralisme » où trois ressources sont partagées par un consommateur commun. Ce constat corrobore la faisabilité d'une régulation 'top-down'.

Nous avons aussi montré la prévalence des interactions d'herbivorie dans les motifs de taille 4 structurants. Dans ces motifs, *C. sordidus* est en interaction forte avec les plantes. Ceci souligne l'importance de la régulation 'bottom-up' pour la réussite de la régulation de *C. sordidus*, et la nécessité d'étudier plus en détail les relations qui lient le bioagresseur aux différentes espèces de plantes. Ces études supplémentaires permettront de choisir une plante de couverture qui défavorisera sa croissance, et qui au contraire, favorisera les proies alternatives qui augmenteront le potentiel de régulation des prédateurs généralistes.

1.3.3. PORTEE GENERALE DES RESULTATS

L'ensemble de cette étude montre les effets de la diversification végétale sur la structuration du réseau trophique d'un habitat fortement manipulé, et les conséquences sur le fonctionnement du système. Elle montre aussi l'efficacité de l'approche par détection de motifs pour caractériser la structure et le fonctionnement d'un réseau trophique. Certains réseaux souffrent d'une faible structuration qui peuvent les rendre plus fragiles face à aux perturbations. Ainsi, la structure du réseau trophique de la bananeraie sur sol nu ne diffère pas significativement de la structure de réseaux aléatoires. A l'inverse, la restauration de la diversité végétale a de fortes conséquences sur la structuration des réseaux trophiques, en augmentant la biodiversité et le nombre d'interactions (Simon *et al.*, 2009). Ce gain de structuration a des effets sur le fonctionnement du système dans la mesure où différents types de compétition sont favorisées, et où d'autres interactions sont défavorisées. Une distribution asymétrique des forces d'interactions peut avoir des effets stabilisants en permettant de répartir les interactions fortes et les interactions faibles (McCann *et al.*, 1998; Rooney *et al.*, 2006), ce qui représente un des facteurs majeur de stabilisation des réseaux (Rooney *et al.*, 2006). D'une manière générale, le rétablissement de la

biodiversité aux niveaux basaux a des impacts majeurs sur l'ensemble du système, avec des conséquences directes sur la régulation de toutes les communautés.

1.4. VERS UNE APPROCHE INTEGREE DE LA REGULATION DES RAVAGEURS PAR LES PREDATEURS

Ce travail de thèse apporte des éléments pour élaborer des stratégies de gestion des populations de *C. sordidus* dans les bananeraies. Premièrement, une régulation naturelle par les prédateurs généralistes est possible, et elle peut être favorisée par l'ajout d'une plante de couverture. Les fourmis charpentières (*C. sexguttatus*), qui nichent au sein même du bananier, consomment *C. sordidus* uniquement lorsque la bananeraie est enherbée. De plus, les forficules caribéens (*E. caraibea*), qui nichent le plus souvent dans des galeries souterraines, sont aussi responsables d'une régulation de *C. sordidus*. L'effet réel de ces deux espèces de prédateurs reste à quantifier, mais il est probable que le potentiel de *C. sexguttatus* soit supérieur à celui d'*E. caraibea*. Les ouvrières de ce type de colonies chassent pour se nourrir, mais aussi pour nourrir les larves. Elles ont tendance à continuer de chasser même en cas de satiété ; dans ce cas les excès de nourriture sont stockés dans la colonie. Cependant, le potentiel de *E. caraibea* est tout aussi intéressant car cette espèce n'est pas directement associée aux bananiers. En plus de la consommation de *C. sordidus*, il pourrait servir de proie alternative pour *C. sexguttatus*. Nous avons montré que la plante de couverture permettait d'augmenter l'abondance des prédateurs généralistes, par le développement de proies alternatives qu'ils intègrent à leur régime alimentaire. Une stratégie possible serait de favoriser le développement des proies alternatives par le semis d'une plante de couverture sur une parcelle en jachère. De cette façon, les herbivores associés à cette plante de couverture se développeraient et permettraient aux prédateurs généralistes comme le forficule de se développer aussi. Au moment de la plantation des bananiers, la tonte de la plante de couverture diminuerait l'abondance des herbivores tout en maintenant un niveau élevé de l'abondance du forficule. Les fourmis charpentières capables de s'établir dans les bananiers, la présence du forficule en forte abondance et la faible densité des herbivores devraient aboutir à une pression de prédation importante. Lors de la colonisation de la parcelle par *C. sordidus*, la pression de prédation devrait être suffisamment importante pour maintenir des niveaux d'infestation faible. Un choix important qui reste à préciser est celui de la plante de couverture, qui en plus de défavoriser *C. sordidus* et favoriser les proies alternatives, doit aussi permettre de limiter fortement les populations de cucurbitacées sauvages, et répondre à des contraintes agronomiques.

2. RETOUR SUR LES CHOIX METHODOLOGIQUES

2.1. MESURES D'ABONDANCE ET DE PREDATION

2.1.1. IMPORTANCE ET DIFFICULTES DES MESURES D'ABONDANCE

Les mesures d'abondance sont capitales en écologie, elles sont souvent à la base de la construction des réseaux trophiques par l'analyse de la co-occurrence des espèces. Récemment, le développement d'un algorithme basé sur l'intelligence artificielle a permis de reconstituer les liens trophiques d'un réseau à partir des abondances relatives de chacune des espèces (Bohan *et al.*, 2011). Dans les écosystèmes, les

mesures d'abondances permettent souvent de mettre en évidence les effets des perturbations sur la biodiversité. Dans les agroécosystèmes, les mesures d'abondance des bioagresseurs permettent d'évaluer les niveaux d'infestations et influencent les décisions sur la mise en place des stratégies de gestion. Cependant, il reste difficile de mesurer l'abondance de plusieurs espèces simultanément dans un milieu donné. En effet, une même méthode de mesure n'est souvent efficace que sur un nombre restreint d'espèces. Il faut multiplier les méthodes de mesure pour obtenir des estimations des abondances relatives, et toutes les méthodes de mesures n'ont pas forcément la même efficacité. De plus, elles ne permettent de mesurer que l'abondance des individus qui réalisent activement une prospection du milieu, et peuvent être biaisées par l'utilisation d'appâts. La grande diversité des méthodes de mesure d'abondance permet néanmoins d'apporter beaucoup d'informations utiles, dans la mesure où l'expérimentateur a conscience de leurs limites (**tableau 2**). Le tableau ci-dessous reprend les différentes méthodes de mesures d'abondance utilisées au cours de cette thèse, et synthétise leurs avantages et leurs inconvénients.

Tableau 2. Tableau récapitulatif des différentes méthodes de mesures d'abondances utilisées pendant cette thèse, avec leurs avantages et leurs inconvénients.

Méthode	Avantages	Inconvénients
Chasse à vue	Permet de mesurer les espèces non-piégées	Difficile et laborieux
Pitfall	Standardise le piégeage dans le temps et l'espace	Ne piège pas les fourmis
Pseudotronc	Facilement réalisable dans une bananeraie	Caractère attractif
Aspirateur	Permet de mesurer l'abondance des insectes volants	Favorise la capture des insectes légers

2.1.2. LIMITES DES MESURES DES TAUX DE PREDATION

Au cours de cette thèse, nous avons estimé les taux de prédation des œufs de *C. sordidus* en infestant artificiellement des parcelles de bananiers. Les œufs de *C. sordidus* sont considérés comme le stade de développement le plus accessible aux prédateurs en raison de leurs positions en superficie du collet du bananier (Koppenhofer, 1993a). Les œufs se développent ensuite en larves qui migrent vers l'intérieur du bananier, ce qui les rend plus difficilement accessibles aux prédateurs. Cette expérience a été très longue à mettre en place en raison de la nécessité de disposer de nombreux œufs de *C. sordidus*, car les femelles pondent en moyenne 1 à 2 œufs par semaine (Gold *et al.*, 2001). Nous avons ensuite déposé les œufs sur les bananiers en imitant le comportement de ponte des femelles de *C. sordidus*, c'est-à-dire en les plaçant dans des interstices préalablement creusés avec une pointe métallique. L'expérience consistait à compter le nombre d'œufs restant après une heure d'exposition aux prédateurs, afin de comparer les pressions de prédation entre le sol nu et le sol enherbé. Une des limites est que la manipulation des œufs par l'expérimentateur et la disposition des œufs en superficie des bananiers a pu les rendre plus accessibles qu'ils ne le sont vraiment. Néanmoins, ces biais étant les mêmes dans tous les traitements, nous avons pu comparer les pressions de prédation entre le sol nu et le sol enherbé, en étudiant des taux de prédation relatifs.

2.2. PYROSEQUENÇAGE

2.2.1. LES SOURCES D'INCERTITUDE

Le metabarcoding à ADN est une méthode de choix pour détecter de multiples interactions trophiques dans la nature. Cependant, elle reste tributaire de l'efficacité des technologies de séquençages haut-débit, et de la précaution avec laquelle les échantillons sont manipulés tout au long du processus. Le protocole pour obtenir le régime alimentaire d'un spécimen donné depuis sa collecte dans la nature jusqu'à l'identification des séquences d'ADN contenues dans son estomac est assez long. Toutes les étapes (échantillonnages, manipulation des produits PCR, ...) doivent faire l'objet de la plus grande vigilance pour s'affranchir des possibles contaminations (**tableau 3**). De plus, il a été montré que la technologie 454 (utilisée ici) produit certaines erreurs lors du séquençage par synthèse de l'ordre de 0,3% à 0,4% pour les 200 premières paires de bases de la séquence du gène qui code pour l'ARN ribosomal 16S (Claesson *et al.*, 2010). Cela a été montré par comparaison de la même séquence obtenue avec la méthode de Sanger (réputée plus précise) et la technologie 454. Ces erreurs de séquençage peuvent atteindre 5% pour les 100 premières paires de bases de 16S avec la technologie Illumina, mais c'est une technologie qui génère beaucoup plus de séquences. Les erreurs de séquences sont filtrées lors du traitement bio-informatique des séquences, pendant lequel différents seuils de similarité sont appliqués, et en choisissant de prendre un minimum de 3 séquences pour qu'une assignation soit réalisée. Le tableau ci-dessous résume les différentes sources d'incertitudes et des propositions pour les éviter.

2.2.2. SUGGESTIONS POUR LES ECHANTILLONNAGES DESTINES AU PYROSEQUENÇAGE

Les spécimens collectés au champ sont destinés à une analyse qui va permettre d'identifier la composition de leurs régimes alimentaires. Or, la consommation d'une ressource par un organisme donné implique l'ingestion et la digestion de cette ressource. Pendant son transit dans le tractus digestif, la ressource va être soumise à divers mécanismes destinés à dégrader ses tissus pour en extraire les nutriments, qui sont ensuite assimilés par l'organisme consommateur. La dégradation des tissus implique des réactions chimiques faisant intervenir les enzymes digestives, qui vont avoir une action sur l'ADN. L'ADN de la ressource est donc dégradé pendant la digestion et il convient de prendre des précautions au champ pour limiter cette dégradation qui va compromettre la détection de l'ADN. Il a été montré que l'ADN a généralement une durée de vie de l'ordre de 24h dans le tube digestif d'un consommateur, après quoi, il devient indétectable. Les échantillons issus de piégeages doivent être collectés le plus souvent possible, au moins deux fois par jour. Les enzymes digestives sont généralement actives à température ambiante, et l'application de froid ralentit leur activité. Pour cela, les spécimens collectés doivent être placés au froid le plus vite possible. Au cours de cette étude, nous avons utilisé une glacière portative (4°C) pour déposer les échantillons directement après leur collecte. Au laboratoire, les échantillons doivent être déposés dans des congélateurs à -20°C ou plus froids, jusqu'à leur dissection. Les outils de biologie moléculaire (PCR et séquençage) étant des méthodes extrêmement sensibles, des séquences d'ADN en très faible quantité dans l'échantillon de départ peuvent être détectées. Pour cela, la plus grande précaution est requise pour la manipulation des échantillons au champ. Lors de la collecte, l'utilisation de gants stériles et de matériels stériles est conseillée pour éviter les contaminations.

Tableau 3. Le tableau reprend les différentes sources d'erreurs issues de l'utilisation du metabarcoding à ADN, la description de ces erreurs et leur origine, ainsi que les précautions à prendre pour les éviter.

Source d'erreur	Description	Nature de l'erreur	Précautions
Contamination au champ	Contaminations croisées	-Consommation dans le piège -Contact ADN humain -Matériels contaminés	-Relever les pièges le plus souvent possible -Gants stériles -Matériels stériles
Contamination au laboratoire	Contaminations croisées	-Contact ADN humain -Matériels contaminés -Réactifs contaminés -Paillasse contaminée	-Gants stériles -Matériels stériles -Témoins négatifs -Décontamination avec hydroxyde alcalin
Parasites	Détection ADN endo et exo parasite	Confusion entre proie et parasite	-Exclure du test
Détermination morpho	Mauvaise détermination morpho avec clé Erreur dans librairie	Nom d'espèce erronée	-Avis d'expert
Cannibalisme	Espèce qui s'autoconsomme	Impossible à détecter	-NA
Nb cycle PCR	Augmentation du nombre d'erreur à la polymérisation	-Séquence qui diverge du barcode -Risque de mauvaise assignation	-Ajuster les programmes PCR -Vérifier la divergence génétique des barcodes
Séquençage Sanger	Erreur de séquençage	-Erreur due à la polymérisation -Séquence qui diverge du barcode -Risque de mauvaise assignation	-Vérifier la divergence génétique des barcodes -Ajuster les seuils bio-informatiques
Pyroséquençage	Erreur de séquençage	-Erreur due à la polymérisation -Séquence qui diverge du barcode -Risque de mauvaise assignation	-Vérifier la divergence génétique des barcodes -Ajuster les seuils bio-informatiques
Erreur assignement du sample	Erreur de séquençage sur le tag	-Erreur due à la polymérisation -Erreur assignation du sample	-Ajuster les seuils bio-informatique -Choisir tags qui diffèrent d'au moins 5 nucléotides
Pooling équimolaire	Différentiel de concentration des amplicons	-Risque de favoriser les amplicons en excès -Risque d'écarter les amplicons en faible concentration	-Dosages spectrométriques précis -Dilution précises
Genbank	Erreur de séquençage Erreur du nom d'espèce	-Mauvaise assignation à l'espèce	-Réaliser sa propre librairie de référence
Séquences non assignées	Non-exhaustivité des librairies	-Oubli de certaines proies	-Blaster sur GenBank

2.3. ANALYSE STRUCTURALE

Chaque motif de taille n est défini par une certaine organisation des liens avec les nœuds, et représente une propriété fonctionnelle associée à ces sous-réseaux. Dans les réseaux trophiques, il est relativement facile d'inférer les fonctions écologiques associées aux motifs de tailles 3, comme ceux qui reflètent la compétition apparente, la compétition d'exploitation ou l'omnivorie. Cependant, l'inférence sur le fonctionnement des motifs de taille 4 (ou plus) est moins intuitive, et c'est pour cette raison qu'ils sont moins étudiés. Dans ce travail de thèse, les motifs de taille 4 détectés hautement significatifs constituaient un assemblage des motifs de taille 3 bien connus. Mais les profils de significativité des motifs de taille 4 (ou plus), restent difficile à interpréter. Par ailleurs, certains auteurs ont montré dans les réseaux de régulation de gènes qu'un même motif peut être responsable de plusieurs fonctionnalités, et donc que la structure d'un motif ne détermine pas forcément sa fonction (Ingram *et al.*, 2006).

3. PERSPECTIVES GENERALES : VERS L'UTILISATION DE LA MODELISATION DES RESEAUX TROPHIQUES POUR DEFINIR DES MODES DE GESTION DES RAVAGEURS

L'étude de la structure et du fonctionnement d'un réseau trophique est un levier pour élaborer des modèles de simulation dynamique des communautés en interactions. En effet, la modélisation des écosystèmes est un enjeu majeur pour prédire l'effet des perturbations sur leur résilience et leur résistance (Berlow *et al.*, 2004). Ces modèles sont des outils d'aide à la décision pour des stratégies de biologie de la conservation des milieux fortement perturbés, ou de contrôle biologique, dans le cas des bioagresseurs des agroécosystèmes. Certains modèles déjà disponibles combinent ainsi les théories de la dynamique de la translocation de la biomasse (ou énergie) au sein des écosystèmes avec l'écologie fonctionnelle et la théorie des réseaux (Caron-Lormier *et al.*, 2009; Dunne *et al.*, 2002). Ces modèles individus-centré sont basés sur la prise en compte des groupes fonctionnels pour expliquer la structure et le fonctionnement des écosystèmes. Ces groupes fonctionnels représentent l'ensemble des espèces ou individus qui partagent les mêmes traits de transformation de la biomasse et les mêmes comportements d'alimentation. De cette façon, le modèle prend en entrée une variété de paramètres, comme la nature de la gestion des ressources primaires, et peut par exemple prédire les variations d'abondances du bioagresseur.

Le perfectionnement des technologies de séquençage pour réduire les erreurs et l'utilisation de plusieurs codes-barres simultanément permettront d'augmenter la fiabilité de la méthode et le nombre d'échantillons analysables. L'acquisition de jeux de données à une échelle spatiale plus grande et plus fréquemment dans le temps aboutiront à des paramètres d'entrée précis, indispensables à la conception de modèles encore plus élaborés. L'une des forces de ces approches est qu'elles informent sur le comportement trophique à un niveau individuel, en effet, la composition du régime alimentaire peut être connue pour chacun des spécimens collectés (Pompanon *et al.*, 2012). Ces approches pourront permettre de passer d'une conception de modèles basés sur les groupes fonctionnels, à une échelle encore plus fine, au niveau de l'espèce. En intégrant les prédictions sur les variations de biomasse des ressources primaires produites par des modèles de croissance des plantes, ces modèles permettront de simuler les variations d'abondances et le comportement dynamique des populations de bioagresseurs. Plusieurs scénarii de pratiques culturales pourront être testés afin d'étudier l'effet des différentes espèces de plantes de couverture sur l'ensemble du réseau trophique, et sur la régulation des bioagresseurs.

4. CONCLUSION GENERALE

Ce travail de thèse illustre les effets bénéfiques de la restauration de la biodiversité dans les agroécosystèmes. D'un point de vue appliqué, il montre avec l'exemple des bananeraies que la biodiversité et les mécanismes de régulation des bioagresseurs sont favorisés par la diversification végétale des systèmes de culture. D'un point de vue plus général, ce travail de thèse démontre comment les propriétés de structure et de fonctionnement d'un réseau trophique peuvent être liées au service écosystémique de régulation des bioagresseurs.

La première partie de la thèse qui consistait à mettre en évidence la prédation du bioagresseur était fondamentale pour la mise en évidence des mécanismes qui pourraient être favorisés dans le cadre d'un contrôle biologique basé sur la complexification écologique du système. La complexification écologique du système se caractérise ici par l'addition d'une plante de couverture, mais il pourrait être intéressant d'étudier d'autres façons de complexifier le système, comme les plantes de bordures ou la diversification des cultures, et leurs effets sur les prédateurs et la prédation du bioagresseur. Ce travail de terrain est nécessaire car les effets de la complexification écologique sont souvent difficiles à appréhender et peuvent aboutir à des effets positifs, aussi bien que négatifs (Letourneau *et al.*, 2011; Russell, 1989; Simon *et al.*, 2009).

Les modèles de simulation du fonctionnement des écosystèmes reposent en partie sur les théories de structure des réseaux trophiques, qui sont souvent difficiles à étudier en raison de leur complexité en nombres d'espèces et d'interactions. L'utilisation du metabarcoding à ADN apparaît comme une solution efficace pour construire une image de la structure des réseaux, mais les mesures d'abondances restent nécessaires pour la conception des modèles dynamiques. D'ailleurs, les données d'abondance et l'utilisation des modèles de co-occurrence (Bohan *et al.*, 2011) pourraient permettre de confronter les résultats des deux approches sur la structure des réseaux trophiques. L'approche qui consiste à mesurer la teneur en isotopes stables peut aussi être envisagée dans la mesure où le régime alimentaire sur l'ensemble de la vie de l'organisme est pris en compte (Ponsard et Ardit, 2000). Il pourrait être intéressant de comparer les résultats de ces trois approches sur la structure du réseau trophique d'un même système.

La détection des motifs est une méthode originale pour inférer le fonctionnement d'un réseau à partir de sa structure (Stouffer *et al.*, 2007). Dans le cas des réseaux trophiques et des motifs de taille 3, il pourrait être intéressant d'étudier les profils de significativité (histogrammes des z-scores) d'un point de vue dynamique, c'est-à-dire de mettre en évidence l'évolution de la représentativité des sous-structures en fonction du temps. De plus, il est nécessaire d'approfondir les recherches sur les motifs de taille 4 qui semblent surreprésentés, comme le bi-fan, pour mieux comprendre le fonctionnement écologique qui y est associé. Cela pourrait peut-être mettre en évidence plusieurs fonctions pour un même motif, comme c'est le cas dans les réseaux de transcription des gènes (Ingram *et al.*, 2006).

Ce travail de thèse était passionnant aussi bien au niveau du cheminement conceptuel qu'au niveau des technologies utilisées pour étudier un réseau trophique. Le point fort de ce travail est d'avoir examiné les capacités du séquençage haut-débit couplé aux codes-barres à ADN pour déterminer le régime alimentaire des arthropodes herbivores et prédateurs. Cette approche est très prometteuse pour construire des réseaux trophiques complexes qui intègrent plusieurs types d'interactions, comme le parasitisme, ou les relations plantes-pollinisateurs. Elle permettra aussi de faire le lien entre toutes les composantes de l'écosystème : des micro-organismes du sol jusqu'aux animaux de dernier ordre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abera-Kalibata, A. M., Gold, C. S. & Van Driesche, R. (2008) Experimental evaluation of the impacts of two ant species on banana weevil in Uganda. *Biological Control*, 46, 147-157.
- Abera-Kalibata, A. M., Gold, C. S., Van Driesche, R. G. & Ragama, P. E. (2007) Composition, distribution, and relative abundance of ants in banana farming systems in Uganda. *Biological Control*, 40, 168-178.
- Abera-Kalibata, A. M., Hasyim, A., Gold, C. S. & Van Driesche, R. (2006) Field surveys in Indonesia for natural enemies of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar). *Biological Control*, 37, 16-24.
- Afun, J. V. K., Johnson, D. E. & Russell-Smith, A. (1999) The effects of weed residue management on pests, pest damage, predators and crop yield in upland rice in Cote d'Ivoire. *Biological Agriculture and Horticulture*, 17, 47-58.
- Baird, D. & Ulanowicz, R. E. (1989) The seasonal dynamics of the Chesapeake Bay ecosystem. *Ecological Monographs*, 59, 329-364.
- Banasek-Richter, C., Bersier, L. F., Cattin, M. F., Baltensperger, R., Gabriel, J. P., Merz, Y., Ulanowicz, R. E., Tavares, A. F., Williams, D. D., De Ruiter, P. C., Winemiller, K. O. & Naisbit, R. E. (2009) Complexity in quantitative food webs. *Ecology*, 90, 1470-1477.
- Barberi, P., Burgio, G., Dinelli, G., Moonen, A. C., Otto, S., Vazzana, C. & Zanin, G. (2010) Functional biodiversity in the agricultural landscape: relationships between weeds and arthropod fauna. *Weed Research*, 50, 388-401.
- Bascompte, J., Jordano, P., Melian, C. J. & Olesen, J. M. (2003) The nested assembly of plant-animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 9383-9387.
- Bascompte, J. & Melian, C. J. (2005) Simple trophic modules for complex food webs. *Ecology*, 86, 2868-2873.
- Bates, D., Maechler, M. & Bolker, B. M. (2011) lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4 classes. R package version 0.999375-39 ed.
- Beccari, F. (1967) Contributo alla conoscenza del *Cosmopolites sordidus* Ger. (Coleoptera, Curculionidae). *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale*, 61, 51-93 ; 131-150.
- Begon, M., Townsend, C. R. & Harper, J. L. (2005) *Ecology: from individuals to ecosystems*, Oxford, UK.
- Bell, J. R., King, R. A., Bohan, D. A. & Symondson, W. O. C. (2010) Spatial co-occurrence networks predict the feeding histories of polyphagous arthropod predators at field scales. *Ecography*, 33, 64-72.
- Bennett, J. A., Gillepsie, D. R. & VanLaerhoven, S. L. (2009) Investigating the diet of the omnivorous mirid *Dicyphus hesperus* using stable isotopes. *Bulletin of Entomological Research*, 99, 347-358.
- Berlow, E. L. (1999) Strong effects of weak interactions in ecological communities. *Nature*, 398, 330-334.
- Berlow, E. L., Neutel, A. M., Cohen, J. E., de Ruiter, P. C., Ebenman, B., Emmerson, M., Fox, J. W., Jansen, V. A. A., Jones, J. I., Kokkoris, G. D., Logofet, D. O.,

- McKane, A. J., Montoya, J. M. & Petchey, O. (2004) Interaction strengths in food webs: issues and opportunities. *Journal of Animal Ecology*, 73, 585-598.
- Bersier, L. F., Banašek-Richter, C. & Cattin, M. F. (2002) Quantitative descriptors of food-web matrices. *Ecology*, 83, 2394-2407.
- Blanchard, J. L., Jennings, S., Law, R., Castle, M. D., McCloghrie, P., Rochet, M. J. & Benoît, E. (2009) How does abundance scale with body size in coupled size-structured food webs? *Journal of Animal Ecology*, 78, 270-280.
- Blazy, J. M., Tixier, P., Thomas, A., Ozier-Lafontaine, H., Salmon, F. & Wery, J. (2010) BANAD: A farm model for ex ante assessment of agro-ecological innovations and its application to banana farms in Guadeloupe. *Agricultural Systems*, 103, 221-232.
- Bohan, D. A., Caron-Lormier, G., Muggleton, S., Raybould, A. & Tamaddoni-Nezhad, A. (2011) Automated discovery of food webs from ecological data using logic-based machine learning. *PLoS ONE*, 6, e29028.
- Bolker, B. M., Brooks, M. E., Clark, C. J., Geange, S. W., Poulsen, J. R., Stevens, M. H. H. & White, J.-S. S. (2009) Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 24, 127-135.
- Bonsall, M. B. & Hassel, M. P. (2007) Predator-Prey Interactions. IN MAY, R. M. & MACLEAN, A. (Eds.) *Theoretical Ecology*. Oxford, Oxford University Press.
- Briones, M. J. I., Bol, R., Sleep, D., Allen, D. & Sampedro, L. (2001) Spatio-temporal variation of stable isotope ratios in earthworms under grassland and maize cropping systems. *Soil Biology & Chemistry*, 1673-1682.
- Cabana, G. & Rasmussen, J. B. (1996) Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 10844-10847.
- Cardinale, B. J., Harvey, C. T., Gross, K. & Ives, A. R. (2003) Biodiversity and biocontrol: emergent impacts of a multi-enemy assemblage on pest suppression and crop yield in an agroecosystem. *Ecology Letters*, 6, 857-865.
- Cardinale, B. J., Srivastava, D. S., Duffy, J. E., Wright, J. P., Downing, A. L., Sankaran, M. & Jouseau, C. (2006) Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature*, 443, 989-992.
- Caron-Lormier, G., Bohan, D. A., Hawes, C., Raybould, A., Haughton, A. J. & Humphry, R. W. (2009) How might we model an ecosystem? *Ecological Modelling*, 1935-1949.
- Carter, P. E. & Rypstra, A. L. (1995) Top-down effects in soybean agroecosystems - spider density affects herbivore damage. *Oikos*, 72, 433-439.
- Cattin, M. F., Bersier, L. F., Banasek-Richter, C., Baltensperger, R. & Gabriel, J. P. (2004) Phylogenetic constraints and adaptation explain food-web structure. *Nature*, 427, 835-839.
- Chauhan, B. S., Singh, R. G. & Mahajan, G. (2012) Ecology and management of weeds under conservation agriculture: A review. *Crop Protection*, 38, 57-65.
- Claesson, M. J., Wang, Q., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., Cole, J. R., Ross, R. P. & O'Toole, P. W. (2010) Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Research*, 38, e200.
- Cohen, J. E., Briand, F. & Newman, C. M. (1990) *Community food webs: data and theory*, Heidelberg & New York: Springer-Verlag.
- Cohen, J. E., Jonsson, T. & Carpenter, S. R. (2003) Ecological community description using the food web, species abundance, and body size. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 1781-1786.

- Cohen, J. E. & Newman, C. M. (1985) A stochastic theory of community food webs. I. Models and aggregated data. *Proceedings - Royal Society of London, Series B*, 224, 421-448.
- Cuillé, J. (1950) *Recherches sur le charançon du bananier Cosmopolites sordidus Germar: Monographie de l'insecte et recherches de ses chimiotropismes*, Paris.
- Cuillé, J. & Vilardebo, A. (1963) Les calandrini nuisibles au bananier. IN BALACHOWSKY, A. S. (Ed.) *Entomologie Appliquée à l'Agriculture*. Paris, Masson et Cie Editions.
- Díaz, S., Fargione, J., Chapin, F. S. & Tilman, D. (2006) Biodiversity loss threatens human well-being. *PLoS Biology*, 4, 1300-1305.
- Dunne, J. A., Williams, R. J. & Martinez, N. D. (2002) Food-web structure and network theory: The role of connectance and size. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 12917-12922.
- Duyck, P.-F., Lavigne, A., Vinatier, F., Achard, R., Okolle, J. N. & Tixier, P. (2011a) Addition of a new resource in agroecosystems: Do cover crops alter the trophic positions of generalist predators? *Basic and Applied Ecology*, 12, 47-55.
- Duyck, P. F., Lavigne, A., Vinatier, F., Achard, R., Okolle, J. N. & Tixier, P. (2011b) Addition of a new resource in agroecosystems: Do cover crops alter the trophic positions of generalist predators? *Basic and Applied Ecology*, 12, 47-55.
- Elton, C. (1927) *Animal Ecology*, Chicago, IL, USA.
- Emmerson, M. & Yearsley, J. M. (2004) Weak interactions, omnivory and emergent food-web properties. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271, 397-405.
- Evans, E. W. & England, S. (1996) Indirect interactions in biological control of insects: Pests and natural enemies in alfalfa. *Ecological Applications*, 6, 920-930.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine Biology and Biotechnology*, 3, 294-297.
- Fontaine, C., Thébault, E. & Dajoz, I. (2009) Are insect pollinators more generalist than insect herbivores? *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 276, 3027-3033.
- Froggatt, J. L. (1925) The banana weevil borer (*Cosmopolites sordidus*). *Queensland Journal of Agriculture*, 54, 558.
- Fry, B. (1988) Food web structure on Georges Bank from stable C, N, and S isotopic compositions. *Limnology & Oceanography*, 33, 1182-1190.
- Gakkhar, S. & Kamel Naji, R. i. (2003) Chaos in seasonally perturbed ratio-dependent prey-predator system. *Chaos, Solitons & Fractals*, 15, 107-118.
- Gold, C. S., Pena, J. E. & Karamura, E. B. (2001) Biology and integrated pest management for the banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). *Integrated Pest Management Reviews*, 6, 79-155.
- Gravel, D., Canard, E., Guichard, F. & Mouquet, N. (2011) Persistence increases with diversity and connectance in trophic metacommunities. *PLoS ONE*, 6, e19374.
- Grimm, V. & Railsback, S. F. (2005) *Individual-Based Modelling and Ecology*, Princeton, Princeton University Press.
- Grover, C. D., Dayton, K. C., Menke, S. B. & Holway, D. A. (2008) Effects of aphids on foliar foraging by Argentine ants and the resulting effects on other arthropods. *Ecological Entomology*, 33, 101-106.
- Hagler, J. R. & Durand, C. M. (1994) A new method for immunologically marking prey and its use in predation studies. *Entomophaga*, 39, 257-265.

- Hagler, J. R. & Jackson, C. G. (2001) Methods for marking insects: current techniques and future prospects. *Annual Review of Entomology*, 46, 511-543.
- Hairston, N. G. J. & Hairston, N. G. S. (1997) Does food-web complexity eliminate trophic-level dynamics? *The American Naturalist*, 149, 1001-1007.
- Hairston, N. G. J., Smith, F. E. & Slobodkin, L. B. (1960) Community structure, population control, and competition. *The American Naturalist*, 94, 421-425.
- Halaweish, F. T., Tallamy, D. W. & Santana, E. (1999) Cucurbitacins: A role in cucumber beetle steroid nutrition? *Journal of Chemical Ecology*, 25, 2373-2383.
- Harper, G. L., King, R. A., Dodd, C. S., Harwood, J. D., Glen, D. M., Bruford, M. W. & Symondson, W. O. C. (2005) Rapid screening of invertebrate predators for multiple prey DNA targets. *Molecular Ecology*, 14, 819-827.
- Harwood, J. D., Bostrom, M. R., Hladilek, E. E., Wise, D. H. & Obrycki, J. J. (2007) An order-specific monoclonal antibody to Diptera reveals the impact of alternative prey on spider feeding behavior in a complex food web. *Biological Control*, 41, 397-407.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L. & DeWaard, J. R. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 270, 313-321.
- Helms, K. R., Hayden, C. P. & Vinson, S. B. (2011) Plant-based food resources, trophic interactions among alien species, and the abundance of an invasive ant. *Biological Invasions*, 13, 67-79.
- Helms, K. R. & Vinson, S. B. (2008) Plant resources and colony growth in an invasive ant: The importance of honeydew-producing Hemiptera in carbohydrate transfer across trophic levels. *Environmental Entomology*, 37, 487-493.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. (1990) *The ants*, Cambridge, MA, Press of Harvard University Press.
- Holling, C. S. (1965) The functional response of invertebrate predators to prey density. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 45, 3-60.
- Holt, R. D. (1977) Apparent competition and the structure of prey communities. *Theoretical Population Biology*, 12, 197-229.
- Holt, R. D. & Kotler, B. P. (1987) Short-term apparent competition. *American Naturalist*, 130, 412-430.
- Hooper, D. U., Chapin Iii, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J. H., Lodge, D. M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setaïa, H., Symstad, A. J., Vandermeer, J. & Wardle, D. A. (2005) Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75, 3-35.
- Hutchinson, G. E. (1957) Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 22, 415-427.
- Ingram, P. J., Stumpf, M. P. H. & Stark, J. (2006) Network motifs: structure does not determine function. *BMC Genomics*, 7, 108.
- Ings, T. C., Montoya, J. M., Bascompte, J., Bluthgen, N., Brown, L., Dormann, C. F., Edwards, F., Figueroa, D., Jacob, U., Jones, J. I., Lauridsen, R. B., Ledger, M. E., Lewis, H. M., Olesen, J. M., van Veen, F. J. F., Warren, P. H. & Woodward, G. (2009) Ecological networks - beyond food webs. *Journal of Animal Ecology*, 78, 253-269.
- Jaramayan, S., Ndiege, I. O., Oehlschlager, A. C., Gonzales, L. M., Alpizar, D., Falles, M., Budenberg, W. J. & Ahuya, P. (1997) Synthesis, analysis, and field activity of sordidin, a male-produced aggregation pheromone of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1145-1161.

- Jennings, S. & Mackinson, S. (2003) Abundance-body mass relationships in size-structured food webs. *Ecology Letters*, 6, 971-974.
- Jonsson, T., Cohen, J. E. & Carpenter, S. R. (2005) Food Webs, Body Size, and Species Abundance in Ecological Community Description. *Advances in Ecological Research*.
- Jost, L. (2006) Entropy and diversity. *Oikos*, 113, 363-375.
- Kashtan, N., Itzkovitz, S., Milo, R. & Alon, U. (2005) Mfinder v.1.2.
- King, R. A., Read, D. S., Traugott, M. & Symondson, W. O. C. (2008) Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. *Molecular Ecology*, 17, 947-963.
- Koppenhofer, A. M. (1993a) Egg predators of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Col, Curculionidae) in western Kenya. *Journal of Applied Entomology*, 116, 352-357.
- Koppenhofer, A. M. (1993b) Observations on egg-laying behavior of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 68, 187-192.
- Koss, A. M. & Snyder, W. E. (2005) Alternative prey disrupt biocontrol by a guild of generalist predators. *Biological Control*, 32, 243-251.
- Krebs, C. J. (1999) *Ecological methodology*, California, Addison-Wesley.
- Kuusk, A. K. & Ekbom, B. (2010) Lycosid spiders and alternative food: Feeding behavior and implications for biological control. *Biological Control*, 55, 20-26.
- Lassoudière, A. (2007) *Le bananier et sa culture*.
- Letourneau, D. K., Armbrrecht, I., Riviera, B. S., Lerma, J. M., Carmona, E. J., Daza, M. C., Escobar, S., Galindo, V., Gutiérrez, C., Lopez, S. D., Mejia, J. L., Rangel, A. M., Rangel, J. H., Rivera, L., Saavedra, C. A., Torres, A. M. & Trujillo, A. R. (2011) Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. *Ecological Applications*, 21, 9-21.
- Lindemann, R. L. (1942) The trophic dynamic aspect of ecology. *Ecology and Society*, 23, 399-418.
- Lotka, A. J. (1925) *Elements of physical biology*, Baltimore, William & Wilkins.
- MacArthur, R. H. (1955) Fluctuations of animal populations and a measure of community stability. *Ecology*, 36, 533-536.
- MacArthur, R. H. & Levins, R. (1964) Competition habitat selection and character displacement in a patchy environment. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.*, 51, 1207-1210.
- Magurran, A. E. (2004) *Measuring biological diversity*, Oxford, Blackwell Publishing.
- Martinez, N. (1991) Artifacts or attributes? Effects of resolution on the little rock lake food web. *Ecological Monographs*, 61, 367-392.
- Mathews, C. R., Bottrell, D. G. & Brown, M. W. (2004) Habitat manipulation of the apple orchard floor to increase ground-dwelling predators and predation of *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Biological Control*, 30, 265-273.
- May, R. M. (1973) *Stability and Complexity in Model Ecosystem*, Princeton, Princeton University Press.
- May, R. M. (1974a) On the theory of niche overlap. *Theoretical Population Biology*, 5, 297-332.
- May, R. M. (1974b) *Stability and Complexity in Model Ecosystems*, Princeton, Princeton University Press.
- May, R. M. & MacArthur, R. H. (1972) Niche overlap as a function of environmental variability. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 69, 1109-1113.

- McCann, K., Hastings, A. & Huxel, G. R. (1998) Weak trophic interactions and the balance of nature. *Nature*, 395, 794-798.
- Megléczy, E., Piry, S., Desmarais, E., Galan, M., Gilles, A., Guivier, E., Pech, N. & Martin, J. (2010) Sesame (SEquence Sorter & AMplicon Explorer): Genotyping based on high-throughput multiplex amplicon sequencing. *Bioinformatics*, 27, 277-278.
- Memmott, J., Martinez, N. & Cohen, J. E. (2000) Predators, parasites and pathogens: species richness, trophic generality, and body sizes in a natural food web. *Journal of Animal Ecology*, 69, 1-15.
- Menke, S. B., Suarez, A. V., Tillberg, C. V., Chou, C. T. & Holway, D. A. (2010) Trophic ecology of the invasive argentine ant: spatio-temporal variation in resource assimilation and isotopic enrichment. *Oecologia*, 164, 763-771.
- Messelink, G. J., Van Maanen, R., Van Holstein-Saj, R., Sabelis, M. W. & Janssen, A. (2010) Pest species diversity enhances control of spider mites and whiteflies by a generalist phytoseiid predator. *Biocontrol*, 55, 387-398.
- Mestre, J. (1997b) Recent research on the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera, Curculionidae). *Fruits Paris*, 52, 67-82.
- Meusnier, I., Singer, G. A. C., Landry, J. F., Hickey, D. A., Hebert, P. D. N. & Hajibabaei, M. (2008) A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. *BMC Genomics*, 9.
- Milo, R., Shen-Orr, S., Itzkovitz, S., Kashtan, N., Chklovskii, D. & Alon, U. (2002) Network motifs: Simple building blocks of complex networks. *Science*, 298, 824-827.
- Minagawa, M. & Wada, E. (1984) Stepwise enrichment of $\delta^{15}\text{N}$ along food-chains - further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48, 1135-1140.
- Mollot, G., Duyck, P. F., Canard, E., Lescouret, F., Martin, J.-F., Piry, S. & Tixier, P. (2012a) Metabarcoding on arthropods diet: technical issues and the quantitative food web of bananas. *Under submission process*, XX, XX-XX.
- Mollot, G., Tixier, P., Lescouret, F., Quilici, S. & Duyck, P. F. (2012b) New primary resource increases predation on a pest in a banana agroecosystem. *Agricultural and Forest Entomology*.
- Mooney, K. A. & Tillberg, C. V. (2005) Temporal and spatial variation to ant omnivory in pine forests. *Ecology*, 86, 1225-1235.
- Moore, J. W. & Semmens, B. X. (2008) Incorporating uncertainty and prior information into stable isotope mixing models. *Ecology Letters*, 11, 470-480.
- Neutel, A.-M., Heesterbeek, J. A. P., van de Koppel, J., Hoenderboom, G., Vos, A., Kaldewey, C., Berendse, F. & de Ruiter, P. C. (2007) Reconciling complexity with stability in naturally assembling food webs. *Nature*, 449, 599-603.
- Nickerson, J. C., Kay, C. A. R., Buschman, L. L. & Whitcomb, W. H. (1977) The presence of *Spissistilus festinus* as a factor affecting egg predation by ants in soybeans. *Florida Entomologist*, 60, 193-199.
- Novotny, V., Basset, Y., Miller, S. E., Weiblen, G. D., Bremer, B., Cizek, L. & Drozd, P. (2002) Low host specificity of herbivorous insects in a tropical forest. *Nature*, 416, 841-844.
- O'Gorman, E. J., Fitch, J. E. & Crowe, T. P. (2012) Multiple anthropogenic stressors and the structural properties of food webs. *Ecology*, 93, 441-448.
- Oelbermann, K. & Scheu, S. (2002) Stable isotope enrichment ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) in a generalist predator (*Pardosa lugubris*, Araneae : Lycosidae): effects of prey quality. *Oecologia*, 130, 337-344.

- Okuyama, T. & Holland, J. N. (2008) Network structural properties mediate the stability of mutualistic communities. *Ecology Letters*, 11, 208-216.
- Paine, R. T. (1980) Food webs: linkage, interaction strength and community infrastructure. *Journal of Animal Ecology*, 49, 666-685.
- Paine, R. T. (1992) Food-web analysis through field measurement of per capita interaction strength. *Nature*, 355, 73-75.
- Perfecto, I. & Castañeras, A. (1998) Deployment of the predaceous ants and their conservation in agroecosystems. IN BARBOSA, P. (Ed.) *Conservation Biological Control*. San Diego, Academic Press.
- Peterson, B. J. & Fry, B. (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 293-320.
- Peterson, B. J., Howarth, R. W. & Garritt, R. H. (1985) Multiple stable isotopes used to trace the flow of organic matter in estuarine food webs. *Science*, 227, 1361-1363.
- Phillips, D. L. & Gregg, J. W. (2003) Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia*, 136, 261-269.
- Pimm, S. L. (1978) An experimental approach to the effects of predictability on community structure. *American Zoologist*, 18, 797-808.
- Pimm, S. L. (1984) The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, 307, 321-326.
- Pimm, S. L. (2002) *Food Webs*, Chicago, The University of Chicago Press.
- Pimm, S. L., Lawton, J. H. & Cohen, J. E. (1991) Food web patterns and their consequences. *Nature*, 350.
- Piry, S., Guivier, E., Realini, A. & Martin, J.-F. (2012) |SE|S|AM|E BARCODE: a NGS-oriented software for amplicon characterization - application to species and environmental barcoding. *Molecular Ecology Resources*, in Press.
- Polis, G. A., Sears, A. L. W., Huxel, G. R., Strong, D. R. & Maron, J. (2000) When is a trophic cascade a trophic cascade? *Trends in Ecology & Evolution*, 15, 473-475.
- Polis, G. A. & Strong, D. R. (1996a) Food web complexity and community dynamics. *American Naturalist*, 147.
- Polis, G. A. & Strong, D. R. (1996b) Food web complexity and community dynamics. *American Naturalist*, 147, 813-846.
- Pompanon, F., Deagle, B. E., Symondson, W. O. C., Brown, D. S., Jarman, S. N. & Taberlet, P. (2012) Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Molecular Ecology*, 21, 1931-1950.
- Ponsard, S. & Arditi, R. (2000) What can stable isotopes ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) tell about the food web of soil macro-invertebrates? *Ecology*, 81, 852-864.
- Post, D. M. (2002) Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. *Ecology*, 83, 703-718.
- Prill, R. J., Iglesias, P. A. & Levchenko, A. (2005) Dynamic properties of network motifs contribute to biological network organization. *PLoS Biology*, 3, 1881-1892.
- R Development Core Team (2009) R: a Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.
- R Development Core Team (2012) R: a Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.
- Rai, V., Anand, M. & Upadhyay, R. K. (2007) Trophic structure and dynamical complexity in simple ecological models. *Ecological Complexity*.
- Reader, R. J. (1991) Control of seedling emergence by ground cover: a potential mechanism involving seed predation. *Canadian Journal of Botany*, 69, 2084-2087.
- Risch, S. J. (1981) Ants as important predators of rootworm eggs in the neotropics. *Journal of Economic Entomology*, 74, 88-90.

- Rooney, N., McCann, K., Gellner, G. & Moore, J. C. (2006) Structural asymmetry and the stability of diverse food webs. *Nature*, 442, 265-269.
- Rosenheim, J. A. (1998) Higher-order predators and the regulation of insect herbivore populations. *Annual Review of Entomology*, 43, 421-447.
- Rukazambuga, N., Gold, C. S. & Gowen, S. R. (1998) Yield loss in East African highland banana (*Musa* spp., AAA-EA group) caused by the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* Germar. *Crop Protection*, 17, 581-589.
- Russell, E. P. (1989) Enemies hypothesis: a review of the effect of vegetational diversity on predatory insects and parasitoids. *Environmental Entomology*, 18, 590-599.
- Scherber, C., Eisenhauer, N., Weisser, W. W., Schmid, B., Voigt, W., Fischer, M., Schulze, E. D., Roscher, C., Weigelt, A., Allan, E., Beler, H., Bonkowski, M., Buchmann, N., Buscot, F., Clement, L. W., Ebeling, A., Engels, C., Halle, S., Kertscher, I., Klein, A. M., Koller, R., König, S., Kowalski, E., Kummer, V., Kuu, A., Lange, M., Lauterbach, D., Middelhoff, C., Migunova, V. D., Milcu, A., Müller, R., Partsch, S., Petermann, J. S., Renker, C., Rottstock, T., Sabais, A., Scheu, S., Schumacher, J., Temperton, V. M. & Tschardtke, T. (2010a) Bottom-up effects of plant diversity on multitrophic interactions in a biodiversity experiment. *Nature*, 468, 553-556.
- Scherber, C., Eisenhauer, N., Weisser, W. W., Schmid, B., Voigt, W., Fischer, M., Schulze, E. D., Roscher, C., Weigelt, A., Allan, E., Bessler, H., Bonkowski, M., Buchmann, N., Buscot, F., Clement, L. W., Ebeling, A., Engels, C., Halle, S., Kertscher, I., Klein, A. M., Koller, R., König, S., Kowalski, E., Kummer, V., Kuu, A., Lange, M., Lauterbach, D., Middelhoff, C., Migunova, V. D., Milcu, A., Müller, R., Partsch, S., Petermann, J. S., Renker, C., Rottstock, T., Sabais, A., Scheu, S., Schumacher, J., Temperton, V. M. & Tschardtke, T. (2010b) Bottom-up effects of plant diversity on multitrophic interactions in a biodiversity experiment. *Nature*, 468, 553-556.
- Schmid-Araya, J. M., Schmid, P. E., Robertson, A., Winterbottom, J., Gjerfaldt, C. & Hildrew, A. G. (2002) Connectance in stream food webs. *Journal of Animal Ecology*, 71, 1056-1062.
- Schoener, T. W. (1989) Food webs from the small to the large: the Robert H. MacArthur award lecture. *Ecology and Society*, 70, 1559-1589.
- Scotti, M., Bondavalli, C., Bodini, A. & Allesina, S. (2009) Using trophic hierarchy to understand food web structure. *Oikos*, 118, 1695-1702.
- Shannon, C. E. (1948) A mathematical theory of communication. *The Bell system technical journal*, 27, 379-423 and 623-656.
- Simon, S., Bouvier, J.-C., Debras, J.-F. & Sauphanor, B. (2009) Biodiversity and pest management in orchard systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30, 139-152.
- Simpson, E. H. (1949) Measurement of diversity. *Nature*, 163, 688.
- Soininen, E. M., Valentini, A., Coissac, E., Miquel, C., Gelly, L., Brochmann, C., Brysting, A. K., Sonstebo, J. H., Ims, R. A., Yoccoz, N. G. & Taberlet, P. (2009) Analysing diet of small herbivores: the efficiency of DNA barcoding coupled with high-throughput pyrosequencing for deciphering the composition of complex plant mixtures. *Frontiers in Zoology*, 6.
- Staddon, P. L. (2004) Carbon isotopes in functional soil ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 19, 148-154.
- Stouffer, D. B. (2010) Scaling from individuals to networks in food webs. *Functional Ecology*, 24, 44-51.

- Stouffer, D. B. & Bascompte, J. (2010) Understanding food-web persistence from local to global scales. *Ecology Letters*, 13, 154-161.
- Stouffer, D. B., Camacho, J., Jiang, W. & Amaral, L. A. N. (2007) Evidence for the existence of a robust pattern of prey selection in food webs. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 274, 1931-1940.
- Stover, R. H. & Simmonds, N. W. (1987) *Bananas*, London, Longman.
- Styrsky, J. D. & Eubanks, M. D. (2007) Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, 151-164.
- Sunderland, K. D. (1987) A review of methods of quantifying invertebrate predation occurring in the field. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 22, 13-34.
- Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D. & Greenstone, M. H. (2002) Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review of Entomology*, 47, 561-594.
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Miquel, C., Valentini, A., Vermet, T., Corthier, G., Brochmann, C. & Willerslev, E. (2007) Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Research*, 35, e14.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. & Bouvet, J. (1991) Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17, 1105-1109.
- Tanner, J. T. (1975) The stability and intrinsic growth rates of prey and predator populations. *Ecology*, 56, 855-867.
- Thomas, R. S., Harwood, J. D., Glen, D. M. & Symondson, W. O. C. (2009) Tracking predator density dependence and subterranean predation by carabid larvae on slugs using monoclonal antibodies. *Ecological Entomology*, 34, 569-579.
- Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R. & Polasky, S. (2002) Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418, 671-677.
- Valentini, A., Pompanon, F. & Taberlet, P. (2009) DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology & Evolution*, 24, 110-117.
- van der Putten, W. H., Bardgett, R. D., de Ruiter, P. C., Hol, W. H. G., Meyer, K. M., Bezemer, T. M., Bradford, M. A., Christensen, S., Eppinga, M. B., Fukami, T., Hemerik, L., Molofsky, J., Schadler, M., Scherber, C., Strauss, S. Y., Vos, M. & Wardle, D. A. (2009) Empirical and theoretical challenges in aboveground-belowground ecology. *Oecologia*, 161, 1-14.
- Van Veen, F. J. F., Morris, R. J. & Godfray, H. C. J. (2006) Apparent competition, quantitative food webs, and the structure of phytophagous insect communities. *Annual Review of Entomology*, 51, 187-208.
- van Veen, F. J. F., Müller, C. B., Pell, J. K. & Godfray, H. C. J. (2008) Food web structure of three guilds of natural enemies: predators, parasitoids and pathogens of aphids. *Journal of Animal Ecology*, 2008, 191-200.
- Vandenberg, H., Bagus, A., Hassan, K., Muhammad, A. & Zega, S. (1995) Predation and parasitism on eggs of two pod-sucking bugs, *Nezara viridula* and *Pizodorus hybneri*, in soybean. *International Journal of Pest Management*, 41, 134-142.
- Vander Zanden, M. J. & Rasmussen, J. B. (1999a) Primary consumer delta $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology*, 80, 1395-1404.
- Vander Zanden, M. J. & Rasmussen, J. B. (1999b) Primary consumer $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology*, 80, 1395-1404.

- Vander Zanden, M. J. & Rasmussen, J. B. (2001) Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography*, 46, 2061-2066.
- Vanderklift, M. A. & Ponsard, S. (2003) Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: a meta-analysis. *Oecologia*, 136, 169-182.
- Vandermeer, J. (1989) *The ecology of intercropping*, Cambridge, Cambridge University Press.
- Vilardebo, A. (1960) *Los insectos y nematodos de las bananeras del Ecuador*, Paris, Instituto Franco-Ecuatoriano de Investigaciones Agronomicas.
- Volterra, V. (1928) *Variations and fluctuations of the number of individuals in animal species living together*, New-York, MacGraw Hill.
- Waterhouse, D. F. (1993) Biological control: a viable strategy for the tropics. IN COOL, P. A., LIMM, G.S., TENG, P.S. (Ed.) *Biological control: issues in the tropics*. Kuala Lumpur.
- Whittaker, R. H. (1960) Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs*, 30, 279-338.
- Williams, R. J. & Martinez, N. D. (2000) Simple rules yield complex food webs. *Nature*, 404, 180-183.
- Williams, R. J. & Martinez, N. D. (2008) Success and its limits among structural models of complex food webs. *Journal of Animal Ecology*, 77, 512-519.
- Winder, L., Alexander, C. J., Holland, J. M., Symondson, W. O. C., Perry, J. N. & Woolley, C. (2005) Predatory activity and spatial pattern: the response of generalist carabids to their aphid prey. *Journal of Animal Ecology*, 74, 443-454.
- Wise, D. H., Moldenhauer, D. M. & Halaj, J. (2006) Using stable isotopes to reveal shifts in prey consumption by generalist predators. *Ecological Applications*, 16, 865-876.
- Wong, E., Baur, B., Quader, S. & Huang, C. H. (2012) Biological network motif detection: Principles and practice. *Briefings in Bioinformatics*, 13, 202-215.
- Yakir, D. & Israeli, Y. (1995) Reduced solar irradiance effects on net primary productivity (NPP) and the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values in plantations of *Musa* sp., Musaceae. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59, 2149-2151.
- Zimmerman, E. C. (1968) Rhynchophorinae of southern polynesia. *Pacific Insects*, 10, 47-77.

SUMMARY

In agroecosystems, food webs are often structured from the crop, which enables the associated herbivores, including pests, to develop. For instance, monoculture in banana fields allowed the development of the banana weevil (*Cosmopolites sordidus*) populations. Borrowing larvae of *C. sordidus* cause banana plants to topple over, which dampens the yield in most production areas. In this Ph.D. thesis, we attempted to disclose the structure and function of the banana food web, and particularly the trophic interactions that link banana weevil to other species. The applied perspective was to enhance population of generalist predators in order to increase the natural regulation of the pest.

1. What is the effect of adding a cover crop on the predation of the pest?

By using a variety of methods - stable isotopes analyses, trapping, artificial infestation of banana trees, we successfully tested the hypothesis according to which the addition of a cover crop, by enabling population of alternative preys to develop in the system, induces a change in predator diet, an increase of predator densities, and a greater predation rate on the eggs of *C. sordidus*.

2. How is structured the food web?

We combined next generation sequencing (454 technology) with the DNA barcoding concept to identify prey into gut contents of consumers. We used a chloroplastic marker (trnL) to identify the diet of herbivores, and a mitochondrial marker (CO1) for predators. This approach enabled the detection of unexpected species, the identification of the natural enemies of the pest, and the weighting of trophic interactions at the population scale.

3. How can food web structure influence pest regulation?

We searched structural elements (network motifs) occurring in the food webs of two banana agroecosystems (on bare soil and with cover crop), and we inferred the system functions. We detected the "bi-fan" size-4 motif, which occurred more frequently in the cover cropped food web than in random food webs. Interestingly, this motif was unbalanced for one of the two resources, illustrating the asymmetrical distribution of interaction strengths that shapes food web structure. The analysis of the position of *C. sordidus* within key motifs revealed its preferential interactions with other species of the community.

This Ph.D. thesis emphasizes how linking innovative and complementary methods provides a comprehensive approach of the trophic functioning of the banana agroecosystem. Our results show the importance of primary resources (other than the cultivated crop) on the structure of arthropods' food webs and on the pest regulation potential. This work also illustrates the link between the community structure and the evaluation of associated functions (i.e. pest regulation).

RESUME

Dans les agroécosystèmes, les réseaux trophiques sont souvent structurés à partir de la plante d'intérêt agronomique, qui permet aux herbivores qui lui sont associés de se développer, notamment les bioagresseurs. La monoculture de bananiers a permis au charançon du bananier (*Cosmopolites sordidus*) de prospérer. Les larves de *C. sordidus* se nourrissent exclusivement de bananiers et provoquent leur chute, réduisant fortement le rendement dans la plupart des régions de production. Cette thèse a cherché à élucider la structure et le fonctionnement du réseau trophique de la bananeraie et particulièrement les interactions trophiques qui lient le *C. sordidus* aux autres espèces. L'objectif appliqué en ligne de mire était de favoriser les prédateurs généralistes pour augmenter la régulation naturelle de *C. sordidus*.

1. Quel est l'effet de l'ajout d'une plante de couverture sur la prédation de *C. sordidus* ?

En utilisant une variété de méthodes – isotopes stables, piégeage, infestation artificielle de bananiers, nous avons testé avec succès l'hypothèse selon laquelle l'enherbement induit, via le développement de proies alternatives, un changement de régime alimentaire des prédateurs généralistes, une augmentation de leurs abondances et une plus forte prédation des œufs de *C. sordidus*.

2. Quel est la structure du réseau trophique ?

Nous avons combiné le séquençage haut-débit (technologie 454) avec le concept de codes-barres à ADN pour identifier les proies présentes dans le contenu stomacal des consommateurs. Nous avons utilisé un marqueur chloroplastique (boucle P6 trnL) pour identifier le bol alimentaire des herbivores, et un marqueur mitochondrial (mini-CO1) pour les prédateurs. Cette approche a permis de détecter des espèces qui n'avaient pas été échantillonnées, d'identifier les prédateurs naturels de *C. sordidus* au champ, et de quantifier les interactions à l'échelle des populations.

3. Comment la structure du réseau trophique peut-elle influencer la régulation de *C. sordidus* ?

Nous avons cherché les différents éléments structuraux (motifs) présents dans le réseau trophique de deux agroécosystèmes bananiers (sur sol nu et sur sol enherbé), et analysé leurs fonctions. Nous avons notamment décelé un motif composé de 4 espèces (2 ressources et 2 consommateurs) qui est représenté en grand nombre par rapport à un modèle neutre de réseau trophique. Ce motif s'est révélé systématiquement déséquilibré en faveur d'une proie, ce qui démontre qu'une distribution asymétrique des forces d'interactions permet de structurer le réseau. L'analyse de la position de *C. sordidus* dans les motifs décelés a permis de révéler ses interactions préférentielles avec les autres espèces de la communauté.

Cette thèse montre comment le couplage de méthodes innovantes et complémentaires permet d'avoir une approche globale du fonctionnement trophique de l'agroécosystème. Les résultats montrent l'importance des ressources primaires (autres que la plante cultivée) sur la structuration du réseau trophique des arthropodes et sur le potentiel de régulation des bioagresseurs. Ce travail illustre également le lien entre la structure globale d'une communauté et l'évaluation des fonctions qui y sont associées.